



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

---

Desarrollo de prototipos para  
el tratamiento postcosecha de  
cítricos con radiación UV-C y  
agua caliente para el control de  
la podredumbre verde causada  
por *Penicillium digitatum*

Valencia, Diciembre de 2015

---

Presentada por:  
**Salvador Ibiza Mauri**

Dirigida por:  
Lluís Palou Vall  
Carlos Adrados Blaise-Ombercht



*A mi mujer, a mis hijos.*

*A mis padres.*



*Me gusta la gente que vibra,  
que no hay que empujarla,  
que no hay que decirle que haga las cosas,  
sino que sabe lo que hay que hacer y que lo hace.*

*La gente que cultiva sus sueños hasta que esos sueños se apoderan de  
su propia realidad.*

*Me gusta la gente con capacidad para asumir las consecuencias de sus  
acciones,  
la gente que arriesga lo cierto por lo incierto para ir detrás de un  
sueño...*

(Fragmento de 'La gente que me gusta')

**Mario Benedetti**



# Agradecimientos

Todo comenzó en el curso 2000-2001, cuando inicié los estudios de doctorado en el programa de Producción Vegetal, y pude volver a la Universidad después de algunos años. Me atraía la investigación, y pensaba que debía estar lo más cerca posible de las fuentes del conocimiento, para poder resolver con la mayor solvencia las dudas y problemas que nos planteaban los clientes de la empresa, en mi anterior trabajo en la empresa Productos Citrosol S.A., en la postcosecha de frutas.

Al personal técnico de la empresa y colaboradores, gracias por su amistad y sus enseñanzas.

Agradezco de aquella época los consejos y motivación del Dr. Ismael Escrivá, mi tutor del trabajo final de carrera.

Al Dr. Manuel Agustí por acogerme en su departamento y por sus valiosas reflexiones. Después vino el trabajo de investigación dirigido por el Dr. Vicente Almela, que me inició en la tarea para la redacción de los trabajos científicos y en los apasionantes temas de la fisiología vegetal. A todos los compañeros doctorandos, becarios y profesores que me ayudaron en esa etapa.

Mi contratación en el año 2003 en la Universidad Politécnica de Valencia como profesor asociado a tiempo parcial en el departamento de Ingeniería Rural y Agroalimentaria cambió mi camino, pero no la meta. Creamos con mi mujer Xelo, Gesnoga Consulting SL., una empresa de servicios profesionales en la que continuo trabajando en la actualidad, y compatibilicé durante más de 9 años el ejercicio libre de la profesión con la tarea docente, en el área de Electrotécnica del departamento en la actual ETSIAMN y en los inicios de los primeros trabajos para la redacción en un futuro de mi Tesis.

Al Dr. José Luís Gutiérrez, al que tuve de profesor en la asignatura de Electrotécnica durante mis estudios de Ingeniero Agrónomo. A todos los compañeros, Dr. Eugenio García, Dra. Penélope Gutiérrez y a los compañeros docentes Miguel Ángel, Agustín y Carlos Gala, los cuales me dieron todo su apoyo, ayuda y me hicieron sentir como un miembro más de su equipo. Una mención especial merece el Dr. Carlos

---

Adrados, mi co-director y tutor de esta Tesis, por facilitarme y transmitirme los conocimientos de sus investigaciones con la radiación UV-C, y por su amistad.

Mis relaciones profesionales y trabajos de investigación, me llevaron nuevamente al Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA) donde conocí personalmente a mi director de Tesis, Dr. Lluís Palou.

Gracias Dr. Palou por escucharme, y dedicarme parte de su valioso tiempo. Por recibirme en su grupo de investigación, por su excelencia en la investigación y en la dirección de esta tesis, sus correcciones, y su inestimable ayuda. A los miembros de su equipo, en especial a Clara Montesinos por su colaboración y ayuda.

Agradecer también a la Consellería de Agricultura, Pesca, Alimentación y Agua de la Generalitat Valenciana el patrocinio del proyecto de investigación GVPRE/2008/014 solicitado por el Dr. Carlos Adrados; parte de cuyo material nos fue cedido en los primeros trabajos.

Gracias también al Centro de Tecnología Postcosecha del IVIA por facilitarnos sus instalaciones y la posibilidad de realizar este trabajo.

Y a Gesnoga Consulting por permitirnos hacer el trabajo que nos gusta. Además de prestar un servicio profesional a los clientes de nuestra empresa, nos ha permitido investigar en la búsqueda de nuevos conocimientos para así poder presentar valiosas soluciones tecnológicas en este apasionante mundo de la postcosecha de las frutas.

Sin la confianza de todos ellos, no habríamos llegado hasta aquí.

Vamos por el buen camino.

¡ Gracias a todos ¡

# Resumen

El comercio de cítricos en fresco constituye un pilar básico de la citricultura española, al que debe prestarse toda la atención debido a su importancia económica.

En una agricultura moderna, difícilmente se puede prescindir del uso de productos químicos, pero la posible presencia de residuos en los alimentos es una cuestión que, cada vez, por mínima que ésta sea, preocupa más a la opinión pública, si resulta desfavorable para su salud.

El sector de los cítricos debe abordar un cambio que suponga la implantación de nuevos métodos de producción, manipulación y conservación de frutos ajustada a los tiempos actuales, que aseguren la calidad total de los mismos. La adecuación de algunos tratamientos postcosecha (desverdizado, aplicación de recubrimientos y frigoconservación, etc) a los parámetros de recolección razonables es importante para la consecución de alimentos seguros, saludables y de alta calidad en el siglo XXI.

El efecto germicida de la irradiación UV-C se ha ensayado con éxito en diferentes alimentos, pero no a escala industrial en la manipulación de cítricos, como un método de desinfección superficial a temperatura ambiente que no deja residuos en el producto, por lo que se considera una buena alternativa para la conservación de alimentos. Las enfermedades de postcosecha, es decir, aquellas enfermedades que afectan a los frutos desde que son recolectados hasta que llegan al consumidor, provocan pérdidas económicas importantes al sector cítrico.

Las pérdidas provocadas por las enfermedades son muy variables y dependen del área productora, la especie, el cultivar, la edad y condición de los árboles; las condiciones climatológicas durante toda la campaña, la época y forma de recolección; el manejo de los frutos en postcosecha, las condiciones de almacenamiento y el mercado de destino. En el ámbito mundial destacan las pérdidas producidas por patógenos de herida estrictos como *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. o *Penicillium italicum* Wehmer, causantes, respectivamente, de las podredumbres verde y azul.

---

El cambio de paradigma, igual que en la producción integrada en campo, debe basarse en la estrategia denominada CINCEP (Control Integrado No Contaminante de Enfermedades de Postcosecha), basada en el conocimiento profundo de la epidemiología de los patógenos y de los factores que determinan su incidencia en precosecha, cosecha y postcosecha para incidir de forma global sobre el problema, actuando sobre cada uno de estos factores en el momento adecuado para minimizar las pérdidas económicas

La irradiación UV-C tiene su máximo pico de emisión a 254 nm y se ha comprobado que es en esta longitud de onda donde presenta su mayor acción germicida, por lo que ha sido ampliamente estudiada en varios tejidos vegetales.

En función de la intensidad y longitud de onda, la irradiación UV puede inducir un estrés biológico en plantas y activar algunos mecanismos de defensa de los tejidos vegetales, con la consecuente producción de fitoalexinas.

La inmersión en agua caliente es un método físico para el control de enfermedades mucho más sencillo y práctico que puede dar buenos resultados, especialmente en combinación con otros tratamientos de distinta naturaleza. La facilidad de utilización de la luz UV-C y el agua caliente como tratamientos combinados se debe sobre todo a su doble modo de acción.

Los efectos tanto del calor como de las irradiaciones sobre las enfermedades de postcosecha pueden ser directos o indirectos.

La irradiación con UV-C se considera una potencial herramienta adicional en la estrategia de tratamientos combinados para el control del podrido de los cítricos, aunque la radiación UV-C por sí mismo no puede alcanzar la alta eficiencia de control del podrido de los fungicidas utilizados en la actualidad. Los objetivos específicos son los siguientes:

- Diseñar y evaluar varios prototipos de aplicador ultravioleta para el tratamiento postcosecha de cítricos, empleando lámparas de emisión de UV-C, entre otras de mercurio a baja presión.
- Establecer la actividad curativa y preventiva contra la podredumbre verde causada por el patógeno *Penicillium digitatum* de exposiciones de frutos cítricos (mandarinas o naranjas) a iluminación UV-C sola o en combinación con otro tratamiento antifúngico de postcosecha como es el agua caliente.
- Probar distintas dosis de aplicación de UV-C en los prototipos para establecer el rango de dosis efectivas, y no fitotóxicas.
- Relacionar la capacidad de control de los tratamientos con los principales parámetros de calidad externa e interna del fruto, su grado de madurez y su susceptibilidad a *Penicillium digitatum*.

- 
- Determinar la efectividad de los tratamientos de UV-C solos o combinados en los cultivares comerciales de mandarina y naranja más importantes de la Comunidad Valenciana.

De los resultados obtenidos en los distintos prototipos, el que ha proporcionado mejores resultados ha sido el prototipo número III , en el que se aplica la UV sobre la rulada en movimiento.

Los resultados obtenidos indican que el efecto de la UV produce un efecto de hormesis indirecto sobre el fruto en ensayos preventivos. La combinación con agua caliente mejora también los resultados en la estrategia combinada de agua caliente seguida de aplicación de UV-C, en el aplicador de UV sobre rulada (prototipo número III), y no viceversa.

Las condiciones de maduración a lo largo de la campaña influyen en los resultados de las dosis aplicadas. A dosis más altas la UV puede provocar efectos no deseados, minimizando los daños con la aplicación combinada de agua caliente. Las dosis estudiadas que han dado buenos resultados en las distintas épocas de la maduración de las variedades de mandarina y naranja son las siguientes:

2,5 kJ/m<sup>2</sup> en fruta con la madurez comercial, sometida a desverdización, y en un rango entre 5 y 10 kJ/m<sup>2</sup> cuando el fruto alcanza la maduración fisiológica, que varía en función de las características de fruto a lo largo de la campaña, y siempre en combinación con agua caliente.



# Abstract

Fresh citrus trade constitutes a basic pillar of the Spanish citrus industry, which should be given all the attention because of its economic importance.

In modern agriculture, the widespread use of chemicals is common, but the possible presence of residues in food is an issue of increasing importance for public health opinion.

The citrus industry must address a change involving the introduction of new methods for fruit production, handling and storage to ensure the overall quality of the fruit. The adaption of some postharvest treatments (greening application of coatings, cold storage, etc.) to the fruit characteristics at harvest is important for achieving safe, healthy and high quality food in the XXI century.

The germicidal effect of UV-C irradiation has been successfully tested in different foods but not at an industrial scale as a method for surface disinfection at room temperature of fresh citrus fruit without leaving residues on the product, which is considered a good alternative for food preservation.

Postharvest diseases affect the fruit from harvest to the consumer table, and cause significant economic losses to the citrus industry. Losses from disease are highly variable and depend on the production area, species, cultivar, age and condition of the trees; weather conditions throughout the season, the time and method of harvest, postharvest handling of the fruit, storage conditions and destination market.

At the global level, important economic losses are caused by strict wound pathogens such as *Penicillium digitatum* (Pers.: Fr.) Sacc, and *Penicillium italicum* Wehmer that cause, respectively, citrus postharvest green and blue molds. The paradigm change, as in the care of field integrated production should be based on a Integrated Clean Postharvest Disease Control strategy (CINCEP), based on deep knowledge of the pathogen epidemiology and all the preharvest and postharvest factors that determine their incidence in order to incise on it at the right time to minimize economic losses.

---

UV-C irradiation has a maximum emission peak at 254 nm and has been found that this wavelength provides the greatest germicidal action, which has been extensively studied in various plant tissues.

Depending on the intensity and wavelength, UV irradiation can induce a biological stress in plants and activate some defense mechanisms of plant tissues, with the consequent production of phytoalexins.

Immersion in hot water is a physical method to control postharvest diseases in an easy and practical way that can give good results, especially in combination with other treatments of different nature.

The feasibility of UV-C light and hot water used in combination is mainly due to their dual mode of action. The effects of both heat and irradiation treatments on postharvest diseases can be direct or indirect.

Irradiation with UV-C is considered a potential additional tool in CINCEP strategies for the control of citrus decay, although UV-C alone cannot achieve the high efficacy of the fungicides used nowadays for disease control.

The specific objectives are to:

- Design and evaluate several prototypes for ultraviolet light application to citrus fruit after harvest, using lamps emitting UV-C, including low pressure mercury.
- Evaluate the curative and preventive activity against green mold caused by the pathogen *Penicillium digitatum* on mandarins and oranges, exposed to UV-C light alone or in combination with another postharvest antifungal treatment such as hot water.
- Evaluate different application doses of UV-C on the designed prototypes to establish the effective and no phytotoxic range.
- Relate the control ability of the treatments with the main external and internal fruit quality parameters, fruit maturity and fruit susceptibility to *Penicillium digitatum*.
- Determine the effectiveness of UV-C treatment alone or in combination with hot water on the most important commercial cultivars of mandarin and orange in Valencia.

The results obtained with the prototypes, showed that the best prototype is number III, in which the UV light is applied over rotating rollers.

---

The results indicate that UV light has an indirect hormetic effect on the fruit in preventive trials. The combination with hot water also improves the results when applied in the sequence of hot water followed by application of UV-C in the rotating UV applicator prototype III, but not vice versa.

Fruit ripening conditions along the season influence the efficacy of the applied dose of UV-C and higher doses can cause undesirable phytotoxic, which can be minimized by the combination with hot water. The studied doses that have been more effective for mandarins and oranges at different ripening stages are:  $2.5\text{kJ/m}^2$  on fruit at commercial maturity and subjected to degreening, and the range 5 to  $10\text{kJ/m}^2$  on fruit that has reached physiological maturity, which varies depending on the characteristics of the fruit along the season and always in combination with hot water.



# Resum

El comerç de cítrics en fresc constitueix un pilar bàsic de la citricultura espanyola, al que ha de prestar-se tota l'atenció a causa de la seua importància econòmica.

En una agricultura moderna, difícilment es pot prescindir de l'ús de productes químics, però la possible presència de residus en els aliments és una qüestió que, cada vegada, per mínima que aquesta siga, preocupa més a l'opinió pública, si resulta desfavorable per a la seua salut.

El sector dels cítrics ha d'abordar un canvi que supose la implantació de nous mètodes de producció, manipulació i conservació de fruits ajustats als temps actuals, que asseguren la qualitat total dels mateixos. L'adequació d'alguns tractaments postcollita (desverditzat, aplicació de recobriments i frigoconservació, etc) als paràmetres de recol·lecció raonables, és important per a la consecució d'aliments segurs, saludables i d'alta qualitat al segle XXI.

L'efecte germicida de la irradiació UV-C s'ha assajat amb èxit en diferents aliments, però no a escala industrial en la manipulació de cítrics, com un mètode de desinfecció superficial a temperatura ambient que no deixa residus en el producte, per la qual cosa es considera una bona alternativa per a la conservació d'aliments. Les malalties de postcollita, és a dir, aquelles malalties que afecten als fruits des que són recol·lectats fins que arriben al consumidor, provoquen pèrdues econòmiques importants al sector cítricol.

Les pèrdues provocades per les malalties són molt variables i depenen de l'àrea productora, l'espècie, el cultivar, l'edat i condició dels arbres; les condicions climatològiques durant tota la campanya, l'època i forma de recol·lecció; la manipulació dels fruits en postcollita, les condicions d'emmagatzematge i el mercat de destí.

En l'àmbit mundial destaquen les pèrdues produïdes per patògens de ferida estrictes com *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. o *Penicillium italicum* Wehmer, causants, respectivament, de les podridures verda i blava.

---

El canvi de paradigma, igual que en la producció integrada en camp, ha de basar-se en l'estratègia denominada CINCEP (Control Integrat No Contaminant de Malalties de Postcollita), basada en el coneixement profund de l'epidemiologia dels patògens i dels factors que determinen la seua incidència en precollita, collita i postcollita per a incidir de forma global sobre el problema, actuant sobre cadascun d'aquests factors en el moment adequat per a minimitzar les pèrdues econòmiques.

La irradiació UV-C té el seu màxim pic d'emissió a 254 nm i s'ha comprovat que és en aquesta longitud d'ona on presenta la seua major acció germicida, per la qual cosa ha sigut àmpliament estudiada en diversos teixits vegetals. En funció de la intensitat i longitud d'ona, la irradiació UV pot induir un estrès biològic en plantes i activar alguns mecanismes de defensa dels teixits vegetals, amb la conseqüent producció de fitoalexinas.

La immersió en aigua calenta és un mètode físic per al control de malalties molt més senzill i pràctic que pot donar bons resultats, especialment en combinació amb altres tractaments de diferent naturalesa.

La facilitat d'utilització de la llum UV-C i l'aigua calenta com a tractaments combinats es deu sobretot a la seua doble manera d'acció. Els efectes tant de la calor com de les irradiacions sobre les malalties de postcollita poden ser directes o indirectes. La irradiació amb UV-C es considera una potencial eina addicional en l'estratègia de tractaments combinats per al control del podrit dels cítrics, encara que la radiació UV-C per si mateix no pot aconseguir l'alta eficiència de control del podrit dels fungicides utilitzats en l'actualitat.

Els objectius específics són els següents:

- Dissenyar i avaluar diversos prototips d'aplicador ultraviolat per al tractament postcollita de cítrics, emprant llums d'emissió d'UV-C, entre altres de mercuri a baixa pressió.
- Establir l'activitat curativa i preventiva contra la podridura verda causada pel patogen *Penicillium digitatum* d'exposicions de fruits cítrics (mandarines o taronges) a il·luminació UV-C sola o en combinació amb un altre tractament antifúngic de postcollita com és l'aigua calenta.
- Provar diferents dosis d'aplicació d'UV-C en els prototips per a establir el rang de dosis efectives, i no fitotòxiques.
- Relacionar la capacitat de control dels tractaments amb els principals paràmetres de qualitat externa i interna del fruit, el seu grau de maduresa i la seua susceptibilitat a *Penicillium digitatum*.

- 
- Determinar l'efectivitat dels tractaments d'UV-C solos o combinats en els cultivars comercials de mandarina i taronja més importants de la Comunitat Valenciana.

Dels resultats obtinguts en els diferents prototips, el que ha proporcionat millors resultats ha sigut el prototip número III, en el qual s'aplica la UV sobre rodets en moviment. Els resultats obtinguts indiquen que l'efecte de la UV produeix un efecte de hormesis indirecte sobre el fruit en assajos preventius. La combinació amb aigua calenta millora també els resultats en l'estratègia combinada d'aigua calenta seguida d'aplicació d'UV-C, en l'aplicador d'UV sobre rodets (prototip número III), i no viceversa.

Les condicions de maduració al llarg de la campanya influeixen en els resultats de les dosis aplicades. A dosis més altes la UV pot provocar efectes no desitjats, minimitzants els danys amb l'aplicació combinada d'aigua calenta. Les dosis estudiades que han donat bons resultats en les diferents èpoques de maduració de les varietats de mandarina i taronja són les següents:

2,5 kJ/m<sup>2</sup> en fruita amb maduresa comercial sotmesa a desverdització, i en un rang entre 5 i 10 kJ/m<sup>2</sup> quan el fruit aconsegueix la maduració fisiològica, que varia en funció de les característiques de fruit al llarg de la campanya, i sempre en combinació amb aigua calenta.



# Justificación e interés del trabajo

La producción de cítricos en España está en la actualidad pasando por un momento crítico. Son varias las causas de esta situación, entre ellas, el incremento de la producción mundial, la reducción del consumo en los países de la Europa Occidental, la menor demanda que la esperada por parte de los países del Este de Europa, la alta presión en el mercado para el consumo de otros productos y la demanda de cítricos producidos con técnicas más respetuosas con la salud de los consumidores y medio ambiente.

Pero se debe olvidar que el comercio de cítricos en fresco constituye un pilar básico de la citricultura española, al que debe prestarse toda la atención que su importancia económica merece.

En una agricultura moderna difícilmente se puede prescindir del uso de productos químicos, pero la posible presencia de residuos en los alimentos es una cuestión que, cada vez, por mínima que ésta sea, preocupa más a la opinión pública. El sector de los cítricos debe abordar un cambio que suponga la implantación de nuevos métodos de producción, manipulación y conservación de frutos ajustada a los tiempos actuales, que aseguren la calidad total de los mismos. La adecuación de algunos tratamientos postcosecha (desverdizado, aplicación de recubrimientos, frigoconservación, etc) a los parámetros de recolección razonables es importante para la consecución de alimentos seguros, saludables y de alta calidad en el siglo XXI.

El procesado tiene lugar en las centrales citrícolas, donde los frutos son, en algunos casos, desverdizados, tratados, limpiados, encerados, seleccionados por color y tamaño, envasados, etc.

Durante el periodo que transcurre desde la recolección hasta el consumo, los frutos son afectados por diversos patógenos fúngicos, causando podridos de fruta en las centrales hortofrutícolas.

El efecto germicida de la irradiación UV-C se ha ensayado con éxito en diferentes alimentos, pero no a escala industrial en la manipulación de cítricos como un método de desinfección superficial a temperatura ambiente que no deja residuos en el producto, por lo que se considera una buena alternativa para la conservación de

---

alimentos. Su utilización a dosis bajas ha tenido éxito en la desinfección de frutas y hortalizas. Algunos efectos benéficos atribuidos a la irradiación UV-C son: inducción de mecanismos de defensa (síntesis de fitoalexinas), los cuales se relacionan positivamente con la resistencia a diferentes patógenos y con la reducción de desórdenes fisiológicos que ocurren durante el almacenamiento en frío; capacidad de mejorar las propiedades nutraceuticas, debido al incremento en los niveles de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante; e inactivación de enzimas relacionadas con los procesos de maduración y senescencia.

El conocimiento de las dosis óptimas de tratamiento de las principales variedades de cítricos y de la fisiología postcosecha, conforman la base para determinar su posibilidad de tratamiento bajo el efecto de la tecnología UV-C, o de la combinación de las diferentes tecnologías postcosecha, entre ellas, el agua caliente.

Los resultados obtenidos para las distintas dosis aplicadas en el presente trabajo permiten obtener las dosis más adecuadas, no dañinas, y el comportamiento del producto durante la postcosecha.

A la vista de los beneficios que presenta esta tecnología, se puede implementar en las líneas de manipulado de cítricos, dentro de una estrategia de control integrado no contaminante de enfermedades de postcosecha (CINCEP).

Aunque la citricultura española ha estado condicionada a lo largo de su historia por dos factores que han marcado su desarrollo: la presencia de enfermedades graves y la necesidad permanente de innovación de variedades para adaptar la producción a las demandas de los consumidores europeos, cada vez más exigentes; el mantenimiento de la producción y competitividad de este sector depende en gran medida de los aspectos antes comentados, de un cambio en el manejo de la fruta, empezando ya desde su recolección hasta su llegada a los mercados. Todo ello puede tener un carácter estratégico muy importante para el futuro de nuestra citricultura.

# Índice general

1	Introducción General	1
1.1	La comercialización de los cítricos	1
1.2	La recolección y manipulación en centrales citrícolas	7
1.3	Tipología del proceso	9
1.4	Consumo. Seguridad alimentaria y calidad en la postcosecha de cítricos	14
1.5	Enfermedades de postcosecha	15
1.5.1	Proceso de infección. Triangulo de la enfermedad	17
1.5.2	Sintomatología	18
1.5.3	Factores que influyen en la infección de <i>P. digitatum</i> y <i>P. italicum</i>	19
1.6	Limpieza y desinfección	21
1.7	Control actual de las enfermedades de postcosecha	24
1.7.1	Tratamientos químicos	24
1.8	Problemática de los tratamientos fungicidas de postcosecha	27
1.8.1	Métodos químicos de baja toxicidad	28
1.8.2	Métodos biológicos (microorganismos antagonicos)	30
1.8.3	Métodos físicos	31
2	Radiación UV-C y agua caliente	33
2.1	Las radiaciones no ionizantes	33
2.1.1	Las radiaciones no ionizantes. Bases de la radiación electromagnética	33
2.1.2	Aplicaciones de la radiación UV-C	38
2.1.3	Aplicaciones al tratamiento de cítricos	41
2.2	El agua caliente	42
2.3	Tratamientos combinados	43

3	Objetivos	47
3.1	Objetivos específicos . . . . .	47
4	Material y métodos	49
4.1	Diseño y planificación de prototipos. . . . .	49
4.2	Ensayos de capacidad de control de la podredumbre verde. . . . .	53
4.2.1	Protocolo general . . . . .	54
4.2.2	Resumen de los ensayos realizados . . . . .	60
4.2.3	Ensayos específicos . . . . .	62
5	Resultados	81
5.1	Introducción . . . . .	81
5.2	Campaña 2008-2009 . . . . .	81
5.2.1	Ensayos ILUV1 . . . . .	81
5.2.2	Ensayos ILUV2 . . . . .	85
5.2.3	Ensayos ILUV3 . . . . .	91
5.2.4	Ensayos ILUV4 . . . . .	93
5.3	Campaña 2009-2010 . . . . .	96
5.3.1	Ensayos ILUV5 . . . . .	96
5.3.2	Ensayos ILUV6 . . . . .	100
5.3.3	Ensayos ILUV7 . . . . .	107
5.3.4	Ensayos ILUV8 . . . . .	110
5.3.5	Ensayos IUV9 . . . . .	112
5.3.6	Ensayos ILUV10 . . . . .	114
5.3.7	Ensayos ILUV11 . . . . .	116
5.3.8	Ensayos ILUV12 . . . . .	118
5.3.9	Ensayos ILUV13 . . . . .	119
5.3.10	Ensayos ILUV14. . . . .	119
5.3.11	Ensayos ILUV15. . . . .	122
5.4	Campaña 2011-2012 . . . . .	126
5.4.1	Ensayos ILUV16 . . . . .	126
5.5	Resultados de determinación de la calidad de los frutos. . . . .	128
6	Discusión	133
6.1	Influencia de la fruta en los resultados de los tratamientos efectuados. . . . .	133

6.2 Respuestas en frutas cítricas. . . . .	133
6.3 Respuestas en otros frutos y contra otros hongos.. . . .	141
6.4 Propuestas de futuro. . . . .	141
7 Conclusiones	143
Referencias bibliográficas	145
Anejo 1 Publicaciones derivadas de la tesis	155
Publicación 1 . . . . .	156
Publicación 2 . . . . .	167
Publicación 3 . . . . .	176
Publicación 4 . . . . .	183
Anejo 2 Línea comercial de confección de cítricos con el aplicador para el tratamiento UV-C	185
Línea de confección . . . . .	185



# Índice de figuras

1.1. Exportaciones a países terceros . . . . .	3
1.2. Evolución superficie citrícola . . . . .	3
1.3. Superficie de cultivo de cítricos por variedades . . . . .	4
1.4. Superficie de producción por comunidades autónomas . . . . .	4
1.5. Distribución de la superficie de cultivo de naranja en el 2014, por comunidades autónomas. . . . .	4
1.6. Distribución de la superficie de cultivo de mandarina en el 2014, por comunidades autónomas. . . . .	5
1.7. Calendario de recolección variedades . . . . .	6
1.8. Solape de producción . . . . .	7
1.9. Daños por recolección observados a la salida de la cámara de desver- dización. Rotura de las glándulas de aceite esencial de las mandarinas	8
1.10. Tría de mandarinas por personal cualificado en la mesa de tría de una central citrícola en el año 2009 . . . . .	9
1.11. Diagrama de flujo del proceso productivo de una central citrícola típica de Valencia . . . . .	12
1.12. Diagrama de flujo del proceso productivo de una central citrícola típica de Valencia . . . . .	13
1.13. Triángulo de la enfermedad . . . . .	18
2.1. Onda de radiación . . . . .	33

2.2. Clasificación del espectro electromagnético . . . . .	34
2.3. Díptico . . . . .	37
4.1. Interior prototipo I en funcionamiento. . . . .	50
4.2. Sensor UV-C y cronometro. . . . .	50
4.3. Reactor prototipo II de UV-C e interior . . . . .	51
4.4. Izquierda prototipo I, en la derecha vista parcial del prototipo II. .	51
4.5. Imágenes del prototipo III que muestra el motor de arrastre de la rulada el variador de la velocidad y la posición de las lámparas. . .	52
4.6. Comprobación de la temperatura de agua caliente en la balsa de tratamiento mediante un termómetro digital con sonda metálica inoxidable tipo pt100 y los cestos utilizados para colocar los frutos.	53
4.7. Instron para realizar los ensayos de compresión y rotura. . . . .	56
4.8. Penetrómetro UAT-4. . . . .	57
4.9. Punzones utilizados para la inoculación con <i>P. digitatum</i> en el punto de la zona ecuatorial. . . . .	58
4.10. Preparación de la inoculación en el ensayo de Valencia-late. . . . .	67
5.1. Porcentaje de incidencia a los 4 días y 7 días en mandarinas Orta- nique de recolección temprana. . . . .	83
5.2. Severidad a los 4 y 7 días de los tratamientos realizados en manda- rinas Ortanique de recolección temprana. . . . .	84
5.3. Resultados del porcentaje de esporulación en los distintos trata- mientos en la mandarina Ortanique de recolección temprana. . . . .	84
5.4. Porcentaje de incidencia a los 4 y 7 días en mandarinas Ortanique de recolección tardía. . . . .	89
5.5. Severidad a los 4 y 7 días de los distintos tratamientos realizados en mandarinas Ortanique de recolección tardía. . . . .	89
5.6. Porcentaje de esporulación en mandarinas Ortanique de recolección tardía a los 7 días de los distintos tratamientos. . . . .	90

---

5.7. Porcentaje de incidencia en naranjas Valencia-late de recolección temprana a los 4 y 7 días. . . . .	91
5.8. Severidad a los 4 y 7 días de los distintos tratamientos realizados en naranjas Valencia-late de recolección temprana. . . . .	92
5.9. Porcentaje de esporulación a los 7 días en los distintos tratamientos en naranjas Valencia-late de recolección temprana. . . . .	92
5.10. Porcentaje de incidencia a los 4 y 7 días en naranjas Valencia-late de recolección tardía. . . . .	93
5.11. Severidad a los 4 y 7 días de los distintos tratamientos realizados en la Valencia-late de recolección tardía. . . . .	94
5.12. Resultados del porcentaje de esporulación en los distintos tratamientos en naranja Valencia-late de recolección tardía. . . . .	94
5.13. Porcentaje de incidencia con los tratamientos curativos en clementinas Clemenules de recolección temprana a las distintas dosis de aplicación. . . . .	96
5.14. Resultados de los porcentajes de incidencia con los tratamientos preventivos en clementinas Clemenules de recolección temprana a las distintas dosis aplicadas a los 4 y 7 días del tratamiento. . . . .	97
5.15. Resultados de los porcentajes de esporulación de los tratamientos preventivos con clementinas Clemenules de recolección temprana a las distintas dosis de aplicación. . . . .	98
5.16. Resultados de la severidad de los tratamientos curativos en clementinas Clemenules de recolección temprana a las distintas dosis UV-C aplicadas. . . . .	98
5.17. Resultados de la severidad con los tratamientos preventivos en clementinas Clemenules de recolección temprana a las distintas dosis UV-C aplicadas. . . . .	99
5.18. Resultados comparativos de los tratamientos más efectivos en el ensayo ILUV5 de la incidencia y la severidad de la podredumbre a los 4 días. Diferentes letras o grupos de letras diferentes denotan diferencias significativas. . . . .	99
5.19. Porcentaje de incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique de recolección temprana inoculadas a los 2 días del tratamiento UV-C con el prototipo I. . . . .	101

5.20. Severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique de recolección temprana. . . . .	102
5.21. Porcentaje de incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique de recolección temprana inoculadas a los 6 días del tratamiento UV-C con el prototipo I. . . . .	103
5.22. Comparación de la incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 2 y 6 días de las dos dosis UV-C aplicadas. . . . .	103
5.23. Comparación de la severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 2 y 6 días de las dos dosis UV-C aplicadas. . . . .	104
5.24. ILUV 6A T <sub>2</sub> . Aspecto que presentaban las mandarinas Ortanique antes del recuento de la fruta esporulada a los 7 días de la inoculación. La fotografía de la izquierda muestra el tratamiento control T <sub>0</sub> , y la de la derecha el tratamiento T <sub>2</sub> 10 kJ/m <sup>2</sup> inoculadas a 2 días del tratamiento. . . . .	105
5.25. Resultados comparativos de los porcentajes de incidencia a los 3 y 7 días en mandarinas Ortanique de recolección tardía inoculadas a los 2 y 6 días del tratamiento UV-C a 5 kJ/m <sup>2</sup> . . . . .	106
5.26. Resultados comparativos de la severidad a los 7 días en mandarinas Ortanique de recolección tardía inoculadas a los 2 y 6 días del tratamiento UV-C a 5 kJ/m <sup>2</sup> . . . . .	107
5.27. Porcentaje de incidencia en mandarinas Ortanique inoculadas 2 días después de los tratamientos a los 3 y 7 días de la inoculación. . . . .	108
5.28. Severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique a los 7 días de la inoculación. . . . .	108
5.29. Resultados de la esporulación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 2 días del tratamiento, a los 7 días de la inoculación. . . . .	109
5.30. Porcentaje de incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de recolección temprana. . . . .	110
5.31. Severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de maduración temprana. . . . .	111
5.32. Resultados de la esporulación a los 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de recolección temprana. . . . .	111

5.33. Porcentaje de incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de recolección temprana. . . . .	112
5.34. Severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de recolección temprana. . . . .	113
5.35. Resultados de la esporulación en naranjas Valencia-late a los 7 días de la inoculación. . . . .	113
5.36. Comparación de los porcentajes de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación en naranjas Navel Lane -late con inoculación a los 2 y 6 días de los tratamientos. . . . .	114
5.37. Severidad a los 4 y 7 días de la inoculación en naranjas Navel Lane-late con inoculación a los 2 y 6 días del tratamiento. . . . .	115
5.38. Resultados de la esporulación a los 7 días con inoculación a los 2 y 6 días de los tratamientos. . . . .	115
5.39. Comparación del porcentaje de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 4 y 6 días del tratamiento UV-C. . . . .	116
5.40. Severidad a los 4 y 8 días de la inoculación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 4 y 6 días del tratamiento UV-C. . . . .	117
5.41. Resultados de la esporulación en mandarinas Ortanique a los 7 días inoculadas a los 4 y 6 días del tratamiento UV-C. . . . .	117
5.42. Comparación del porcentaje de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación, en las columnas de la izquierda. En la parte central, se presentan los resultados de la esporulación a los 8 días en mandarinas Ortanique y en la parte derecha, la severidad a los 4 y 8 días de la inoculación. . . . .	118
5.43. Comparación del porcentaje de incidencia, esporulación y severidad a los 4 y 8 días de la inoculación en mandarinas Ortanique. . . . .	119
5.44. Porcentaje de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación en naranjas Valencia-late. . . . .	119
5.45. Severidad a los 4 y 8 días de la inoculación en naranjas Valencia-late inoculadas a los 6 días de los tratamientos. . . . .	120
5.46. Resultados de la esporulación en naranjas Valencia-late a los 8 días con inoculación a los 6 días del tratamiento de UV, para dos dosis de aplicación UV en combinación con agua caliente. . . . .	120

5.47. Porcentaje de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación en naranjas Valencia-late inoculadas a los 6 días de los tratamientos. . . . .	122
5.48. Severidad a los 4 y 8 días de los distintos tratamientos realizados en naranjas Valencia-late. . . . .	122
5.49. Resultados de la esporulación en los distintos tratamientos en naranjas Valencia-late a los 8 días. . . . .	123

# Índice de tablas

1.1. Evolución de las exportaciones españolas de cítricos en fresco en millones de toneladas (MT) . . . . .	2
1.2. Reglamentos de la Comisión para la autorización de los fungicidas postcosecha de cítricos en la UE . . . . .	25
1.3. LMR de fungicidas postcosecha de cítricos . . . . .	26
2.1. Unidades de medida . . . . .	35
2.2. Clasificación de la longitud de onda de radiación UV y efectos en distintos organismos. . . . .	36
2.3. Clasificación de las lámparas en función de la longitud de onda de la radiación UV . . . . .	39
4.1. Tabla colorimétrica de cítricos . . . . .	55
4.2. Parámetros medibles en cada uno de los ensayos. . . . .	60
4.3. Ensayos ILUV realizados entre las campañas de recolección 2008 y 2011. . . . .	61
5.1. ANOVA de los resultados del ensayo ILUV 1 . . . . .	82
5.2. Resultados del ANOVA del ensayo ILUV 2 . . . . .	86
5.3. Comparación de los resultados obtenidos de la incidencia y severidad a los 4 días en los primeros ensayos realizados. . . . .	95

5.4. Incidencia y severidad de la podredumbre verde en clementinas Clementules inoculadas con <i>Penicillium digitatum</i> ( $10^5$ esporas/mL) 24 h antes del tratamiento con distintas dosis de radiación UV-C e incubadas a 20°C y 85% HR durante 4 y 7 días. En cada columna, los valores medios seguidos por letras o grupos de letras diferentes denotan diferencias significativas según la prueba de Fisher ( $P \leq 0,05$ ).	100
5.5. Valores medios de los daños observados en los ensayos ILUV14 e ILUV15 de naranjas Valencia-late a los 3 días de los tratamientos.	124
5.6. Resumen de los tratamientos efectuados en la campaña 2010-11.	125
5.7. Captura de pantalla del ANOVA de los resultados obtenidos, por tratamiento, variedad e interacciones.	127
5.8. Valores medios de ICC obtenidos en los distintos ensayos efectuados en las variedades de cítricos cv 'Valencia-late' y cv 'Ortanique'.	128
5.9. Valores medios del grosor de la corteza medidos en mm.	128
5.10. Valores medios del grosor del flavedo medidos en mm.	129
5.11. Valores medios del penetrómetro medidos en Kgf.	129
5.12. Valores medios de rotura medidos en N/cm <sup>2</sup> .	130
5.13. Valores medios de compresión medidos en Kgf.	130
6.1. Porcentaje de Incidencia y severidad de la podredumbre verde en cítricos tratados con luz UV-C en distintas zonas y orientaciones.	139

# Capítulo 1

## Introducción General

### 1.1 La comercialización de los cítricos

El consumo en fresco de los frutos es una de las características que determinan la citricultura española. Su comercialización, además, tiene lugar en los mercados que por proximidad geográfica y por tradición, le son naturales, es decir, los países de Europa. Estos países poseen un elevado poder adquisitivo y exigen una elevada calidad (Agustí, 2000).

La producción promedio de cítricos en España es de 6.100.000 t/año (MAGRAMA-2010/11-2014/15). Según los balances del sector es de 7.000.000 t/año. Predominan las especies dulces: 52 % naranja y 34 % pequeños cítricos; limón 13 % y pomelo 1 %.

España ocupa el 4<sup>o</sup> puesto a nivel mundial (4 % ) y el 1<sup>o</sup> puesto en la UE (55 %). Además, está a la cabeza en producción para consumo en fresco a nivel mundial, (Miranda, 2015). Es el primer exportador mundial de cítricos para el consumo en fresco, con aproximadamente el 80 % de la producción destinada a mercados de la UE, destacando Alemania y Francia, aunque también hay otros destinos de exportación importantes fuera de la UE. Actualmente se están afianzando mercados asiáticos como sería el caso de China, Corea, y Singapur entre otros, y mercados como Canadá y el Golfo Pérsico.

La industria absorbe aproximadamente el 20 % de la producción (mayor en limón y menor en pequeños cítricos). Ésta ejerce un importante papel regulador del mercado en fresco (Miranda, 2015).

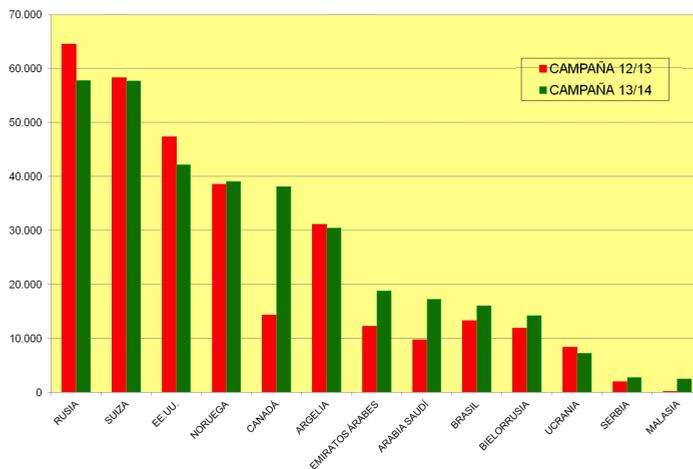
En la Tabla 1.1 se indica la situación dominante que ejerce España en la exportación de cítricos en fresco.

**Tabla 1.1:** Evolución de las exportaciones españolas de cítricos en fresco en millones de toneladas (MT)

*Fuente: Base de datos de FAO (2014)*

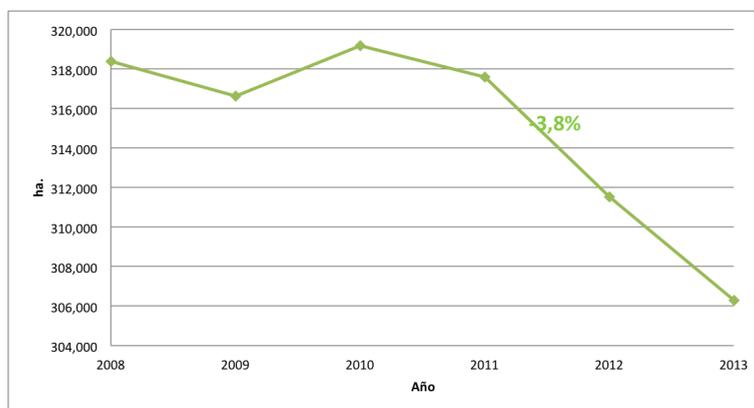
Principales Exportadores de Cítricos							
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
<b>España</b>	<b>3.644</b>	<b>3.144</b>	<b>3.479</b>	<b>3.280</b>	<b>3.744</b>	<b>3.844</b>	<b>4.008</b>
Sudáfrica	1.306	1.445	1.311	1.490	1.425	1.525	1.643
Turquía	948	825	1.096	1.035	1.216	1.476	1.288
Egipto	800	560	851	928	856	924	1.182
EE.UU	851	1.072	866	1.041	1.134	1.037	1.020
China	563	790	1.085	949	908	1.085	1.001
México	494	544	484	500	4368	667	575
Grecia	289	342	230	365	462	373	445
Argentina	654	662	517	551	505	454	442
Marruecos	583	529	484	490	530	493	388
Pakistán	133	205	248	351	332	368	351
Italia	179	194	255	223	335	298	255
Chile	93	103	109	139	158	167	169
Australia	131	131	166	164	111	154	167
Exportación Mundial	12.816	12.967	13.642	14.204	14.596	15.215	15.425

En la Figura 1.1, se indican las exportaciones a terceros países de las dos últimas campañas de las que se disponen estadísticas:



**Figura 1.1:** Exportaciones a países terceros

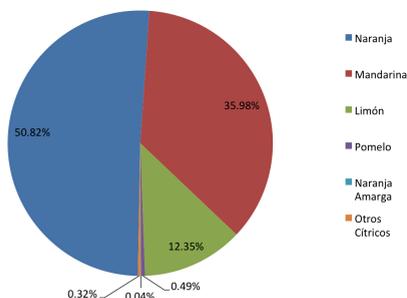
La producción española procede de una superficie de 306.303 ha (2013). No obstante, la superficie cítrica está en retroceso. En los últimos 5 años han retrocedido todas las especies (excepto el pomelo) un  $-3,8\%$  (Miranda, 2015).



**Figura 1.2:** Evolución superficie cítrica

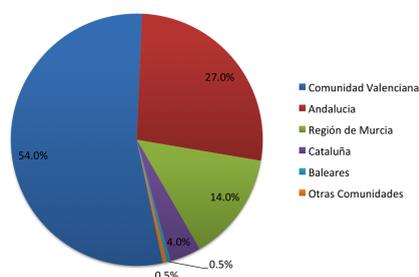
*Fuente: Miranda, 2015*

En la Figura 1.3 se indica las superficies en cultivo de las distintas especies en el 2014:



**Figura 1.3:** Superficie de cultivo de cítricos por variedades

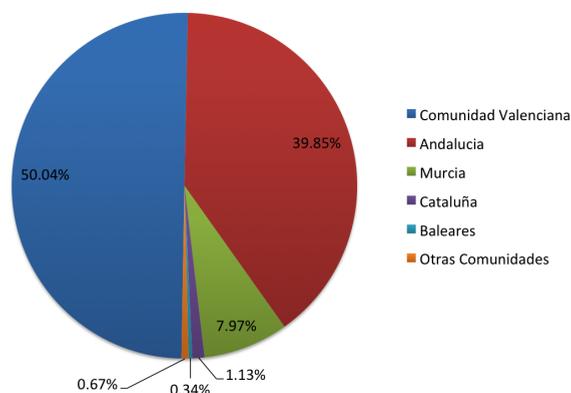
*Fuente: Sanfeliu (2015)*



**Figura 1.4:** Superficie de producción por comunidades autónomas

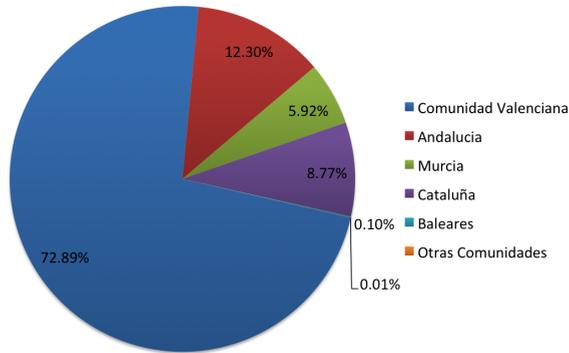
*Fuente: Sanfeliu (2015)*

La producción de cítricos en España se concentra prioritariamente en cuatro Comunidades Autónomas. La Comunidad Valenciana tiene clara hegemonía en producción de pequeños cítricos y naranja, y Murcia tiene el predominio en la producción de limón y pomelo (Miranda, 2015).



**Figura 1.5:** Distribución de la superficie de cultivo de naranja en el 2014, por comunidades autónomas.

*Fuente: Sanfeliu (2015)*



**Figura 1.6:** Distribución de la superficie de cultivo de mandarina en el 2014, por comunidades autónomas.

*Fuente: Sanfeliu (2015)*

En cuanto a la producción española, el naranjo dulce supone alrededor de 3,1 millones de toneladas y los 'pequeños cítricos', del orden de 2,1 millones de toneladas.

Esta producción se clasifica en distintos grupos varietales, con distintos calendarios de comercialización, que origina que se realicen exportaciones durante casi todo el año.

Centrándose en las variedades más importantes, destaca:

**Naranja grupo Navel :** destaca Navelina (33 % producción), Navelate, Lane Late.

**Naranja grupo nuevas tardías :** Powell, Chislett etc, Grupo de Blancas, de gran aptitud industrial. Grupo tardías tradicionales, Valencia Late.

**Pequeños cítricos :** Clementinas (68 % producción, 1,5 mt; destaca Clemenules con aproximadamente 65 % de producción de Clementinas), Híbridos de mandarina (25 %, 0,5 mt); Satsuma (7 %, 0,1 mt).

El calendario de recolección de las distintas variedades se presenta en la Figura 1.7.

### CALENDARIO DE RECOLECCIÓN DE LOS CITRICOS CULTIVADOS EN ESPAÑA

Pardo J., Soler G., Buj A.

<http://www.ivia.es/variedades/>

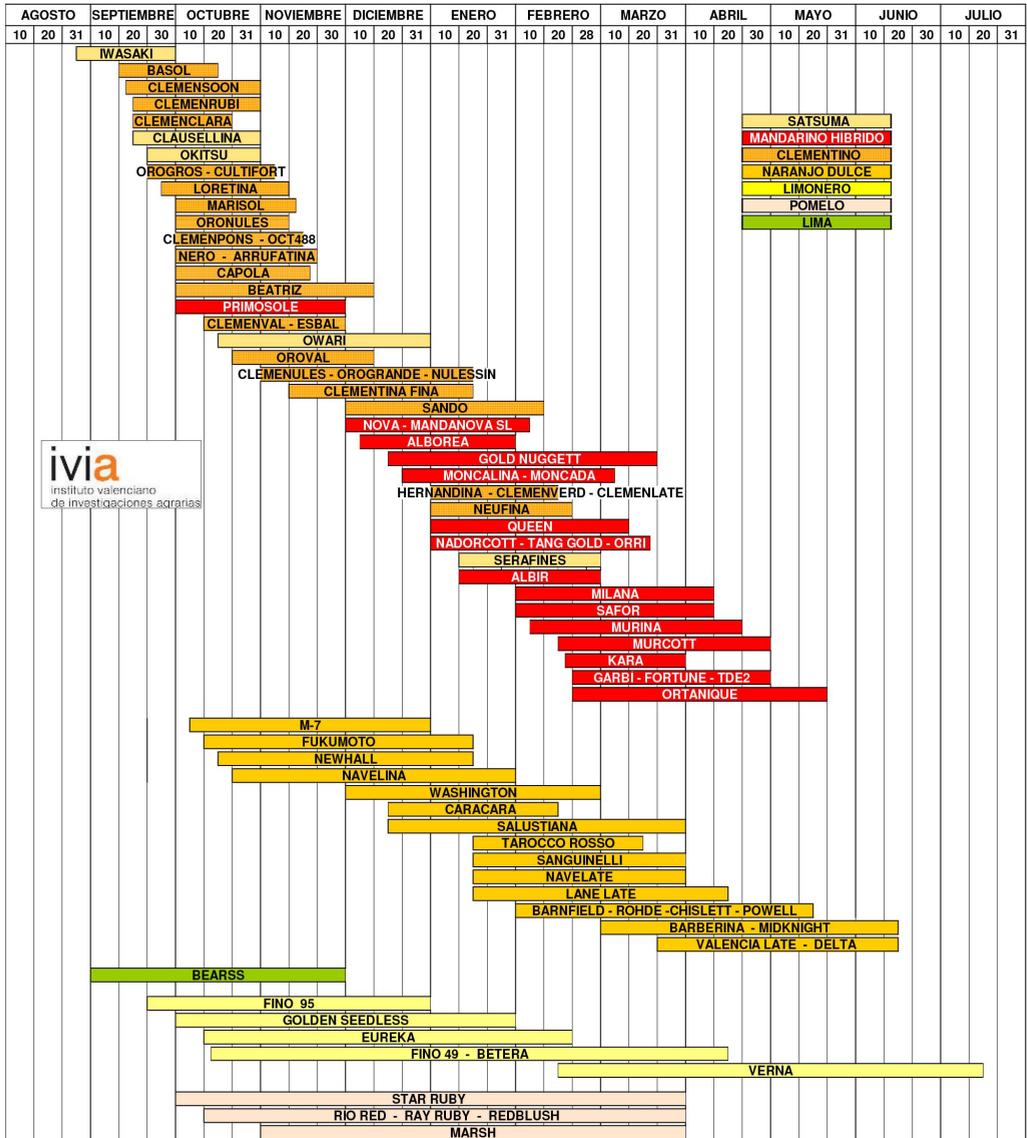


Figura 1.7: Calendario de recolección variedades

Fuente: Pardo y col. (2015)

Existe un problema estructural de sobreoferta en determinados periodos para algunas variedades (finales de noviembre - mediados de enero). Esto se debe al solape de la Navelina y de la Clemenules como se observa en la Figura 1.8, agravado en algunas campañas por el retraso de la maduración externa. Se observa que un 32% de la producción se tiene que comercializar en 2 meses:

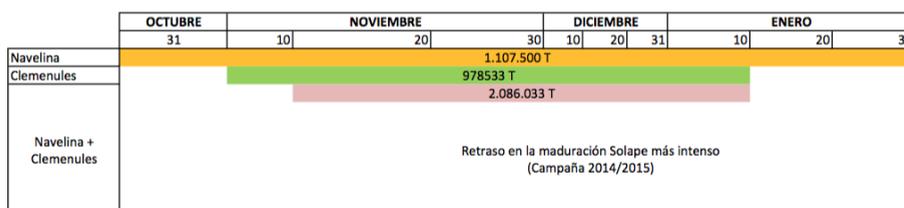


Figura 1.8: Solape de producción

Fuente: Miranda (2015)

## 1.2 La recolección y manipulación en centrales cítricas

La recolección de los cítricos se realiza a mano, con ayuda de unas tijeras especialmente diseñadas, que cortan el pedúnculo del fruto al ras del cáliz. En algunos casos se efectúa a tirón. En este último caso el fruto puede perder calidad además de sufrir alguna lesión.

El trato del fruto debe ser cuidadoso con el fin de evitar golpes y lesiones mecánicas que puedan producir desórdenes y pérdidas de calidad. Algunos se manifiestan inmediatamente (heridas, roturas...), pero otros son de efecto aplazado (manchas...); siendo estas heridas y roturas puerta de entrada para el desarrollo de infecciones fúngicas, como se indica en la Figura 1.9. Toda esta fruta es destriada en la línea de manipulación de cítricos de la zona de tría como se detalla en la Figura 1.10.

El aspecto más crítico de la recolección es la determinación del momento óptimo según el índice de madurez del fruto (Agustí, 2000), junto con las condiciones climáticas en el momento de efectuarse, que también deben evaluarse y deben evitarse recolecciones efectuadas con rocíos, nieblas, vientos con baja humedad relativa (Amat, 1988).

Es necesario tener como premisa que se debe partir de una buena calidad inicial de los frutos. En general, es importante cosechar con el índice de madurez adecuado, siempre con tiempo seco y de forma extremadamente cuidadosa para minimizar heridas en la piel y otros daños físicos (Cuquerella y col., 2004). En cuanto a la

recolección, ésta suele ser el origen de numerosos daños internos y externos que afectan a la calidad de los frutos (Mazzuz, 1995). Durante esta, confluyen diversos factores que pueden determinar una mayor o menor presencia de heridas en el fruto o un mejor o peor desarrollo de los hongos presentes en un cítrico. Por tanto, una mejor y más correcta recolección hará que los tratamientos posteriores sean más eficaces (Gutiérrez, 2005).



**Figura 1.9:** Daños por recolección observados a la salida de la cámara de desverdización. Rotura de las glándulas de aceite esencial de las mandarinas

Los cítricos son productos perecederos que tras su recolección continúan con su proceso de maduración y senescencia. Es por ello que la recolección y todos los procesos de manipulación en la central citrícola son de gran importancia para la posterior comercialización (Agustí, 2000).



**Figura 1.10:** Tría de mandarinas por personal cualificado en la mesa de tría de una central citrícola en el año 2009

### 1.3 Tipología del proceso

Los cítricos para consumo en fresco deben ser confeccionados en función de la demanda de los consumidores, por lo que es preciso poder ofertar al mercado, para una misma variedad, diferentes calibres, envases y prestaciones. Para ello se utilizan las líneas mecánicas de manipulación ubicadas en las centrales hortofrutícolas. Estas líneas están formadas por un conjunto de máquinas con funciones específicas, unidas entre sí por cintas transportadoras, transportadores de rodillos, elevadores, etc. El producto, una vez recolectado, se transfiere a las centrales de confección, donde es clasificado y envasado en base a determinadas especificaciones, para su venta a las plataformas comerciales. La capacidad de trabajo de estas líneas es muy variable, pudiendo oscilar entre 10 hasta 40 toneladas por hora (García y Diezma, 2006).

Los procesos productivos desarrollados en las centrales cítricas difieren en función de la especie, variedad, época de recolección, especificaciones de cliente y destino comercial del cítrico que se esté manipulando; aunque existen una serie de fases y/o etapas comunes en casi todos ellos que suelen darse entre la entrada y salida del producto.

El proceso empieza con la recepción del camión procedente de campo con la materia prima en el muelle de recepción. Se realiza un control inicial de la mercancía comprobando: la procedencia y código de trazabilidad, el tamaño del lote, la calidad del producto, estado del vehículo, etc., dejando así constancia en el sistema de la central de cada una de las partidas recibidas. La carga y descarga, que se realiza con carretillas eléctricas, va asociada a la propia recepción de la materia prima y es un paso previo a la pre-refrigeración y/o entrada a la línea de manipulado correspondiente (Agustí, 2000).

En el proceso de manipulación y envasado de los cítricos, tras las etapas comunes anteriormente citadas, se suele realizar una ducha de la fruta con tratamiento en el dréncher, previa a su introducción en la línea de manipulación y/o desverdizado. El dréncher consta de una cabina con espacio para dos o varios palets y un equipo aplicador del tratamiento que protege a la fruta mejorando su estado sanitario y su conservación.

No todos los cítricos son tratados con productos fitosanitarios de postcosecha en el dréncher y en el aplicador de cera de la línea de manipulación de cítricos. En algunos casos, el país de destino limita y determina el método de trabajo, la manipulación y envasado de los productos, así como los tratamientos autorizados. En otros casos, es la empresa cliente la que estipula los tratamientos autorizados, incluyendo los tratamientos postcosecha. Y en todo momento es la central cítrica la que decide los tratamientos según el tipo de producto (limón, mandarina, naranja, etc.) y el uso del mismo (expedición inmediata, desverdizado y almacenamiento, etc.) (Conesa, 2010).

Según el momento de la campaña de los cítricos, el estado de madurez de los mismos y la demanda del mercado, los cítricos pasan por una cámara de desverdización para hacer virar su color de verde a amarillo o naranja. En este proceso, son limitantes varios factores: la temperatura, la humedad relativa y la concentración de oxígeno, etileno y anhídrido carbónico en la atmósfera de la cámara. Todos estos factores están controlados con dispositivos incorporados en las cámaras frigoríficas.

Mediante el lavado se eliminan los restos de suciedad, polvo, barro, que puede contener la fruta a su paso por la lavadora, y se le añade al detergente un producto desinfectante o fungicida (Conesa, 2010). El secado y el calibrado son fases fijas en el proceso de manipulación y envasado de los cítricos, y son previas a cualquier clasificación y manipulado posterior en el almacén.

El encerado es una práctica que se usa para restituir algunas de las ceras naturales que se eliminaron en las operaciones de lavado y limpieza, y que pueden ayudar a reducir la pérdida de agua durante su manejo y comercialización, así como a mejorar la conservación del producto. Además, aportar brillo que mejora la presentación de la fruta. Este tratamiento no se da siempre en los productos mencionados, aunque sí es común el encontrarlo. Esto va a depender, al igual que en el caso del tratamiento con dréncher, del destino final de los productos y de las especificaciones impuestas por los clientes.

El sector de cítricos ha empezado a abordar el cambio que supone la implementación de métodos de producción y manipulación de frutos que aseguren la calidad de los mismos desde el punto de vista de residuos químicos, así como de respeto al medioambiente. Es por ello que se están introduciendo ceras formuladas a base de compuestos naturales en detrimento de los compuestos sintéticos (ceras a base de poliestireno). En este sentido se están comercializando ceras con componentes totalmente comestibles (GRAS, Generaly Recognized as Safe) aptas para cítricos y otros frutos como caqui, ciruela, entre otros (Palou y col., 2002b; Salvador y col., 2007).

En las Figuras 1.11 y 1.12 se indica el diagrama de flujo del proceso productivo de una central citrícola típica de Valencia (España).

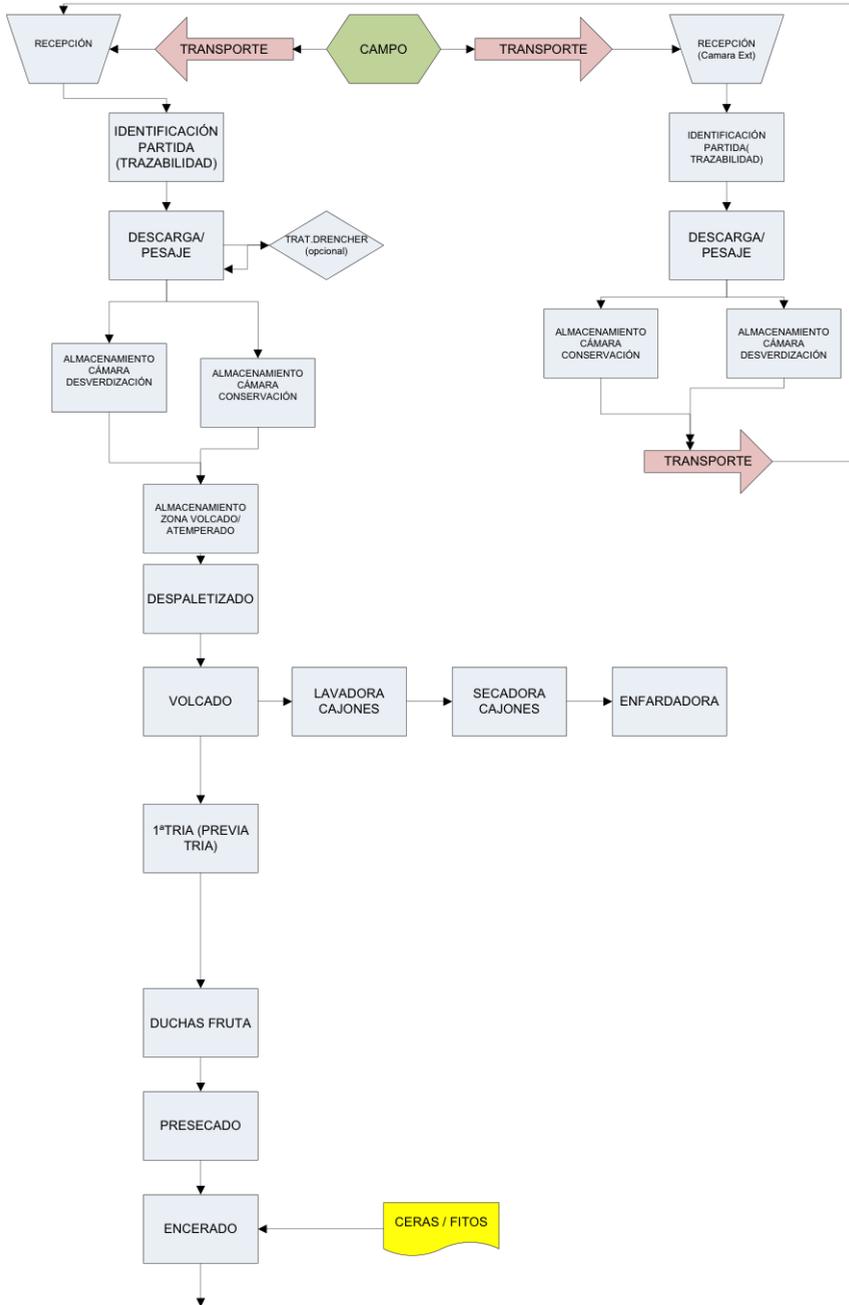
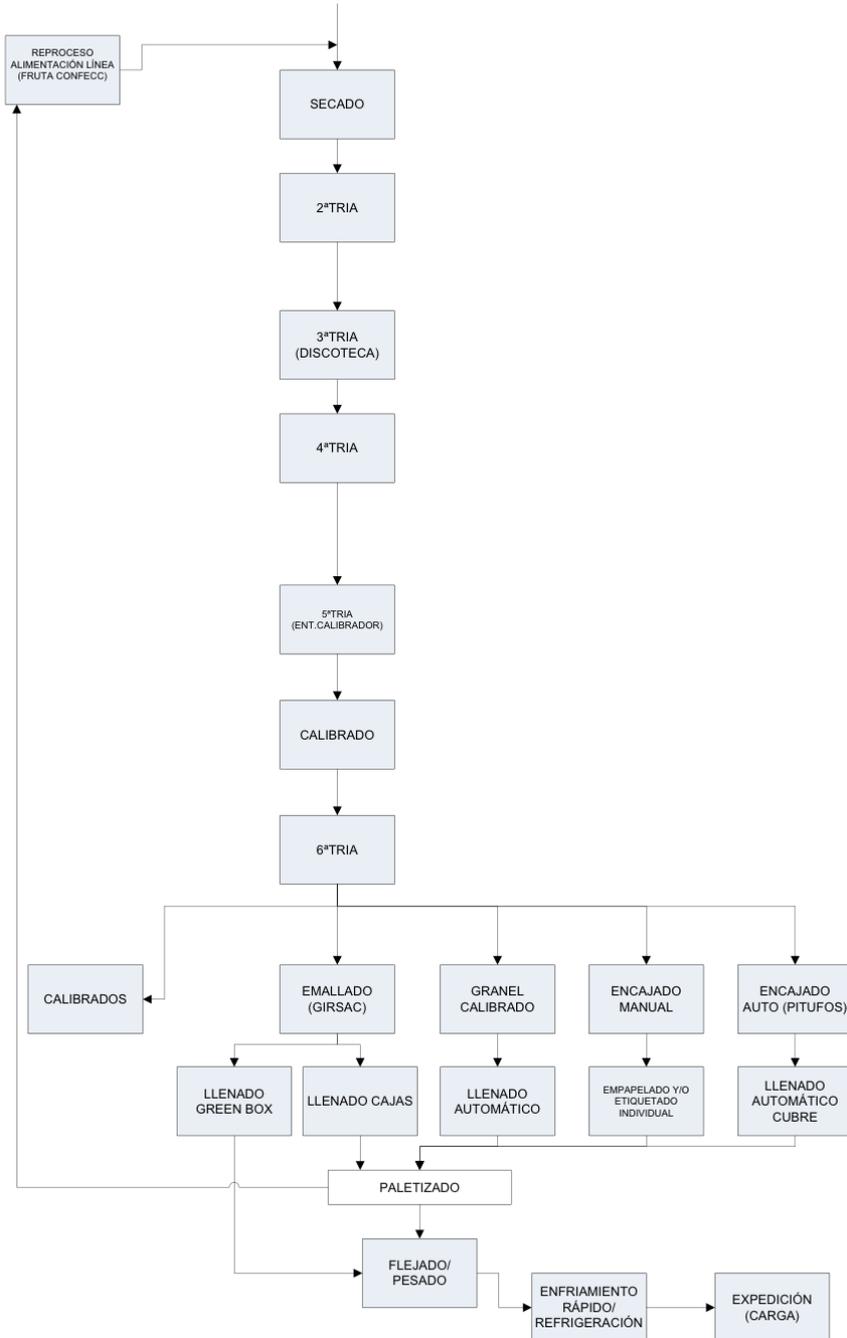


Figura 1.11: Diagrama de flujo del proceso productivo de una central citrícola típica de Valencia

Fuente: Elaboración propia



**Figura 1.12:** Diagrama de flujo del proceso productivo de una central citrícola típica de Valencia

*Fuente: Elaboración propia*

Existen diferentes métodos de aplicación de fungicidas, entre los cuales, los de inmersión o baño han mostrado la mayor efectividad (Tusset y col., 1987).

**Tratamientos en dréncher** . Esta técnica detiene o retrasa el crecimiento de los parásitos de herida e infecciones latentes.

**Tratamientos en balsa** . En este caso el lavado de los frutos en balsa se combina con un tratamiento antifúngico.

**Tratamientos con cortinas de impregnación y en ducha o spray** . En ese caso se asocia un fungicida a un detergente para la limpieza del fruto.

**Tratamientos con cera** . Recubrimiento de cera al agua con incorporación de fungicidas.

**Tratamientos mediante botes fumígenos o pastillas de fumigación** .

**Tratamientos de aerosoles o niebla** .Si se utiliza aire caliente se tiene la técnica de termonebulización.

## 1.4 Consumo. Seguridad alimentaria y calidad en la postcosecha de cítricos

El término 'Seguridad alimentaria' hace referencia a los problemas de higiene e inocuidad de los alimentos. Todos los esfuerzos organizativos de gestión de las empresas agroalimentarias van dirigidos a proporcionar alimentos 'seguros', libres de contaminaciones que supongan una amenaza para la salud. Al mismo tiempo, las empresas del sector agroalimentario deben de hacer frente a una serie de requisitos de calidad y seguridad alimentaria, cada vez más exigentes, no sólo a nivel legislativo, sino que, a través de las exigencias de las grandes cadenas de distribución, presionadas a su vez por las demandas de los propios consumidores. La conveniencia de los operadores alimentarios de asegurar frente a organizaciones externas o autoridades competentes, que sus sistemas de seguridad alimentaria, como el Sistema de Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (APPCC), son operativos y fiables y se ajustan a los principios y requisitos contenidos en el *Codex Alimentarius* y en la legislación vigente, han dado lugar a la aparición de numerosas normas de aseguramiento o certificación de la Seguridad Alimentaria (BRC, IFS, Globalgap, etc. . . ) basadas en los criterios definidos, en mayor o menor medida, por las propias cadenas de distribuidores.

Se observa que todos ellos disponen de características comunes:

- Toman como pilar básico el APPCC basado en el *Codex Alimentarius*.
- Aplican principios de seguridad alimentaria.

- Son certificables.
- Tienen reconocimiento internacional.
- Suponen una garantía de productos seguros para los consumidores.
- Armonizan guías y criterios.
- Establecen requisitos de producto / proceso (González y Sanz, 2008).

La tecnología de radiación UV-C puede ser un tratamiento válido en lo que respecta al protocolo de análisis de riesgos y control de puntos críticos (APPCC), debido a su efectividad para reducir el número de microorganismos en la superficie de alimentos o bien en la superficie de proceso de los mismos (Yaun y col., 2003; Haro y Guerrero, 2013). Por las ventajas que presenta este tipo de irradiación, se ha considerado como un tratamiento alternativo para preservar la calidad de las frutas (Allende y Artés, 2003a; González-Aguilar, 2007). El tiempo de aplicación de UV-C oscila entre 1 y 5 min, periodo que no incrementa significativamente la temperatura del tejido (1-3 °C), ni produce alteraciones o favorece los procesos deteriorativos del producto. Una ventaja es que no deja residuos y no afecta las características sensoriales (sabor y aroma) del producto. Pero la sensibilidad de los tejidos al tratamiento con UV-C difiere en función del genotipo, y en ocasiones las dosis altas pueden favorecer la oxidación de compuestos bioactivos del fruto, como vitamina C, carotenos y fenoles, así como el oscurecimiento superficial del tejido (González-Aguilar y Wang, 2001).

## 1.5 Enfermedades de postcosecha

Las enfermedades de postcosecha, es decir, aquellas enfermedades que afectan a los frutos desde que son recolectados hasta que llegan al consumidor, provocan pérdidas económicas importantes al sector citrícola. La gran mayoría de los agentes patógenos causantes de enfermedades son hongos filamentosos; y la sintomatología que producen en los frutos son las podredumbres, término que se utiliza para nombrar las propias enfermedades (Palou, 2005a).

Las pérdidas provocadas por las enfermedades son muy variables y dependen del área productora, la especie, el cultivar, la edad y condición de los árboles; las condiciones climatológicas durante toda la campaña, la época y forma de recolección; el manejo de los frutos en postcosecha, las condiciones de almacenamiento y el mercado de destino (Eckert y Brown, 1986).

En algunos casos, enfermedades económicamente poco importantes hace unas décadas, actualmente han alcanzado una cierta relevancia por una serie de razones múltiples y diversas, entre las que sobresalen el auge experimentado por la pro-

ducción, los cambios en las prácticas culturales, la renovación varietal, el retraso de la recolección de algunas variedades y el aumento singular de la conservación frigorífica (Tusset y col., 1987).

Durante el periodo que transcurre desde la recolección hasta el consumo, los frutos cítricos son afectados por diversos patógenos fúngicos, pudiendo causar según algunas estimaciones porcentajes de podrido del orden del 3-5 % de todos los frutos manejados en la central, siendo en los años de climatología anormal de un 8-12 % (Tusset y col., 1987).

En el ámbito mundial destacan las pérdidas producidas por patógenos de herida estrictos como *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. o *Penicillium italicum* Wehmer, causantes, respectivamente, de las podredumbres verde y azul (Tusset y col., 1987).

La incidencia de estas podredumbres es general y elevada (normalmente más del 80 % del total de pérdidas por podridos) y, por tanto, constituyen el eje básico de cualquier estrategia de control de enfermedades de postcosecha de cítricos. La infección del fruto tiene lugar a través de heridas o microheridas producidas en la corteza antes, durante o después de la recolección.

### ***Penicillium digitatum***

*Penicillium digitatum*, la causa del moho verde, fue descrito y clasificado por Saccardo en 1881. El nombre científico actualmente aceptado es *P. digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc.

Haciendo una descripción breve del hongo, indicar que las colonias son planas y crecen rápidamente en agar extracto de malta (MEA) y agar de dextrosa de patata (PDA), pero mal en Czapek agar y medios sintéticos similares. El anverso de la colonia es de color verde oliva y el reverso de color crema, amarillo o pálido marrón opaco.

El hongo es capaz de germinar en medios artificiales a 5°C y, en algunos casos, puede producir colonias de hasta 3 mm de diámetro. No hay crecimiento a 37 °C. Los olores puede ser fuertes. Se han detectado en forma de metabolitos volátiles: limoneno, valenceno, etileno, alcohol etílico, acetato de etilo o acetato de metilo.

El aparato conidial es muy frágil y tiende a romperse en muchos elementos celulares (Palou, 2014). Las estructuras hifales portadoras de los conidios (conidióforos), se caracterizan por su gran irregularidad, tanto en el número como en las dimensiones de las partes que componen los 'penicilos'. En una misma cadena de conidios se observa entre ellos marcadas diferencias en la forma y en las dimensiones (Tusset y col., 1987).

Dos cepas de *P. digitatum* que difieren en su resistencia a fungicidas sintéticos aplicados en postcosecha para el control del moho verde se secuenciaron, y se encontró que eran pocas mutaciones las responsables de tales diferencias (Palou, 2014).

### *Penicillium italicum*

*Penicillium italicum*, la causa del moho azul de los cítricos, fue descrito por Wehmer en 1894. El nombre científico aceptado actualmente es *P. italicum* Wehmer.

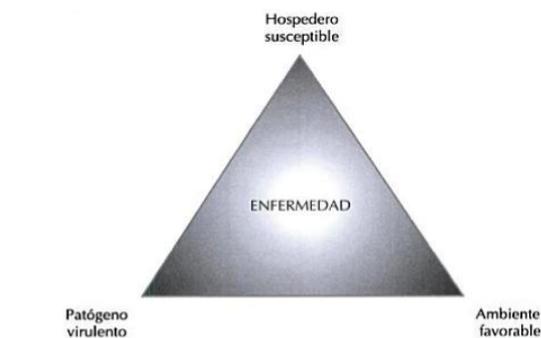
Indicar que a 25 °C, las colonias crecen en agar de Czapek limitadamente pero más rápidamente en MEA y PDA. Las colonias son planas, de color azul o de color gris verdoso y con frecuencia aparecen de aspecto granular debido a la presencia de conidióforos. Su olor es causado por los metabolitos volátiles tales como acetato de etilo, isopentanol, linalool, isobutanol, 1-octeno, butanoato de etilo, 1-noneno, estireno, o citronellene, ocasionalmente observado en los aislados frescos (Palou, 2014).

Los elementos constituyentes de la parte esporígena de *P. italicum* son menores en tamaño que los de *P. digitatum*. Los conidióforos son erectos, normalmente dispuestos en pequeños manojos y están repartidos formando zonas por toda la superficie que ocupa la colonia del hongo en el fruto. Los conidios son al principio típicamente cilíndricos y en la madurez elípticos o subglobosos (Tusset y col., 1987).

#### 1.5.1 Proceso de infección. Triángulo de la enfermedad

Una representación gráfica del triángulo de la enfermedad para el moho verde y azul de los cítricos se muestra en la Figura 1.13. Este triángulo representa las relaciones entre el patógeno, el huésped y las condiciones ambientales que determinan la aparición de la enfermedad. Las enfermedades de postcosecha de cítricos han sido clasificadas clásicamente en dos grupos diferentes según el momento de la infección: infecciones precosecha, causadas genéricamente por los llamados patógenos latentes, y las infecciones postcosecha, causados genéricamente por los llamados patógenos de herida (Eckert y Eaks, 1989).

Los mohos del genero *Penicillium* pertenecen al segundo grupo *P. digitatum* y *P. italicum* causa enfermedad en los cítricos sólo a través de infecciones en heridas de la corteza. Por lo general, estas heridas son infringidas durante la cosecha y posterior manipulación de la fruta en el almacén de embalaje o durante la comercialización, pero algunas infecciones puede ocurrir antes de la cosecha a través de lesiones, grietas o heridas hechas por insectos u otras causas abióticas. En este caso, la fruta infectada tiempo antes de la cosecha a menudo cae del árbol, pero la fruta infectada menos de 3 días antes de la cosecha no puede ser detectada y



**Figura 1.13:** Triangulo de la enfermedad

*Fuente: G. Rivera (1999)*

es cosechada (Eckert y Eaks, 1989). Las esporas de hongos de las frutas podridas en el suelo del huerto, en las cámaras y zonas de almacenamiento en la central, o en cualquier lugar durante el transporte y comercialización son transportadas por corrientes de aire y pueden contaminar masivamente los frutos circundantes. No se produce infección si la corteza de la fruta está intacta porque los conidios libres situados en la superficie de la misma no son capaces de germinar. Por el contrario, los conidios situado en las lesiones de las glándulas de aceite rotas, penetran en el albedo del fruto y suelen causar irreversiblemente la infección a las 48 horas a 20-25°C (Palou, 2014).

Es importante indicar que *P. italicum* posee una aptitud saprofita un poco más marcada que *P. digitatum*, lo que reduce mucho su presencia activa en los frutos colgados en el árbol, necesitando que el fruto este totalmente maduro y separado de la rama. También, por esta misma razón es mayor la presencia de moho azul en aquellos frutos previamente afectados por otra enfermedad (Tusset y col., 1987).

### 1.5.2 Sintomatología

Las infecciones incipientes de *P. digitatum* y *P. italicum* suelen ser observadas a simple vista sólo después de aproximadamente 3 días de incubación a temperatura ambiente.

Un área circular que rodea el sitio de infección (de la corteza herida) traslúcida, se decolora, y puede ser fácilmente penetrada con el dedo.

Como patógenos necrotróficos, ambos hongos producen enzimas hidrolíticas, en su mayoría poligalacturonasas y celulasas, que parecen ser los responsables de la maceración del tejido durante el desarrollo de la enfermedad (Eckert y Eaks, 1989).

A medida que el hongo crece, un micelio blanco aéreo se desarrolla en el centro de la lesión y se expande radialmente. Dependiendo de la carga de inóculo, la esporulación comienza después de 3-5 días a temperaturas de incubación (15-28 °C) y también se expande formando radialmente una capa coloreada de textura aterciopelada. En el caso del moho verde, después de 7-8 días, el área central de la lesión es de color verde oliva rodeada por una amplia banda de denso micelio blanco no esporulado, limitada por corteza del cítrico en descomposición.

En el caso del moho azul, el área central de esporulación es azul o verde azulado rodeada de una banda muy estrecha de micelio blanco no esporulado limitado por una amplia banda de corteza translúcida. Con el tiempo, toda la superficie de la fruta está completamente cubierta con esporas, el fruto comienza entonces a reducir el tamaño y, si se expone al aire, se convierte en una cáscara hueca en el caso de moho verde y una masa sin forma, viscosa en el caso del moho azul. No es extraño en las centrales cítricas encontrar síntomas de ambas enfermedades incluso en la misma fruta, generalmente el moho verde crece más rápidamente que el moho azul en infecciones mixtas en cítricos que se han mantenido a temperatura ambiente.

### 1.5.3 Factores que influyen en la infección de *P. digitatum* y *P. italicum*

Tanto *P. digitatum* como *P. italicum* son patógenos de herida que causan la enfermedad después de la recolección. La infección y podrido de la fruta inmadura por estos hongos es muy rara, debido a una serie de mecanismos complejos desencadenados por el huésped que conducen a la resistencia a la enfermedad. Por el contrario, la infección de la fruta madura es frecuente y viene seguida por la descomposición de la fruta. En contraste con otras enfermedades de postcosecha que se inician principalmente en el campo como las infecciones latentes, en el caso de los mohos de los cítricos causados por *Penicillium*, la mayoría de los factores desencadenantes son la recolección y la postcosecha (Palou, 2014).

Parámetros cruciales tales como la temperatura, la densidad de inóculo, madurez de la corteza y condiciones de la recolección, etc.; pueden explicar la importancia del manejo de los frutos en las operaciones de postcosecha tales como limpieza, clasificación o almacenamiento en frío prolongado. O otros factores como los factores de precosecha, la desverdización y la confección de los frutos en central son también importantes y pueden determinar la incidencia final de podridos.

### ***Precosecha***

Su importancia relativa es baja si se compara con su influencia sobre el porcentaje final de las enfermedades de postcosecha de cítricos causadas por patógenos latentes. Sin embargo, una proporción variable de total de cítricos que se pudren por *P. digitatum* y *P. italicum* se infecta en el campo. Por lo tanto, los tratamientos de campo pueden ser de utilidad ya sea para reducir los niveles de inóculo o proteger la fruta.

Una protección satisfactoria podría lograrse a través de cualquier antifúngico de aplicación en campo, si la acción directa contra el patógeno persiste el tiempo suficiente después de la recolección o a través de tratamientos en el campo que indirectamente inducen niveles más altos de resistencia del huésped a la enfermedad. Entre los diferentes fungicidas y mezclas aplicadas antes de la cosecha, los tratamientos con metil-tiofanato mostraron los mejores resultados para el control del moho verde en postcosecha (Palou, 2014).

### ***La desverdización***

Cítricos de variedades extratempranas y tempranas, particularmente mandarinas y naranjas, son por lo general expuestos a dosis bajas de gas de etileno exógeno (2-3 ppm  $C_2H_4$ ) a alta humedad relativa (RH) durante 2-4 días. Este procedimiento se lleva a cabo para eliminar el color verde de la corteza de fruta que internamente ya ha llegado a su madurez comercial (Jiménez-Cuesta y col., 1983).

Esta eliminación se lleva a cabo mediante dos procesos independientes, la degradación de la clorofila y la acumulación de carotenoides (Sdiri y col., 2012).

Una adecuada pre-clasificación de la fruta antes de la desverdización basada en la coloración inicial de la corteza es muy recomendable para la racionalización del tratamiento y minimización de las dosis requeridas de etileno. Aunque varias investigaciones se han realizado hasta la fecha para aclarar la relación entre las aplicaciones de etileno y la descomposición por *P. digitatum* y *P. italicum*, en cuanto a los resultados de la investigación; no se ha encontrado una tendencia bien determinada. Las discrepancias observadas en los mismos parecen estar relacionadas con la cantidad de etileno aplicado, el tratamiento, la duración y las condiciones ambientales.

La inducción de resistencia al *Penicillium* spp. se ha observado en cítricos desverdizados a 20-22°C que es el estándar comercial de temperatura de desverdización en España y otros países mediterráneos y está cerca de la temperatura óptima para el desarrollo de *P. digitatum* y *P. italicum*. Se ha discutido que el tratamiento de etileno induce un aumento de compuestos fenólicos totales de la corteza de la fruta. Trabajos de Marcos y col. (2005) confirmaron la participación de etileno en la

expresión de los genes que regulan la actividad de las enzimas relacionadas con la inducción de resistencia en la corteza de los cítricos en respuesta a la infección por *P. digitatum*. También se observó que el tratamiento con 1-metilciclopropeno(1-MCP) aumentó significativamente la susceptibilidad de la fruta al moho verde (Palou, 2014).

Sin embargo, otras investigaciones han sugerido que no resulta significativo dicho efecto (Plaza y col., 2004b) o incluso un aumento en la incidencia de podrido por *Penicillium* en los cítricos después de la exposición de etileno a 20°C (McGlasson y Eaks, 1972). En este caso, un aumento de este tipo se ha atribuido a un efecto negativo de etileno en la susceptibilidad de la fruta por acelerar los procesos bioquímicos que conducen a la senescencia de la corteza de la fruta. A pesar de ser frutas no climatéricas, muchos informes señalan los efectos perjudiciales de la prolongada exposición de etileno sobre la condición de la corteza de los cítricos, especialmente en la inducción de alteraciones del cáliz o incluso la pérdida de cálices (Sdiri y col., 2012).

Por el contrario, no se han observado efectos negativos sobre la cantidad de compuestos fenólicos presentes en la corteza o en la calidad interna de la fruta (Palou, 2014).

## 1.6 Limpieza y desinfección

Varios factores relacionados con el fruto, el patógeno, las condiciones climatológicas y las condiciones en postcosecha determinan la incidencia y la severidad de estas enfermedades (Eckert y Eaks, 1989). Entre ellos, la cantidad y la calidad del inóculo fúngico ocupan un lugar destacado. La probabilidad de infección depende de la cantidad de inóculo presente en un punto del fruto susceptible de ser infectado. Según esto, y con independencia de otros factores, la cantidad de esporas presentes en la central citrícola influye decisivamente en los niveles de pudrición, especialmente en los causados por patógenos de herida como *P. digitatum* o *P. italicum*.

Los problemas derivados de altos niveles de población fúngica en las centrales se ven significativamente incrementados cuando existen cepas de los patógenos resistentes a los fungicidas empleados. Multitud de estudios han constatado que el fenómeno de las resistencias es una de las causas principales del fracaso de muchos tratamientos fungicidas de postcosecha. La gran mayoría de estos estudios se han referido, por su importancia económica, a *P. digitatum* y *P. italicum* frente a los fungicidas del grupo de los bencimidazoles, el ortofenilfenato sódico y el imazalil, y se han descrito casos tanto de resistencia simple como de resistencia cruzada y múltiple. En España, se han estudiado en distintas zonas productoras la presencia

y características de cepas de *Penicillium* spp. resistentes a diversos fungicidas (Palou y col., 2001b).

Dentro de los métodos de control preventivos, aquí destacamos la correcta higienización de las centrales cítricas (Brown, 1980; Eckert y Eaks, 1989). El conocimiento de las áreas y puntos concretos del almacén donde se dan los mayores niveles de contaminación permite adecuar los programas de limpieza y desinfección y optimizar los recursos (Palou y col., 2001b).

Es importante establecer, en paralelo a la línea de confección de la fruta, una línea automática para el lavado y desinfección de las cajas vacías de campo o contenedores. Aunque obvio, los problemas relacionados con la ubicación inadecuada de los contenedores de podrido a las salidas de las trías pueden ser de importancia en algunos casos. Las corrientes de aire y la ubicación de estos contenedores debe impedir la entrada de esporas en el interior de la zona limpia de confección a través de las corrientes de aire o insectos y deben ser reemplazados con una frecuencia razonable (Palou, 2011).

El Cloro, en particular hipoclorito de sodio ( $\text{NaClO}$ ), ha sido tradicionalmente el producto más utilizado para la desinfección de la fruta y la prevención de la contaminación en los caldos fitosanitarios de las balsas o dréncher (Smilanick y col., 2002). Sin embargo, su uso depende en gran medida de las zonas de producción; por ejemplo, mientras que es de muy amplio uso en California o Australia, apenas se utiliza en España en la actualidad. Ello está relacionado con el aumento de los problemas asociados con el cloro y sus derivados como el dióxido de cloro ( $\text{ClO}_2$ ) o hipoclorito de calcio ( $\text{CaClO}_2$ ), es decir, la dependencia del pH, y su rendimiento deficiente con altos niveles de materia orgánica, la formación de nitrosaminas, o su actividad corrosiva. En la actualidad los ingredientes activos más utilizados son materias activas como el ácido peracético, el agua oxigenada ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), yodoforos, etanol, bromo-cloro-dimetilhidantoína, o mezclas de los anteriores.

Es conocido que los desinfectantes oxidantes son ineficaces en el control de enfermedades de postcosecha porque su modo de acción es por contacto y no pueden llegar a las estructuras fúngicas establecidas en heridas de la corteza. Por lo tanto, no pueden ser utilizados como sustitutos del IMZ u otros fungicidas convencionales, aunque pueden mostrar una actividad sinérgica cuando se aplican en combinación.

Por otro lado, si se aplican en dosis excesivas o durante demasiado tiempo de contacto/exposición, pueden ser altamente fitotóxicos (Palou, 2014).

También el cloro y sus derivados y otros compuestos tales como amonios cuaternarios, alcohol isopropílico, formaldehído, o el ozono pueden ser utilizados para desinfectar las paredes de la central y equipos, los suelos y paredes de las cámaras, y los envases de campo. La aplicación de estos productos químicos debe ser precedida por un lavado a fondo porque sólo las superficies previamente limpiadas

son eficazmente desinfectadas. El vapor o agua muy caliente también se utilizan en algunos casos.

El ozono ( $O_3$ ) es un oxidante muy potente libre de residuos de muy alta toxicidad contra las esporas fúngicas libres e hifas. Si se aplica correctamente, tanto gaseoso como en disolución acuosa es un desinfectante muy eficaz, pero no puede sustituir al uso de los fungicidas en las centrales citrícolas (Palou, 2014).

## 1.7 Control actual de las enfermedades de postcosecha

Como ya se ha comentado, debido a su importancia como causa principal de pérdidas económicas, el control eficaz de las podredumbres verde y azul es el objetivo principal de los programas de gestión de los cítricos para el control de las enfermedades de postcosecha en todas las áreas de producción en zonas subtropicales. Típicamente, estas enfermedades de postcosecha han sido controladas en todo el mundo durante muchos años solamente mediante la aplicación de fungicidas químicos de postcosecha sintéticos convencionales después de la cosecha.

Estos fungicidas suelen tener un precio razonable, son fáciles de aplicar, y proporcionan un efecto curativo contra infecciones preexistentes o establecidas, un efecto preventivo contra nuevas infecciones potenciales que pueden ocurrir después de la aplicación del tratamiento en la central, y también una inhibición satisfactoria de la esporulación en la fruta en descomposición que rompe los ciclos de infección (Palou, 2014). Entre la fruta tratada con fungicidas convencionales, las pérdidas son típicamente 2-4 %, mientras que sin tratamiento postcosecha o refrigeración, las pérdidas pueden alcanzar del 15 a 30 % de la fruta cosechada (Tusset y col., 1987).

Los factores que afectan a la eficacia de los fungicidas y su tasa de disipación en la fruta están influenciados por la concentración de fungicida, modo de tratamiento (spray, ducha, o por inmersión), el tipo de mezcla (acuosa o mezclas a base de cera), especie, variedad, edad de la fruta, el tratamiento la duración, y la temperatura y pH de la mezcla fungicida. Éstos y otros aspectos relacionados con el uso de fungicidas convencionales y su sinergia con tratamientos de calor para el control de *Penicillium* en cítricos han sido revisados recientemente (Schirra y col., 2011).

### 1.7.1 Tratamientos químicos

En general, el control de hongos en postcosecha tiene los siguientes objetivos:

1. Reducir, lo máximo posible el nivel de inóculo fúngico situados en la superficie de los frutos.
2. Erradicar las infecciones ya producidas en campo (infecciones inactivas o latentes).
3. Evitar o suprimir la esporulación y con ello la posibilidad de la dispersión de esporas.

Los fungicidas actualmente aprobados para su uso en postcosecha de cítricos en la Unión Europea (UE), con los reglamentos correspondientes y sus correspondientes fechas de inclusión y vencimiento, se presentan en la Tabla 1.2.

**Tabla 1.2:** Reglamentos de la Comisión para la autorización de los fungicidas postcosecha de cítricos en la UE*Fuente: Adaptado de Palou (2014)*

<b>Fungicida</b>	<b>Directivas</b>	<b>Inclusión</b>	<b>Vencimiento</b>
<b>Incluye Anejo I Directiva 91/414/CEE del consejo</b>			
Imazalil	2010/57/UE	1/8/2011	31/7/2021
Fosetil-Al	2006/64/CE	1/5/2007	30/4/2017
Thiofanato metil	2005/53/CE	1/3/2006	28/2/2016
Miclobutanil	2011/2/UE	1/6/2011	31/5/2021
Orto-fenil fenol (y sales)	2009/160/CE 2010/81/UE	1/1/2010	31/12/2019
Pirimetanil	2006/74/CE	1/6/2007	31/5/2017
Tiabendazol	2010/77/UE	1/1/2002	31/12/2015
Propiconazol	2012/823/UE	1/6/2004	31/01/2017

Entre los fungicidas más utilizados en postcosecha de cítricos en España se encuentran el imazalil (IMZ), el tiabendazol (TBZ), el metiltiofanato; el ortofenil fenol (OPP), el ortofenilfenato sódico (SOPP), el procloraz, todos ellos con una eficacia media o alta contra *Penicillium* spp., y el fosetil-Al, eficaz contra *P. Phytophthora*. Entre los nuevos productos registrados recientemente destacan el pirimetanil, el miclobutanil y el propiconazol.

Se ha de ser especialmente cuidadosos en estas aplicaciones, ya que se producen próximas al consumo y no se dan los factores de disipación de los residuos en campo. Únicamente deberán utilizarse las formulaciones autorizadas en las dosis y condiciones de uso especificadas en las normativas de utilización.

Se indica a continuación en la Tabla 1.3 los límites máximos de residuos (LMR) de los fungicidas postcosecha de cítricos:

**Tabla 1.3:** LMR de fungicidas postcosecha de cítricos

Fuente: Conselleria d'Agricultura - GVA

<b>LÍMITES MÁXIMOS DE RESIDUOS DE FUNGICIDAS POST-COSECHA EN CÍTRICOS</b>					
PLAGUICIDA	UNIÓN EUROPEA		PAÍSES TERCEROS		
	ESTABLECIDO	TEMPORAL	SUIZA	USA	CANADA
fosetil-Al		75,0 (a)	75,0 (a)	5,0	9,0
imazalil	5,0		5,0	10,0	5,0
metil-tiofanato (1)	6,0		6,0	S	10,0 (2)
miclobutanil	3,0		3,0	S	S
ortofenilfenol/ ortofenilfenato sódico	5,0		5,0	10,0	10,0
pirimetanil	10,0		10,0	10 NM 11 L	10,0
procloraz	10,0		10,0	S	S
propiconazol	6,0		0,05*	8,0	8,0
tiabendazol	5,0		5,0	10,0	10,0

\*: Límite de determinación.  
(a) Suma de fosetil y ácido fosforoso junto con sus sales, expresado como fosetil.  
(1) Puede dar como metabolito carbendazima, que tiene un LMR de 0,2 en naranjas y 0,7 en mandarinas y limones en la UE 0,5 en Suiza en frutos cítricos no se tolera en USA en frutos cítricos.  
(2) En Canadá el LMR considera sumatorios los residuos de metil tiofanato y carbendazima.

Estos agroquímicos pueden ser aplicados de varias formas en distintas fases del manejo postcosecha de los frutos: en solución acuosa en dréncher o en la línea de confección (balsa o spray), en el lavado con detergente o mezclados con ceras en la línea de confección, o también en forma gaseosa como fumígenos en las cámaras frigoríficas o de desverdización.

En general, son más efectivos en agua que en ceras, por lo que para lograr los mismos resultados su concentración debe ser más alta en las ceras. Para el control de patógenos de herida, como *Penicillium* spp., es importante una aplicación rápida del fungicida (máximo 24 horas después de la cosecha) de forma que pueda actuar antes del establecimiento del patógeno. Para obtener un mayor espectro de acción en algunos casos se recomienda la combinación de varias materias activas, tanto en solución acuosa como en cera.

Existen protocolos distintos para el tratamiento fungicida en cada zona productora de cítricos en función de los principales patógenos causantes de daño y de condiciones particulares tanto en precosecha como en postcosecha.

## 1.8 Problemática de los tratamientos fungicidas de postcosecha. Tratamientos alternativos y estrategia CINCEP

Hoy en día existe un marcado cambio de tendencia en la comercialización de productos hortofrutícolas hacia los mercados de productos ecológicos u orgánicos en los que se exige, no solo la ausencia total de residuos químicos en el producto final sino también, la prohibición de su uso durante todo el ciclo de producción. Al mismo tiempo, los mercados ‘tradicionales’, especialmente supermercados o cadenas alimentarias están exigiendo el cumplimiento de criterios propios más restrictivos que los límites máximos de residuos (LMR) establecidos por la legislación. Se trata de limitaciones no reguladas que suponen una privatización de las políticas de seguridad alimentaria, debido a las especificaciones del cliente. Todo ello ha conducido a la búsqueda de alternativas a los agroquímicos para el control de las enfermedades de postcosecha.

La aplicación masiva y continuada durante años de materias activas como TBZ, IMZ, SOPP o distintas mezclas ha generado preocupación en la opinión pública por la generación de un exceso de residuos químicos, y también, problemas a la industria, como el tratamiento de caldos residuales o la proliferación de cepas patogénicas resistentes, especialmente del género *Penicillium*, que reduce o anula la eficacia de los tratamientos (Palou y col., 2008).

Se observa, por tanto, un marcado cambio de tendencia en la comercialización de cítricos con dos consecuencias importantes:

Por un lado, aumenta considerablemente el volumen de los mercados de producto ecológico, orgánico o ‘verde’.

Por otro lado, importantes mercados ‘tradicionales’, están exigiendo el cumplimiento de criterios propios más restrictivos que los LMR establecidos por la legislación (incluso 1/3 del LMR del imazalil), un producto fitosanitario registrado en postcosecha, sin tratamiento postcosecha, residuo cero, etc...

Otra cuestión importante que enfrentan actualmente los fungicidas convencionales o de síntesis es la duración y el coste del proceso de desarrollo y, en su caso, registro de nuevas materias activas.

En los últimos años, se han dedicado importantes esfuerzos a la evaluación de tratamientos antifúngicos de postcosecha no contaminantes alternativos a los fungicidas

químicos. Según su naturaleza, estos tratamientos pueden ser físicos, químicos o biológicos. Siendo no contaminantes, son también poco tóxicos por lo cual su efectividad y persistencia son en general variables y limitadas, cosa que dificulta su implementación comercial (Palou y col., 2008).

Debido a estas limitaciones, se ha estudiado también la combinación de distintos tratamientos alternativos, pero en general tampoco se igualan los resultados obtenidos con los fungicidas químicos convencionales. Por tanto, para un control adecuado de las enfermedades, la aplicación de tratamientos antifúngicos alternativos debe encuadrarse en una estrategia más amplia de control.

El cambio de paradigma, igual que en la producción integrada en campo, debe basarse en la estrategia denominada CINCEP (Control Integrado No Contaminante de Enfermedades de Postcosecha), basada en el conocimiento profundo de la epidemiología de los patógenos y de los factores que determinan su incidencia en precosecha, cosecha y postcosecha para incidir de forma global sobre el problema, actuando sobre cada uno de estos factores en el momento adecuado para minimizar las pérdidas económicas.

Todo ello conllevará también un cambio en la maquinaria de procesado de fruta y una racionalización en el uso de la actualmente existente en las centrales hortofrutícolas.

A continuación se indican los principales métodos alternativos de control de enfermedades de postcosecha según su naturaleza:

### 1.8.1 Métodos químicos de baja toxicidad

Los productos químicos alternativos a los fungicidas de síntesis convencionales deben ser sustancias, naturales o de síntesis, con efectos residuales sobre el medioambiente y toxicológicos sobre personas y animales, conocidos y muy bajos. Por este motivo se evalúan principalmente sustancias presentes de forma natural en plantas, animales o microorganismos o, en el caso de productos sintetizados artificialmente, aditivos alimentarios permitidos sin restricciones por la legislación.

Entre las sustancias naturales, destacan por su elevada actividad antifúngica los extractos de plantas superiores y los aceites esenciales (Palou, 2007). Otros compuestos naturales que presentan actividad antifúngica son: los compuestos aromáticos volátiles como el acetaldehído, el hexanal, o el benzaldehído, reguladores naturales del crecimiento como el ácido jasmónico o el metil jasmonato; el quitosano, los péptidos antifúngicos o las proteínas antimicrobianas biosintetizadas por el fruto en respuesta a situaciones de estrés.

Los aditivos alimentarios y algunas sustancias sintéticas catalogadas como GRAS suelen ser ácidos y sales orgánicas o inorgánicas con una acción contra los mi-

croorganismos bastante específica. Los que se han mostrado más efectivos contra las podredumbres verde y azul de los cítricos son el sorbato potásico, el benzoato sódico, el carbonato sódico y el bicarbonato sódico (Palou y col., 2008; Montesinos-Herrero y col., 2009). Estas sustancias pueden utilizarse en baños de 1-3 min en soluciones acuosas calientes (40-50°C) a concentraciones del 2-3 %.

Aunque su eficacia y persistencia no iguala a la de los fungicidas convencionales, estos productos químicos de baja toxicidad presentan interés comercial por su efectividad, fácil disponibilidad y aplicación, bajo precio y facilidad de combinación con otros métodos alternativos de control.

Actualmente el uso de tratamientos postcosecha con sales de fosfito para el control de los podridos por moho verde y azul tiene un gran interés entre los productores de cítricos. Trabajos realizados en California con fosfitos de potasio y calcio han revelado un control satisfactorio de los mismos en una gran variedad de especies y cultivares de cítricos y buenos efectos sinérgicos con el calor, fungicidas convencionales y sustancias GRAS (Palou, 2014).

Una amplia gama de sustancias con propiedades bioactivas y antifúngicas puede ser extraída de plantas o animales. Algunos presentan propiedades antifúngicas eficaces contra el moho verde y azul de los cítricos, y se clasifican en las siguientes categorías: volátiles y aceites esenciales, extractos de plantas, péptidos y proteínas, y quitosano y derivados (Palou y col., 2008).

Aunque una lista importante de aceites esenciales o de compuestos volátiles obtenidos de plantas han mostrado actividad antifúngica in vitro frente a *P. digitatum* o *P. italicum*, sólo unos pocos de estos compuestos mostraron actividad antifúngica en ensayos in vivo. Plaza y col. (2004b) probó 20 aceites esenciales in vitro y los aceites de tomillo y canela fueron seleccionados para ensayar in vivo el control de las podredumbres verde y azul. Sin embargo, las aplicaciones de estos aceites esenciales en cera o fase volátil fueron ineficaces y causaron daños a corteza del fruto. Del mismo modo, otros estudios encontraron que los compuestos naturales seleccionados in-vitro mostraron ineficacia y / o fitotoxicidad cuando se aplicaron in vivo.

Del mismo modo, los vapores de aceite de tomillo incorporados a emulsiones de polietileno redujeron significativamente los podridos de *Penicillium*. Otros extractos de plantas que mostraron una actividad significativa frente a *P. digitatum* y *P. italicum* fueron el ajo, la granada, el huamuchil, el Aloe vera, *Thymus* spp., *Eucalyptus* spp., *Cistus* spp., *Juglans* spp., *Myrtus* spp., *Accacia* spp., *Whitania* spp., *Lippia* spp. y muchos otros. Las barreras que frenan en general las aplicaciones acuosas de los aceites volátiles o extractos de plantas son los riesgos de fitotoxicidad y la producción de malos olores y/o sabores desagradables en la fruta tratada (Palou, 2014).

El recubrimiento del fruto es una práctica normal para reponer la cera natural eliminada durante el lavado con el fin de reducir la pérdida de peso de la fruta, la firmeza y mejorar la apariencia. Un campo de investigación muy activo hoy en día es la sustitución de las ceras comerciales de cítricos, que son a menudo un vehículo para la aplicación de fungicidas sintéticos como IMZ, TBZ o SOPP, por sustancias comestibles naturales, recubrimientos con propiedades antifúngicas. Ingredientes antifúngicos de tales recubrimientos pueden ser aditivos alimentarios, compuestos naturales o antagonistas microbianos (Valencia-Chamorro y col., 2009).

### 1.8.2 Métodos biológicos (microorganismos antagónicos)

Durante los últimos 25-30 años se han desarrollado en todo el mundo diversos programas y numerosos agentes de biocontrol han sido investigados frente a diversas enfermedades de postcosecha de (Wisniewski y Wilson, 1992; Wilson y col., 2011). Aunque en el plano experimental se han encontrado y patentado algunas levaduras, bacterias y también hongos filamentosos con capacidad antagónica contra podredumbres de postcosecha de los cítricos, los registros son complicados y el uso comercial es escaso. Normalmente los mejores resultados se obtienen en usos preventivos, ya que en general la actividad fungicida o curativa es limitada. Tienen un gran potencial como tratamientos complementarios a otros sistemas alternativos respetuosos con el medioambiente (Palou y col., 2008).

Actualmente existen en el mercado muy pocos biofungicidas para control de enfermedades de postcosecha, incluidas las de frutos cítricos. Ello se debe a que son pocos los países que, como EEUU, disponen de normativas específicas y simplificadas para el registro de este tipo de productos biológicos. En otros países, como los de la UE, el registro se ve obstaculizado por la exigencia de estudios toxicológicos largos y costosos equiparables a los exigidos para cualquier pesticida de síntesis. No obstante, es probable que más productos entren al mercado en los próximos años como resultado de los programas de investigación en control biológico que se vienen realizando en todo el mundo.

Normalmente, los antagonistas se aplican sobre los frutos cítricos en baño o dréncher como suspensiones acuosas de distintas concentraciones.

Tras el fracaso comercial de los primeros agentes biocontrol desarrollados se generó lo que se llama agentes de control biológico de segunda generación para explorar de nuevos caminos en el sentido de desarrollar sistemas de biocontrol capaces de superar las limitaciones existentes en los de primera generación, promoviendo una mayor y constante eficacia y posibilitando el control de infecciones ya previamente establecidas o latentes (Nunes, 2012).

### 1.8.3 Métodos físicos

Los tratamientos físicos son deseables porque no generan ningún tipo de residuo en los productos tratados ni en el ambiente. La conservación a temperaturas bajas (3-5°C para naranjas y mandarinas y 10-14°C para limas, limones y pomelos, siempre con un 90-98 % HR) es un sistema físico complementario a otros tratamientos antifúngicos. El almacenamiento en estas condiciones no ejerce por sí mismo una actividad fungicida pero sí una acción fungistática de inhibición o retraso del crecimiento de los patógenos. Por otro lado, ralentiza la actividad metabólica del fruto y retrasa su entrada en senescencia, ayudando así a mantener la resistencia natural del fruto a la infección (Palou, 2005b).

Los principales tratamientos físicos antifúngicos se basan en la aplicación de calor, ya sea mediante aire o agua caliente. Los tratamientos más convencionales de curado en cítricos consisten en la exposición de los frutos a temperaturas superiores a 30°C y HR superiores al 90 % durante 1-3 días. Se ha determinado que el curado a 40°C durante 18 horas permite la reducción total de la podredumbre verde y azul en naranjas ‘Valencia’ de diferentes orígenes y conservadas a 5°C durante 5 días seguidas de 20°C durante 7 días (Nunes, 2007). En otro estudio observaron que este curado no afectaba negativamente a la calidad de las naranjas. El curado es un tratamiento muy efectivo contra *Penicillium* spp., pero a escala comercial resulta poco práctico, caro y puede tener efectos adversos en la calidad.

La conservación frigorífica de frutos cítricos en atmósferas ozonizadas ha suscitado un gran interés comercial en los últimos años. Tras exhaustivas investigaciones realizadas en California como en España (Palou y col., 2007) puede concluirse que la aplicación de ozono gaseoso, aunque retrasa el desarrollo de las podredumbres, no reduce su incidencia, por lo que en ningún caso puede considerarse un sustituto de los fungicidas aplicados en dréncher o en la línea de confección. No obstante, la ozonización continua o intermitente del ambiente de las cámaras a concentraciones bajas no resulta fitotóxica e inhibe de forma importante el crecimiento aéreo de micelio y la esporulación de *Penicillium* spp., en frutos conservados en frío, así se puede reducir la carga de inóculo fúngico presente en los almacenes y evitar la proliferación de cepas patogénicas resistentes a los fungicidas. Sin embargo, este efecto es solamente transitorio y los patógenos reanudan su crecimiento aéreo y esporulan cuando el ozono deja de estar presente en el ambiente. Además, el gas no puede traspasar ni plásticos ni cartones por lo que este efecto únicamente se consigue cuando los frutos están almacenados en envases de gran superficie abierta. Debido a su elevado poder oxidante, el ozono puede resultar dañino para el ser humano, fitotóxico para los frutos y corrosivo para muchos materiales. Por ello es muy importante que, en el caso de que se instale un sistema de generación de ozono en una central cítrica, se controle en todo momento la concentración de gas generado y se adopten medidas de seguridad como alarmas y sistemas de paro y ventilación automatizados para garantizar la seguridad de los operarios y del producto.

### ***Las radiaciones ionizantes***

El uso de radiaciones ionizantes (longitud de onda inferior a 100 nm) ya sea a partir de fuentes radioactivas (rayos gamma) o físicas (rayos X, rayos beta o electrones acelerados), no se ha generalizado como método de control de enfermedades porque en las dosis no fitotóxicas (inferiores a 1 kGy) su poder de penetración en el fruto y su efectividad son limitadas y los beneficios no compensan el coste de las instalaciones especiales que se requieren (M. Alonso y Palou, 2007). Por contra, sí resultan adecuadas para la desinfección superficial y la desinsectación de cítricos y otros frutos sometidos a exigencias cuarentenarias, por lo que la legislación de EEUU ha autorizado su uso.

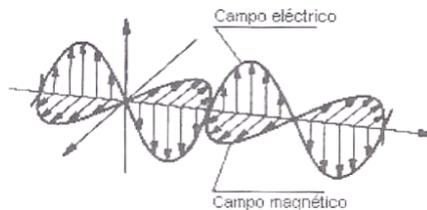
## Capítulo 2

# Radiación UV-C y agua caliente

### 2.1 Las radiaciones no ionizantes

#### 2.1.1 Las radiaciones no ionizantes. Bases de la radiación electromagnética

Radiación No Ionizante (RNI) es un término de amplio significado que se utiliza para denominar a todas las radiaciones electromagnéticas que al interactuar con la materia biológica no poseen energía suficiente para provocar una ionización. Esta engloba a parte de las radiaciones ultravioleta, visible, infrarrojo, microondas, radiofrecuencia y de frecuencia extremadamente baja. Para que la radiación pueda producir en su interacción con la materia la ionización de la misma se requiere una energía del orden de 12,4 eV. Una onda de radiación electromagnética se puede considerar formada por una componente eléctrica y otra magnética Figura 2.1



**Figura 2.1:** Onda de radiación

Los campos eléctricos y magnéticos de una radiación varían de forma sinusoidal. Esta variación sinusoidal viene caracterizada por su frecuencia,  $f(Hz)$  y su lon-

gitud de onda  $\lambda(m)$ . La velocidad de propagación ( $v$ ) depende del medio y sus constantes físicas: permitividad  $\epsilon(F/m)$  y permeabilidad  $\mu(H/M)$  Como se sabe la velocidad ( $v$ ), la frecuencia ( $f$ ) y la longitud de onda ( $\lambda$ ) están relacionadas por la ecuación:

$$\lambda = v/f$$

La energía asociada a una onda electromagnética viene dada por:

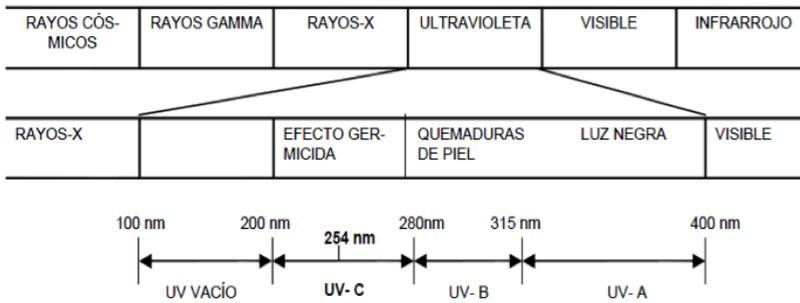
$$E = h * f$$

Donde:

$h$  = constante de Planck =  $6,63 * 10^{-34} J * s$

$f$  = frecuencia en  $Hz$

En la Figura 2.2, se tiene la clasificación del espectro electromagnético.



**Figura 2.2:** Clasificación del espectro electromagnético

Esta amplia gama de longitudes de onda se conoce como el Espectro Electromagnético (EM). Este se divide generalmente en siete regiones en orden decreciente de longitud de onda y aumento de la energía y frecuencia. Las denominaciones comunes son las ondas de radio, microondas, infrarrojo (IR), la luz visible, los rayos X, y rayos gamma rayos ultravioleta (UV). La radiación ultravioleta (UV) cae en el rango del espectro electromagnético entre la luz visible y rayos-X. Tiene frecuencias de aproximadamente  $8 * 10^{14} - 10^{16}$  ciclos por segundo, o hercios (Hz), y longitudes de onda de alrededor de 380 nanómetros ( $1,5 * 10^{-5}$ ) a aproximadamente 10 nm ( $4 * 10^{-7}$  pulgadas). De acuerdo con la Marina de los Estados Unidos 'guía de la radiación ultravioleta', UV se divide generalmente en tres sub-bandas: UV-A, o cerca de UV (315-400 nm); UV-B, o UV medio (280-315 nm); y

UV-C, o lejos UV (180-280 nm). Las radiaciones con longitudes de onda de 100 nm y 180 nm se denominan a veces como el vacío o ultravioleta extrema. Estas longitudes de onda son bloqueadas por aire, y sólo se propagan en el vacío.

La radiación UV que nos ocupa, es la de mayor poder energético, capaz de generar cambios en la configuración electrónica de la materia viva, lo que origina la producción de reacciones fotoquímicas.

Las radiaciones electromagnéticas pueden ser absorbidas, reflejadas o transmitidas por la materia. La frecuencia de la radiación junto con algunas características del medio material (conductividad, permitividad constante dieléctrica, tamaño, espesor) determinan los grados de absorción, reflexión y transmisión.

Es importante tener en cuenta que como consecuencia de la absorción de energía se produce una atenuación de la onda a medida que avanza por el medio material. Se denomina profundidad de penetración a la distancia en que las amplitudes de los campos eléctricos y magnéticos se reducen por el coeficiente  $e^{-1}$  (36,7%), o, la densidad de potencia se reduce por  $e^{-2}$  (13,5%), respecto a los valores de superficies (Knave, 2001).

En cuanto a la acción de la radiación sobre la materia, la energía de los fotones UV-C depende de la longitud de onda y es del orden correspondiente a las energías de ligazón existentes entre los átomos, llegando a excitar los niveles electrónicos. Su acción sobre la materia es de naturaleza térmica y química. Las radiaciones UV-C son, por tanto, muy útiles para activar reacciones fotoquímicas.

El poder de penetración es muy débil, la absorción se realiza en la superficie o en las capas poco profundas, lo que implica aplicaciones en productos de pequeño espesor o tratamientos superficiales (Valea y J. Alonso, 1998). Es de destacar la acción fotoquímica de los UV sobre el oxígeno del aire ( $O_2$ ) efecto que consigue su transformación en ozono ( $O_3$ ), utilizado en esterilización y acondicionamiento del aire y tratamiento de aguas (Adrados, 2009).

Con respecto a las magnitudes y unidades de medida en el (SI), las más importantes son la irradiancia y, la dosis. Se derivan del vatio y se expresan en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1:** Unidades de medida

Magnitud	Unidad
Flujo Radiante	Vatio( $W$ )
Irradiancia	Vatio por metro cuadrado ( $W/m^2$ )
Dosis	Julio por metro cuadrado ( $J/m^2$ )

La intensidad local de la radiación varía, entre otras cosas con:

- La distancia entre la lámpara y el punto considerado.
- La absorción de la camisa de cuarzo que envuelve a la lámpara (5 -7 %).
- El envejecimiento de la lámpara.
- La potencia instalada de las lámparas.

Las fuentes emisoras de la radiación UV-C disponen de reflectores cuya misión es aumentar la radiación sobre el producto a tratar. Las formas más habituales son las parabólicas y elípticas.

Los reflectores parabólicos son frecuentemente utilizados en procesos en los que las superficies a irradiar son estacionarias, porque producen un haz paralelo o divergente.

Para los procesos en los que la superficie a irradiar se mueve con velocidad uniforme bajo la fuente UV, se utiliza una lámpara lineal, situada en el foco de un reflector de sección transversal elíptica. La superficie a tratar se mueve a través del otro foco de la elipse con lo que queda expuesta a una estrecha franja de elevada irradiancia (Valea y J. Alonso, 1998). Algunas lámparas, mayores de 400W debido a su configuración, trabajan a temperaturas elevadas, con lo que precisan de ventilación forzada de aire.

En la Tabla 2.2, según otros autores, se presenta una clasificación de la longitud de onda de la radiación ultravioleta y sus efectos en los organismos.

**Tabla 2.2:** Clasificación de la longitud de onda de radiación UV y efectos en distintos organismos.

*Fuente: (Haro y Guerrero, 2013)*

Clasificación	Longitud de onda	Efectos en organismos
Larga	320-400nm	Cambios en la piel humana (bronceado)
Media	280-320nm	Quemaduras serias (cáncer)
Corta	200-280nm	Efecto germicida

En la Figura 2.3 se detalla el díptico acerca de la información que se debe de disponer en el centro de trabajo, y de los EPI,s.

### Vigilancia de la Salud

*Acuda a la Unidad de Vigilancia de la Salud del Servicio de Prevención, previa cita, para su valoración médica.*

Unidad de Vigilancia de la Salud 91 330 3431  
91 330 3602

	Legislación	Normas Técnicas
 <b>RADIACIONES NO IONIZANTES</b>	R.D. 31/1995	UNE-EN 50 489
	R.D. 1068/2001	UNE-EN 21 8032 IN: 2010
	R.D. 486/2010	UNE-EN 12 198
	R.D. 286/2009	
	Directiva 2004/40/CE	

## Radiaciones No Ionizantes

# Equipos de Radiaciones Ultravioleta

Elaborado por  
**Servicio de Prevención de Riesgos Laborales**  
Atención Especializada Área Centro



### Normas básicas de seguridad

Hospital Clínico San Carlos







## Resultados-3. DÍPTICOS

La Radiación No Ionizante (RNI) se encuentra tanto en fuentes naturales (luz solar), como artificiales (luz eléctrica, radio, láser, infrarrojo, ultravioleta.....) y carece de energía para ionizar.

*Desde el Servicio de Prevención y en colaboración con el Servicio de Física Médica se han elaborado unas normas básicas de seguridad en relación con la posible exposición ocupacional a RNI de los trabajadores de Atención Especializada Área Centro.*

### Radiaciones Ultravioleta (RUV)

Es una forma de radiación electromagnética con longitudes de onda mas cortas y fotones mas energéticos que los de la luz visible. Los trabajadores pueden verse expuestos RUV en diversos puestos de trabajo. Es invisible y solo se detecta por el resplandor de materiales que producen fluorescencia.

#### Aplicaciones

Son utilizadas en los campos de la Ciencia y la Medicina. Se aplican en tratamientos de algunas dolencias cutáneas. Las RUV pueden utilizarse solas o en combinación con agentes químicos fotosensibilizadores.

#### Clasificación

UVA, UVB Y UVC.

#### Medidas de control:

##### Trabajadores

1 La exposición laboral a RUV debe minimizarse, en la medida de lo posible:

- Aumentando la distancia a la fuente.
- Evitando la exposición directa.
- Utilizando EPIs con filtros UV:
  - pantalla facial
  - gafas

Estos equipos de protección individual contra quemaduras en piel y ojos deben utilizarse cuando la aplicación de una técnica requiera la retirada del filtro de protección del equipo.

2 Formación/ información a los trabajadores expuestos.

##### Equipos

La señalización de precaución solo será necesaria cuando exista riesgo de exposición. Cumplir con las recomendaciones suministradas por el fabricante (manual de instrucciones) sobre manejo y cuidado de los equipos.







Figura 2.3: Díptico

Fuente: (Bretones y col., 2012)

### 2.1.2 Aplicaciones de la radiación UV-C

La irradiación con UV-C tiene su máximo pico de emisión a 254 nm y se ha comprobado que es en esta longitud de onda donde presenta su mayor acción germicida, por lo que ha sido ampliamente estudiada en varios tejidos vegetales (Artés y Allende, 2005). En función de la intensidad y longitud de onda, la irradiación UV puede inducir un estrés biológico en plantas y activar algunos mecanismos de defensa de los tejidos vegetales, con la consecuente producción de fitoalexinas, (Mercier y col., 1993) la acumulación de estos compuestos podría estar acompañada por otros sistemas de defensa inducidos, tales como modificación de las paredes celulares, síntesis de enzimas de defensa e incluso la muerte celular (M. Rivera y col., 2007).

Según la Tabla 2.3 existe un efecto microbiano de la radiación UV-C. Ésta (Gardner y Shama, 2000) afecta el ADN de los microorganismos, causando mutaciones mediante la separación de la doble hélice, evitando de esta manera su reproducción (Gardner y Shama, 2000). Es así como esta tecnología no térmica puede ser aplicada para inactivar diversos tipos de microorganismos. La generación de radiación ultravioleta monocromática (254nm) es considerada como un medio físico de desinfección cuya aplicación en alimentos está aún siendo investigada.

#### *Desinfección de Agua para consumo humano*

La desinfección por luz ultravioleta (UV-C) se considera como un sistema de desinfección rentable y fácilmente implementable para el agua potable. El interés en el proceso de desinfección por la UV-C es creciente por parte de la industria embotelladora de agua. En sistemas de distribución de agua, la reducción de las demandas posteriores de cloro no son las esperadas después del tratamiento (Choi, 2010). Dos sistemas UV-C se aplican generalmente para el proceso de desinfección del agua potable en una planta piloto:

- Lámparas de radiación UV-C Monocromática de baja presión (en lo sucesivo UVC-BP) emite sola longitud de onda a 254 nm, que está cerca del espectro de máxima acción microbiana.
- Lámparas de radiación policromática UV-MP de media presión (en adelante UV-MP) emiten una amplia gama de longitudes de onda incluyendo UV-A, UV-B, UV-C y la luz visible. Especial UVC-BP emite dos longitudes de onda a 185 y 254 nm (en lo sucesivo UVC-BP para TOC) se aplica para eliminar TOC (Carbono Orgánico Total) para producir agua ultrapura.

Aunque estos sistemas UV-C son eficaces para desactivar la mayor parte de microorganismos a excepción de algunos virus, no se puede garantizar la seguridad biológica de agua del grifo porque el efecto de la irradiación UV-C no se puede

mantener a largo plazo (Choi, 2010). En la Tabla 2.3 se indican las características de las lámparas en una planta piloto.

**Tabla 2.3:** Clasificación de las lámparas en función de la longitud de onda de la radiación UV

*Fuente: (Haro y Guerrero, 2013)*

Sistema	Tipo de lámpara	Longitud onda emisión UV(nm)	Capacidad (m <sup>3</sup> /h)	Dosificación (mJ/cm <sup>2</sup> )
<b>L90-4</b>	90 W Presión	185, 254	180	40
<b>L90-15</b>	baja para TOC		50	150
<b>M1300</b>	1.3kW Presión media	185 ~ 400	650	40
<b>L85</b>	85W Presión baja	254	120	
<b>M350</b>	350W Presión media	200 ~ 400	260	

### *Desinfección de lixiviados agrícolas*

El uso de los efluentes de riego en cultivos hidropónicos puede representar un ahorro de hasta el 20% en agua y fertilizantes, además de evitar la contaminación del subsuelo. Hoy en día los dispositivos comerciales de radiación ultravioleta para el tratamiento del agua se utilizan para su desinfección. Los microorganismos son inactivados por la UV-C como resultado del daño fotoquímico a sus ácidos nucleicos, con valores máximos de absorción en longitudes de onda próximas a los 265nm (UV-C) (Adrados y col., 2005).

El empleo de lámparas de descarga de baja presión de mercurio con emisión fundamentalmente a una longitud de onda de 254nm son más efectivas que las de media presión. Estas primeras se muestran suficientes para la desinfección de lixiviados a partir de 75W, con tal de que la lámina de los mismos en la cubeta del reactor no sobrepase los 5mm. (Adrados y col., 2005).

### ***Métodos de eliminación de pesticidas***

Uno de los principales motivos por los que muchos pesticidas son persistentes en el medio ambiente es que son compuestos con anillos aromáticos, que tienen una absorción máxima entre 200 y 350nm. Si se observa el espectro de radiación solar a nivel del suelo por debajo de 295 nm., este es prácticamente nulo, de lo que se deduce que la radiación solar no tiene suficiente energía para descomponer estos compuestos.

Se tiene entonces dos posibilidades:

1. Utilización de fotosensibilizadores que aprovechan la radiación solar.
2. Empleo de fuentes artificiales de radiación ultravioleta para la descomposición de pesticidas. Esta técnica es especialmente recomendable cuando los caudales a tratar no son muy elevados.

En algunos casos, aunque se irradie con UV-C, la fotodegradación transcurre con una cinética muy lenta. Para acelerar el proceso, se pueden añadir oxidantes al medio de reacción, tales como ozono y peróxido de hidrógeno. Estos compuestos, aun añadidos en cantidades muy pequeñas hacen aumentar considerablemente la velocidad de reacción. Dentro de los tratamientos que emplean la radiación para obtener la degradación de pesticidas, tanto utilizando luz solar como lámparas UV-C; hay que citar también los que consisten en añadir al sistema un semiconductor como el  $\text{TiO}_2$ , o  $\text{ZnO}$ . En este caso, se logra la formación de oxígeno que actúa como oxidante (Chamorro y Esplugas, 1995; Adrados, 2009).

De todos los métodos de degradación de pesticidas debe elegirse el que mejores resultados proporcione, de modo que los productos finales sean más biodegradables y menos tóxicos que los de partida (Chamorro y Esplugas, 1995).

### ***Irradiación de alimentos***

Como el tratamiento con radiación UV-C tiene tantas variables es difícil establecer parámetros respecto a la intensidad del tratamiento, ya que cada alimento necesita una dosis específica de radiación.

Debido a ello, para un mismo alimento se pueden tener rangos de dosis muy diversos. En general y de manera no oficial, la mayoría de los investigadores consideran una dosis de radiación como baja cuando ésta es menor o igual a  $1 \text{ kJ/m}^2$  y es considerada como alta cuando la dosis es mayor o igual a  $15 \text{ kJ/m}^2$  (Haro y Guerrero, 2013).

### ***Efecto hórnico de la UV-C***

Se han propuesto varias definiciones para el término hormesis.

Según Calabrese y Baldwin (2002) hormesis es una respuesta adaptativa con características diferenciables por la relación dosis-respuesta, que es inducida por un proceso de acción directa o de sobre-estimulación a dosis bajas. La exposición de los tejidos a dosis bajas de irradiación UV puede inducir la producción de compuestos fungicidas como fitoalexinas, y retrasar procesos de maduración y senescencia. En el sector hortícola, esto permite reducir las pérdidas postcosecha ocasionadas por desórdenes fisiológicos, como daños por frío, susceptibilidad al ataque de fitopatógenos, daños mecánicos y pérdida de firmeza entre otros. (M. Rivera y col., 2007)

#### **2.1.3 Aplicaciones al tratamiento de cítricos**

Las radiaciones son tratamientos físicos consistentes en tratar los frutos cítricos con radiación de energía superior (longitud de onda inferior) a la de la luz visible.

La luz ultravioleta lejana (UV-C, longitud de onda de 100 a 280 nm) aplicada a dosis bajas (0,5 a 8,0 kJ/m<sup>2</sup>) puede reducir la incidencia de podredumbres, aunque la efectividad es limitada y existe el riesgo de que se produzcan fitotoxicidades en función de la dosis, el tipo de fruto y su estado de madurez (Droby y col., 1993; Palou, 2009). Los tratamientos que han probado los distintos equipos de investigadores incluyen la irradiación de la fruta a longitudes de onda ( $\lambda$ ) correspondientes a diferentes regiones del espectro electromagnético, es decir, la luz azul ( $390 < \lambda < 540$  nm), ultravioleta lejano luz (UV-C,  $100 < \lambda < 280$  nm) y las radiaciones ionizantes ( $\lambda < 100$  nm). Obviamente, las necesidades tecnológicas para la aplicación de estos tratamientos de irradiación difieren unos de otros, y también los necesarios para la aplicación de calor, en el caso de tratamientos combinados (Palou, 2014).

Como se ha comentado con anterioridad, el modo predominante de acción de la luz UV-C para el control de enfermedades de postcosecha es la inducción de respuestas beneficiosas en el fruto huésped gracias al fenómeno conocido como hormesis. La exposición a luz UV-C debe ser optimizada para cada tipo de fruta y caso de aplicación con el fin de maximizar la eficacia sin producción de daños en la corteza (Ben-Yehoshua, 2005a).

Para una implementación comercial factible, los dispositivos de iluminación deben integrarse en aplicadores de radiación UV-C en las líneas de envasado de cítricos, y con las medidas de seguridad apropiadas (Palou, 2014).

## 2.2 El agua caliente

La inmersión en agua caliente es un método físico para el control de enfermedades mucho más sencillo y práctico que puede dar buenos resultados, especialmente en combinación con otros tratamientos de distinta naturaleza. Por ejemplo, el calentamiento de soluciones acuosas de productos químicos antifúngicos aumenta significativamente su efectividad y permite disminuir sensiblemente las dosis de aplicación. Con agua sola normalmente se utilizan baños de 1-3 min a temperaturas de 45-50°C, pero hay que tener en cuenta que el margen existente entre las temperaturas efectivas y fitotóxicas es muy estrecho. En general, temperaturas superiores a 53°C resultan ser fitotóxicas (Rodov y col., 2000; Palou y col., 2001a; Ben-Yehoshua, 2005b).

El baño de agua caliente es una tecnología más fácil, más barata y más factible para la aplicación de calor que el curado, pero debido a sus limitaciones, actualmente sólo se aplica a nivel comercial como tratamientos aislados a fruta pequeña como kumquat, cuya cáscara también se come, o algunos cítricos en citricultura ecológica (Ben-Yehoshua, 2005b). Esto es debido a la falta de persistencia y actividad preventiva del tratamiento (Palou, 2009).

Otra razón importante es que la actividad curativa de agua caliente está muy influenciada por la especie de fruto y su condición. En general, es menor en la fruta que es más susceptible a la enfermedad; es más baja en las mandarinas que en las naranjas y disminuye con la madurez de la fruta durante la cosecha (Schirra y col., 1998). El uso de soluciones químicas antifúngicas calentadas es más común en las centrales de cítricos y se aplican generalmente a través de sistemas continuos en los que la fruta tratada se mueve lentamente de un extremo de la balsa de agua al otro. (Palou y col., 2002a).

Otras limitaciones a la utilización comercial de calor en las balsas de agua son los costos de la energía y la necesidad de tanques de gran volumen.

Otro sistema de aplicación de calor son las lavadoras equipadas con cepillos y agua caliente (*'hot water brushing'*, HWB) en las que las frutas pasan durante 10-30 s sobre cepillos en rotación y reciben una ducha de agua calentada a 55-65°C.

Esta tecnología fue desarrollada por primera vez en Israel, donde se encontró que el HWB reducía el podrido en un porcentaje entre el 45 % y 55 % en mandarinas cultivadas ecológicamente, que las naranjas y pomelos no presentaban lesiones de la corteza y que no había ninguna influencia adversa en la pérdida de peso de la fruta en los parámetros de calidad interna (Porat y col., 2000a).

También se observó que un modo de acción indirecto de la aplicación HWB en pomelos, fue la inducción de resistencia de la fruta contra *P. digitatum* (Porat y col., 2000b).

## 2.3 Tratamientos combinados

Una de las premisas para su aceptación general en el sector, es que la eficacia de los tratamientos alternativos tiene que ser comparable a la proporcionada por los tratamientos fungicidas convencionales. Desafortunadamente, la alternativa de realizar tratamientos independientes biológicos, físicos, químicos no puede actualmente alcanzar tales niveles de eficacia, precisamente debido a su naturaleza no-contaminante y a las limitaciones inherentes consiguientes para el control del podrido. Por lo tanto, el uso de distintos tratamientos combinados dentro de una estrategia deL Control Integrado No Contaminante de Enfermedades de Postcosecha (CINCEP) es defendido con el fin de ofrecer un nivel consistente de control de la enfermedad rentable.

En general, hay tres tipos de objetivos que persiguen la integración de dos o más tratamientos:

1. Tratamientos aditivos y/o sinérgicos a efectos de aumentar la eficacia y/o la persistencia de los tratamientos individuales.
2. Buscar en los dos tratamientos efectos complementarios para combinar las acciones por ejemplo preventiva y curativa.
3. La implementación comercial potencial de varios tratamientos eficaces que son demasiado poco prácticos, costosos o arriesgados como tratamientos individuales (Palou y col., 2008).

La mayor parte de las investigaciones realizadas por distintos equipos en todo el mundo se han centrado sobre la integración de los tratamientos alternativos contra el moho verde y azul de los cítricos e incluyen el calor o el biocontrol como importantes métodos de control en los tratamientos combinados de postcosecha.

La facilidad de utilización de la luz UV-C y el agua caliente como tratamientos combinados se debe sobre todo a su doble modo de acción.

Los efectos tanto del calor como de las irradiaciones sobre las enfermedades de postcosecha pueden ser directos o indirectos. Los primeros se refieren al efecto del tratamiento sobre el propio patógeno (esporas o micelio en crecimiento) y los segundos a la inducción en el fruto huésped de mecanismos de resistencia a la infección (Palou, 2009). Los tratamientos pueden aumentar los niveles de compuestos antifúngicos preformados presentes en la piel de los cítricos, como el citral, algunas flavanonas y polimetoxiflavonas, o proteínas antifúngicas como la quitinasa o la  $\beta$ -1,3-glucanasa. Estas sustancias están presentes de forma natural en frutos inmaduros que se muestran resistentes a enfermedades, pero sus niveles disminuyen considerablemente después de la cosecha y durante el almacenamiento.

Los tratamientos con luz UV-C y agua caliente también pueden inducir la biosíntesis en el flaveado de fitoalexinas, compuestos antifúngicos no constituyentes entre los que destacan la escoparona y la escopoletina (M. Alonso y Palou, 2007; Cayuela y Benitez, 2010). Por otro lado, el calor puede catalizar la biosíntesis en heridas de la piel de ligninas y materiales análogos que actúan como una barrera física a la penetración de las hifas del hongo. Además, el agua caliente, puede llegar a fundir las ceras epicuticulares del flaveado y taponar así micro-heridas y vías de entrada de los patógenos (Palou y Plaza, 2005).

Por otra parte distintos estudios indican que si la inoculación de las esporas de *Penicillium* se realiza a los 2 y 6 días tras el tratamiento con UV-C, se produce la máxima resistencia a la podredumbre verde y la máxima inducción de antifúngicos como la escoparona en cítricos después de estos períodos de tiempo, en función de los factores como el cultivar o el estado de madurez del fruto (Rodov y col., 1992; Droby y col., 1993; Kuniga y Matsumoto, 2006).

El interés por los métodos alternativos para el control de las podredumbres post-cosecha de los cultivos hortícolas ha ido creciendo de forma continua con el fin de minimizar los tratamientos de pre o postcosecha con agroquímicos (Ben-Yehoshua, 2003a).

La combinación de los tratamientos de agua caliente y UV-C puede aumentar la resistencia del fruto a *P. digitatum* a través del calor y mediante la irradiación utilizando los distintos prototipos diseñados, y conseguir una reducción de la incidencia del podrido.

También, la aplicación de calor reduce notablemente la incidencia del podrido y la sensibilidad de los cítricos y otras frutas al daño por frío (Schirra y D'hallewin, 1996). Varios métodos de aplicación de calor se han desarrollado con éxito. El curado de la fruta durante 72 h a 36°C, o un tiempo corto de aplicación de agua caliente dio resultados favorables en varios cultivares de cítricos. Los mejores resultados se obtienen por inmersión en agua caliente durante 2 minutos a 53°C, y el cepillado de la fruta en una lavadora de agua caliente durante 10-30 segundos a temperaturas entre 52-62°C.

Otro resultado importante del tratamiento térmico es la aplicación de calor a los frutos cítricos en la reducción de la dosis de imazalil (IMZ) de 1000 a 250 ppm. UV-C, a diferencia de los tratamientos térmicos, actúa por sí mismo como un inductor físico abiótico de los mecanismos de resistencia. La irradiación con UV-C inhibe la descomposición de los cítricos inoculados y provoca la síntesis de los fitoalexinas - escoparona y escopoletina. Sin embargo, este tratamiento también fue fitotóxico. Se encontraron dosis y condiciones de la irradiación que reducen los podridos en Kumquat, naranja de *cv 'Valencia-late'* y pomelo Star Ruby y sin fitotoxicidad para el fruto. Se necesitan estudios a gran escala con irradiación de UV-C de pomelos Star Ruby para determinar si la reducción del podrido sin

producir fitotoxicidad en el fruto, podría aplicarse comercialmente. Sin embargo, tanto el calor como la UV-C no pueden igualar la alta eficiencia de control de la caries alcanzado por los fungicidas postcosecha utilizados en la actualidad.

La combinación de tratamientos térmicos y de UV-C combinados reducen el podrido por *P. digitatum* y mejoran la calidad de los frutos de kumquat y naranja *cv 'Washington Navel'* y es mejor que cualquiera de los tratamientos realizado por separado. El tratamiento térmico seguido por irradiación de UV-C es la combinación más eficaz en el control de esta podredumbre postcosecha con inmersión en agua caliente o el curado de aire caliente para reducir el daño inducido por el tratamiento UV-C subsiguiente. Si el tratamiento UV-C precede al tratamiento térmico, se inhibe la obtención de fitoalexinas. La irradiación con UV-C se considera una potencial herramienta adicional en la estrategia de tratamientos combinados para el control del podrido de los cítricos, aunque la radiación UV-C por sí mismo no puede alcanzar la alta eficiencia de control del podrido de los fungicidas utilizados en la actualidad (Ben-Yehoshua y col., 2005).



# Capítulo 3

## Objetivos

El objetivo de la presente tesis es desarrollar un sistema nuevo de control no contaminante de enfermedades de postcosecha dentro de una gestión integrada CINCEP, mediante combinación de tratamientos físicos, con una estrategia de barreras para el control del podrido ocasionado principalmente por *P. digitatum* en cítricos.

### 3.1 Objetivos específicos

- Diseñar y evaluar varios prototipos de aplicador ultravioleta para el tratamiento postcosecha de cítricos, empleando lámparas de emisión de UV-C, entre otras de mercurio a baja presión.
- Establecer la actividad curativa y preventiva contra la podredumbre verde causada por el patógeno *P. digitatum* de exposiciones de frutos cítricos (mandarinas o naranjas) a iluminación UV-C sola o en combinación con otro tratamiento antifúngico de postcosecha como es el agua caliente, de los cultivos comerciales de mandarina y naranja más importantes de la Comunidad Valenciana.
- Probar distintas dosis de aplicación de UV-C en los prototipos para establecer el rango de dosis efectivas, y no fitotóxicas.
- Relacionar la capacidad de control de los tratamientos con los principales parámetros de calidad externa e interna del fruto, su grado de madurez y su susceptibilidad a *P. digitatum*.

- Determinar la efectividad de los tratamientos de UV-C solos o combinados en los cultivares comerciales de mandarina y naranja más importantes de la Comunidad Valenciana.

# Capítulo 4

## Material y métodos

### 4.1 Diseño y planificación de prototipos

En un primer lugar se diseñó el prototipo I (Figura 4.1) con base en aluminio y lámpara de 55W de vapor de mercurio de baja presión, que emite radiación de longitud de onda con un máximo de 253 nm (UV-C). El encendido es mediante reactancia electrónica de 58W. El eje longitudinal de la lámpara se sitúa en el foco del reflector cilindro-parabólico también en aluminio, paralelo al plano de la bandeja de tratamientos.

El campo de potencias para el prototipo I se determinó mediante sensor tipo fotodiodo calibrado como el de la Figura 4.2, y con una irradiancia que osciló entre 4 y 10 mW/cm<sup>2</sup>. El calibrado previo a cada ensayo se realizó también mediante este sensor. Para la medida de los tiempos de exposición a las distintas dosis se utilizó un cronómetro.

El prototipo II (Figura 4.3) está compuesto por lámpara de amalgama de indio de 180W (50W de UV-C a 254 nm), tubos de 110 cm de longitud, en funda de cuarzo puro, con reactancia electrónica de 200W/2 A, y proyector cilindro-parabólico en aluminio sin pulir. La cámara de tratamientos de 150 x 15 x 13 cm presenta una bandeja extraíble con celdillas para depositar las frutas, dando una irradiancia entre 25 mW/cm<sup>2</sup> y 30 mW/cm<sup>2</sup>. Este prototipo es más potente y permite acortar los tiempos de tratamiento.

La lámpara de este prototipo se calentó en exceso disminuyendo su potencia a partir de los 35°C, por lo que se refrigeró mediante corriente de aire longitudinal proporcionada por un ventilador de 35W (160 m<sup>3</sup>/h).

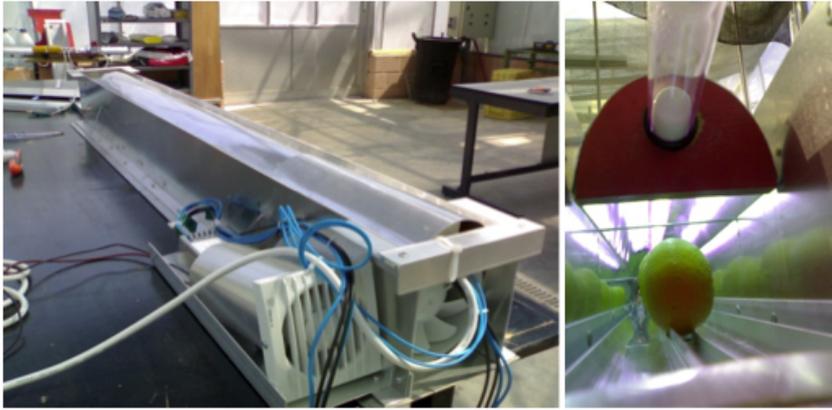


**Figura 4.1:** Interior prototipo I en funcionamiento.



**Figura 4.2:** Sensor UV-C y cronometro.

En la Figura 4.4 se observan los dos primeros prototipos construidos.



**Figura 4.3:** Reactor prototipo II de UV-C e interior



**Figura 4.4:** Izquierda prototipo I, en la derecha vista parcial del prototipo II.

El prototipo III (Figura 4.5) se diseñó para ser integrado en una futura línea piloto. Se realizó el tratamiento a las frutas de manera mecánica en la rulada de aluminio del aplicador. La fruta rueda y se desplaza arrastrada sobre los rodillos. Por tanto, la exposición de la superficie de la fruta es más homogénea a la luz UV-C. El aplicador de UV-C está montado sobre un transportador de rodillos de 3 metros de largo y 0,5 metros de ancho.

La iluminación es proporcionada por tres lámparas de vapor de mercurio de 55 W de baja presión, montadas en un marco de aluminio colocado 16 cm por encima de la rulada. Las lámparas son de las mismas características que la utilizadas para el prototipo I, y están 5 cm superpuestas entre sí para superar la pérdida de radiación en sus extremos.

La irradiancia media suministrada por las tres lámparas a 6 cm por encima de la rulada de transporte fue de  $5 \text{ mW/cm}^2$ , la cual se determinó desplazando el sensor por el interior del aplicador. Con el fin de regular el caudal y por tanto la dosis de exposición UV-C, la velocidad de la cinta transportadora se ajustó para proporcionar un tiempo de tratamiento de 20 segundos a 2 minutos, lo cual produjo una dosis de luz UV-C 1,25 hasta  $6,0 \text{ kJ/m}^2$ , respectivamente.

En los distintos prototipos se puede variar la dosis de UV-C aplicada, bien variando la altura de la lámpara, o bien el tiempo de exposición. En general, se optó por variar el tiempo de exposición para la aplicación de las distintas dosis seleccionadas en cada ensayo.



**Figura 4.5:** Imágenes del prototipo III que muestra el motor de arrastre de la rulada el variador de la velocidad y la posición de las lámparas.

Los diseños, montajes y tratamientos con los prototipos de UV-C se llevaron a cabo en las instalaciones anejas a los invernaderos del área de Electrotécnica del Departamento de Ingeniería Rural y Agroalimentaria (DIRA), en la Universidad Politécnica de Valencia(UPV).

## 4.2 Ensayos de capacidad de control de la podredumbre verde. Tratamientos combinados de UV-C y agua caliente

Para los tratamientos combinados se estudiaron las dos secuencias de combinación: agua caliente + tratamiento UV-C, y UV-C + agua caliente. Los tratamientos con agua caliente se realizaron en una balsa de acero inoxidable de 250l con dos resistencias de 4500W cada una, termostato y bomba de recirculación. La fruta se introdujo en cestas de rejilla de acero inoxidable, con capacidad entre 20 y 30 frutos, que se sumergieron en el baño el tiempo preestablecido según la dosis a aplicar (Figura 4.6).



**Figura 4.6:** Comprobación de la temperatura de agua caliente en la balsa de tratamiento mediante un termómetro digital con sonda metálica inoxidable tipo pt100 y los cestos utilizados para colocar los frutos.

Los tratamientos con agua caliente se realizaron en la planta piloto del Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), dependiente de la Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural.

Para la realización de los tratamientos combinados, después del tratamiento con agua caliente, las frutas fueron secadas con papel secante, y colocadas en cajas preparadas para su transporte al invernadero que posee la unidad de Electrotecnia, en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y del Medio Natural de la UPV (ETSIAMN), donde se encontraban los distintos prototipos para efectuar el correspondiente ensayo.

El tiempo transcurrido entre los dos tratamientos era de una hora.

Para el caso de recibir la fruta en primer lugar la dosis de radiación UV-C y posteriormente el tratamiento con agua caliente, se realizaba el proceso de manera viceversa al descrito con anterioridad.

Para la inoculación de las esporas del hongo se utilizaron unos punzones como los que aparecen en la Figura 4.9.

#### 4.2.1 Protocolo general

##### *Determinación de los parámetros de calidad*

Para relacionar la capacidad de control de los tratamientos con la calidad del fruto y su susceptibilidad a *P. digitatum*, antes de los ensayos de efectividad se determinaron los parámetros de calidad más significativos y medibles de las frutas de la muestras utilizadas y tratadas posteriormente con los prototipos UV-C correspondientes de los distintos ensayos.

Los atributos físicos de calidad que se determinaron en mandarinas/clementinas y naranjas de varios cultivares fueron los siguientes:

Se describen en primer lugar los significados de los parámetros medidos para su interpretación posterior, que permiten determinar la calidad y el estado de turgencia de los frutos (Wild, 1998), y los cambios en la firmeza de la corteza de las mandarinas y naranjas (Muramatsu y Takahara, 1999), y en general los parámetros de calidad externa en el estado de los frutos (Barreiro y Ruiz-Altisent, 1996).

##### **Color de la corteza**

El color de la corteza de los cítricos se midió con un colorímetro MINOLTA usando las coordenadas de color de HunterLab. La relación  $\mathbf{a/b}$  es un buen indicador de los cambios de color en los cítricos (Stewart y Wheaton, 1971), mientras otros autores (Jiménez-Cuesta y col., 1981), han propuesto un índice de color medido, siendo su valor  $I_c$ .

$$I_c = \frac{1000 * a}{L * b} \quad (4.1)$$

En la Ecuación 4.1, donde L mide la luminosidad: Se toman en el ecuador de la fruta lecturas de la coloración, obteniéndose los valores de L, a y b con el colorímetro y se calculó la relación  $a/b$  (Porras y col., 1996).

Este parámetro es el que interviene en el análisis posterior, existiendo una relación entre el valor de  $a/b$  del colorímetro y la carta de colores en la Tabla 4.1, que se presenta a continuación, siendo la equivalencia siguiente:

**Tabla 4.1:** Tabla colorimétrica de cítricos

*Fuente: (Lacer y Casas, 1989).*

Color	Núm	$a/b$
	0	-0,737
	1	-0,386
	2	-0,129
	3	-0,023
	4	0,067
	5	0,147
	6	0,159
	7	0,196
	8	0,240
	9	0,357
	10	0,442
	11	0,521
	12	0,669
	13	0,849

Se realizaron dos medidas en la zona ecuatorial de 30 frutos.

**Grosor del flavedo y grosor total de la corteza** (flavedo+albedo): Se determinaron los espesores en 30 frutos, en dos puntos opuestos de la zona ecuatorial con un pie de rey digital.

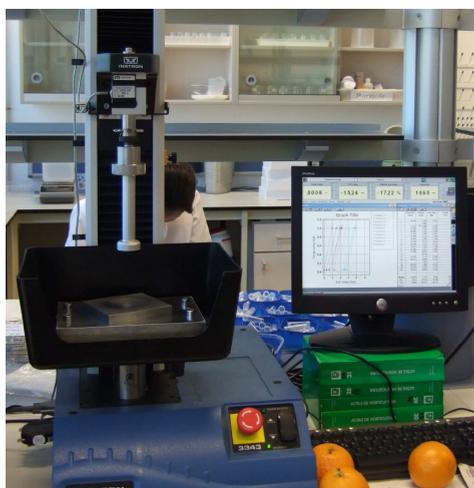
El grosor de la corteza es un factor que varía dependiendo del tipo de cítrico. La nutrición vegetal influye en el estado de la corteza. El nitrógeno y el potasio incrementan su grosor, y el fósforo lo reduce.

En el flavedo son importantes los pigmentos y los aceites esenciales. Los pigmentos dan su color amarillo o anaranjado a los frutos. Antes de madurar predomina el color verde del pigmento clorofila. A medida que la fruta va madurando aparecen los carotenoides que estaban enmascarados por la clorofila.

En el albedo se encuentran sustancias pécticas que tienen la propiedad de embeber grandes cantidades de agua (Agustí, 2000).

**Compresión:** Aporta un valor de firmeza de la corteza del fruto a través de una determinada fuerza aplicada (1Kgf), obteniéndose una determinada deformación, generalmente pequeña.

**Firmeza (Instron) compresión:** Es el porcentaje de deformación de la corteza al ser sometida a una carga de 10 N en su zona ecuatorial mediante el equipo Instron Universal Testing Machine Mod. 4301 (Figura 4.7). La compresión se determinó en 30 frutos. Es un ensayo de compresión cuasi-estática no destructiva de los frutos, basada en un contacto cilíndrico, que aporta un valor de indeformabilidad (N/mm).



**Figura 4.7:** Instron para realizar los ensayos de compresión y rotura.

**Rotura de la piel (Instron):** Es la resistencia de la corteza a la rotura. Es la fuerza necesaria para romper la corteza al ser sometida a cargas con una punta de 5 mm de diámetro en su zona ecuatorial mediante el equipo Instron Universal Testing Machine Mod. 4301 (Figura 4.7).

Es una medida de la resistencia ( $\text{N}/\text{cm}^2$ ) a la penetración para un determinado diámetro de vástago. Se determinó en un total de 30 frutos.

Con el instrumento Instron se midió la resistencia a la rotura de la corteza. La resistencia es la tensión máxima que el cítrico es capaz de soportar ( $\text{N}/\text{cm}^2$ ). La tensión de compresión, se calcula a partir de la carga máxima durante un ensayo de compresión llevado a cabo hasta la rotura.

Valores más altos indican un menor grado de madurez fisiológica del fruto.

**Turgencia**, es el estado de hidratación de la corteza del fruto que es establecido a través de la presión de turgencia ( $\text{Kgf}/\text{cm}^2$ ). La liberación del aceite esencial se realiza con un penetrómetro manual, y mide la resistencia a su liberación. Ésta se detecta gracias a la colocación de un papel de filtro entre la punta del penetrómetro y la corteza. Se determinó en dos puntos opuestos de la zona ecuatorial de la corteza un total de 30 frutos en cada uno de los ensayos. Se midió con un penetrómetro Fruit tester mod. UAT 04 (Figura 4.8).



**Figura 4.8:** Penetrómetro UAT-4.

### *Preparación del inóculo*

Para realizar la inoculación correctamente, se hizo primero en la fruta una marca con un rotulador que indicaba la zona del ecuador de la mandarina/naranja que se inocularía con el hongo, para ser posteriormente tratada correctamente con el prototipo. Por otro lado y para preparar la concentración deseada de  $10^5$  esporas/ml, se cogieron esporas del hongo, que se encontraban en una placa Petri, incubada en medio PDA durante 7-14 días con un pequeño punzón esterilizado con calor.

Estas esporas se depositaron en unos tubos de ensayo de agua con tween 80<sup>®</sup> para evitar la agregación de las mismas. Las esporas en solución se contaron con un hematocitrómetro, concretamente una cámara Thoma. A partir de la densidad obtenida en el recuento, se preparó una suspensión de la densidad deseada por dilución con agua estéril. En la Figura 4.9 se observan distintos punzones para la inoculación.



**Figura 4.9:** Punzones utilizados para la inoculación con *P. digitatum* en el punto de la zona ecuatorial.

### ***Exposición a luz UV-C. Actividad curativa/preventiva***

Se han diseñado dos tipos de ensayos para establecer la actividad curativa y preventiva contra la podredumbre verde de exposiciones de frutos cítricos (mandarinas o naranjas) a iluminación UV-C sola o en combinación con agua caliente:

Los ensayos curativos, en los que en primer lugar se inocula el hongo y con posterioridad se aplican las distintas técnicas de inactivación del mismo.

Y los ensayos preventivos, en los que el proceso es a la inversa. Primero se aplican las técnicas autoinductoras de sustancias protectoras y con posterioridad se inocula el hongo.

### **Acción curativa**

Los tratamientos con los prototipos UV-C se realizaron en la instalación aneja a los invernaderos del área de Electrotecnia de la ETSIAMN.

Los tratamientos con agua caliente, se realizaron en la planta piloto del Centro de Tecnología Postcosecha del IVIA. Los tratamientos se realizaron 24 h después de la inoculación fúngica, para que se pudiera producir la infección del fruto por parte del hongo.

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del Centro de Tecnología Postcosecha del IVIA.

La lectura del número de frutos podridos (% de incidencia) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) se realizó a los 4 y 7 días de los

tratamientos (5 y 8 días de la inoculación), y la lectura del número de frutos con daños aparentes en la corteza y esporulados a los 7 días de los tratamientos.

### **Acción preventiva**

Los tratamientos con los prototipos UV-C se realizaron en la instalación aneja a los invernaderos del área de Electrotecnia de la ETSIAMN.

Los tratamientos con agua caliente, se realizaron en la planta piloto del Centro de Tecnología Postcosecha del IVIA. Los tratamientos se realizaron 24 h antes de la inoculación fúngica, para que se pudiera producir la infección del fruto por parte del hongo.

La lectura del número de podridos (% de incidencia) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) se realizó a los 4 y 7 días de la inoculación y la lectura del número de frutos con daños aparentes en la corteza y esporulados a los 7 días.

### ***Tratamientos combinados***

La secuencia de combinación de los tratamientos que se realizaron fueron los siguientes:

1. CON: control inoculado y no tratado.
2. AG: agua caliente: baño de agua caliente a 50 °C, durante el tiempo de estudio.
3. UV: tratamiento con UV-C a la dosis de estudio en cada ensayo.
4. AG + UV: baño de agua caliente a 50 °C durante el tiempo de estudio, secado manual y tratamiento UV-C a la dosis de estudio en cada ensayo.
5. UV + AG: tratamiento UV-C a la dosis de estudio y baño de agua caliente a 50 °C a la dosis de estudio en cada ensayo.

### **Descripción de los resultados medibles**

Para cada uno de los ensayos se determinaron los parámetros que se recogen en la tabla (Tabla 4.2.)

**Tabla 4.2:** Parámetros medibles en cada uno de los ensayos.

<i>Parámetros medibles de forma objetiva.</i>	
Parámetro	Unidad de medida
Incidencia	Fruta podrida (%)
Esporulación	Fruta esporulada (%)
Severidad	Crecimiento del hongo sobre el fruto milímetros (mm)

Después del periodo de incubación, las heridas se examinaron y se registró la presencia o ausencia de podredumbres, se midieron los diámetros de las zonas afectadas, y se realizó la lectura del número de frutos con daños aparentes en la corteza y severidad a los 4 días y 7 días de los tratamientos.

### **Análisis estadístico**

En todos los ensayos, los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) empleando el programa Statgraphics Plus 4.1 (Manugistics Inc.). Los datos de incidencia de la enfermedad se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada del porcentaje de podrido para asegurar la homogeneidad de las varianzas, antes del ANOVA. Para el análisis de severidad solamente se tuvieron en cuenta los valores distintos de cero, es decir, se descartaron los valores correspondientes a frutos inoculados y no infectados.

El nivel de significación se ha tomado para  $P \leq 0,05$ . Se ha aplicado el test de Fisher de mínima diferencia significativa (LSD) para establecer diferencias entre los valores medios. Los valores mostrados son los datos no transformados.

#### **4.2.2 Resumen de los ensayos realizados**

En los ensayos realizados se ha determinado la efectividad de los tratamientos de UV-C solos o combinados con agua caliente en varios cultivares de naranja y mandarina, junto a la determinación de varios parámetros de calidad para buscar correlaciones con los tratamientos realizados en los distintos prototipos, buscando en primer lugar efectos curativos y posteriormente preventivos.

Todos los ensayos se describen con más detalle en la Subsección 4.2.3.

En la Tabla 4.3 se indican los ensayos realizados en las distintas campañas.

**Tabla 4.3:** Ensayos ILUV realizados entre las campañas de recolección 2008 y 2011.

ENSAYO	VARIEDAD	RECOLECCIÓN	CURATIVO		COMBINADOS	BAÑO		PROTOTIPO UV-C	DOSIS kJ/m <sup>2</sup>	C. ESPORAS esporas/ml.	CALIDAD
			DIAS / HORAS	PREVENTIVO DIAS / HORAS		Temp	Tiempo				
ILUV 1	ORTANIQUE	TEMPRANA	/24		SI	50°C	1min.	II	12	10 <sup>^5</sup>	SI
ILUV 2	ORTANIQUE	TARDIA	/24		SI	50°C	2min	II	24	10 <sup>^</sup>	SI
ILUV 3	VALENCIA-LATE	TEMPRANA	/24		SI	50°C	2min.	II	24	10 <sup>^5</sup>	SI
ILUV 4	VALENCIA-LATE	TARDIA	/24		SI	50°C	2min.	II	12	10 <sup>^5</sup>	SI
ILUV 5	CLEMENULES	TEMPRANA	1/	2/	NO			II	VARIAS	10 <sup>^5</sup>	NO
ILUV 6A	ORTANIQUE	TEMPRANA		2 y 6/	NO			I	5 -10	10 <sup>^5</sup>	NO
ILUV 6B	ORTANIQUE	TARDIA		2 y 6/	NO			I	5 -10	10 <sup>^5</sup>	NO
ILUV 7	ORTANIQUE	TARDIA		2/	SI	50°C	1min.	I	5	10 <sup>^4</sup>	SI
ILUV 8	VALENCIA-LATE	TEMPRANA		2/	NO					10 <sup>^5</sup>	NO
ILUV 9	VALENCIA-LATE	TEMPRANA		2/	SI	50°C	1min.	I	5	10 <sup>^5</sup>	SI
ILUV 10	NAVEL LANE-LATE	TARDIA		2 y 6/	NO			III	5	10 <sup>^3</sup>	NO
ILUV 11	ORTANIQUE	TEMPRANA		4 y 6/	NO			III	5	10 <sup>^3</sup>	NO
ILUV 12	ORTANIQUE	TARDIA		6/	NO			III	5	10 <sup>^4</sup>	NO
ILUV 13	ORTANIQUE	TARDIA		6/	NO			III	5	10 <sup>^4</sup>	NO
ILUV14	VALENCIA-LATE	TEMPRANA		6/	SI	50°C	2min.	III	2,5 - 5	10 <sup>^4</sup>	NO
ILUV15	VALENCIA-LATE	TARDIA		6/	SI	50°C	2min.	III	2,5 - 5	5 x 10 <sup>^4</sup>	NO
ILUV16	CLEMENULES	DESVERDIZADO			NO			III	2,5 - 5	NO	SI
	NAVEL LANE-LATE	DESVERDIZADO			NO			III	2,5 - 5	NO	SI

4.2 Ensayos de capacidad de control de la podredumbre verde

### 4.2.3 Ensayos específicos

#### ILUV

Los trabajos se realizaron durante las campañas de recolección de fruta, entre los años 2009 y 2011. Los ensayos realizados se denominaron con el término ILUV, nombrándose cada uno de ellos mediante un número identificativo: ILUV-1, ILUV-2, etc.

En ellos se ha determinado la efectividad de los tratamientos de UV-C solos o combinados con agua caliente en los cultivares de mandarina y naranja más importantes en la Comunidad Valenciana. En la primera y segunda campañas además se han determinado los parámetros de calidad para relacionar la capacidad de control de los tratamientos realizados con estos parámetros, y su susceptibilidad a *P. digitatum*. En total se han realizado 16 ensayos ILUV, en las distintas variedades de cítricos, y en algunos casos en dos estadios distintos para la misma variedad: temprano y tardío.

#### *Campaña 2008-2009*

##### ILUV-1

En este ensayo se evaluó el efecto curativo del tratamiento UV-C, y se utilizó el prototipo II, para reducir el tiempo de exposición de los frutos a la irradiación, sólo y en la combinación de secuencias con agua caliente.

#### **Frutos y procedimiento**

Se determinaron previamente los parámetros de calidad:

- Color corteza.
- Firmeza (Instron).
- Rotura piel (Instron).
- Liberación aceite esencial (penetrómetro).
- Grosor corteza y flavedo.

Mandarinas *cv 'Ortanique'* de recolección temprana. Unidad muestral de 4x10 (4 repeticiones de 10 frutos), 40 frutos por tratamiento, 5 tratamientos, total inoculado: 200 frutos.

Los tratamientos se realizaron 24 h después de la inoculación fúngica. Los tratamientos de agua se realizaron en baño de agua caliente en la planta piloto del IVIA, y los tratamientos UV-C se realizaron en la ETSIAMN.

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

La lectura del número de frutos podridos (incidencia%) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) se realizó a los 4 y 7 días de los tratamientos (5 y 8 días de la inoculación). También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 7 días.

La lectura del número de frutos con daños aparentes en la corteza y la severidad del daño se realizó a los 4 días de los tratamientos.

### **Tratamientos**

1. T<sub>1</sub>: control inoculado y no tratado.
2. T<sub>2</sub>: agua caliente: 50°C, 1 min.
3. T<sub>3</sub>: irradiación con UV-C: dosis 12 kJ/m<sup>2</sup> (exposición de 1 min), con el prototipo II dando una irradiancia en el plano de aplicación de 20mW/cm<sup>2</sup>.
4. T<sub>4</sub>: agua caliente: 50°C, 1 min + secado manual (papel) + dosis UV-C de 12 kJ/m<sup>2</sup>.
5. T<sub>5</sub>: dosis UV-C de 12 kJ/m<sup>2</sup> + agua caliente a 50°C, 1 min.

### ILUV-2

En este ensayo, se evaluó el efecto curativo del tratamiento UV-C, y se utilizó el prototipo II, para reducir el tiempo de exposición de los frutos a la irradiación, sólo y en la combinación de secuencias con agua caliente.

### **Frutos y procedimiento**

Se determinaron previamente los parámetros de calidad:

- Color corteza.
- Firmeza (Instron).
- Rotura piel (Instron).
- Liberación aceite esencial (penetrómetro).
- Grosor corteza y flavedo.

Mandarinas *cv 'Ortanique'* de recolección más tardía. Unidad muestral de 4x10 (4 repeticiones de 10 frutos), 40 frutos por tratamiento, 5 tratamientos, total inoculado: 200 frutos.

Los tratamientos se realizaron 24 h después de la inoculación fúngica. Los tratamientos de agua se realizaron en baño de agua caliente en la planta piloto del IVIA, y los tratamientos UV-C se realizaron en la ETSIAMN.

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90% HR de la planta piloto del IVIA.

La lectura del número de frutos podridos (incidencia%) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) se realizó a los 4 y 7 días de los tratamientos (5 y 8 días de la inoculación). También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 7 días.

La lectura del número de frutos con daños aparentes en la corteza y la severidad del daño se realizó a los 4 días de los tratamientos.

### **Tratamientos**

1. T<sub>1</sub>: control inoculado y no tratado.
2. T<sub>2</sub>: agua caliente: 50°C, 2 min.
3. T<sub>3</sub>: irradiación con UV-C: dosis 24 kJ/m<sup>2</sup> (exposición de 2 min), con el prototipo II dando una irradiancia en el plano de aplicación de 20mW/cm<sup>2</sup>.
4. T<sub>4</sub>: agua caliente: 50°C, 2 min + secado manual (papel) + dosis UV-C de 24 kJ/m<sup>2</sup>.
5. T<sub>5</sub>: dosis UV-C de 24 kJ/m<sup>2</sup> + agua caliente a 50°C, 2 min.

### ILUV-3

En este ensayo se evaluó el efecto curativo del tratamiento UV-C, y se utilizó el prototipo II, para reducir el tiempo de exposición de los frutos a la irradiación, sólo y en la combinación de secuencias con agua caliente.

### **Frutos y procedimiento**

Se determinaron previamente los parámetros de calidad:

- Color corteza.
- Firmeza (Instron).
- Rotura piel (Instron).
- Liberación aceite esencial (penetrómetro).
- Grosor corteza y flavedo.

Mandarinas *cv* 'Valencia-late' de recolección temprana. Unidad muestral de 4x10 (4 repeticiones de 10 frutos), 40 frutos por tratamiento, 5 tratamientos, total inoculado: 200 frutos.

Los tratamientos se realizaron 24 h después de la inoculación fúngica. Los tratamientos de agua se realizaron en baño de agua caliente en la planta piloto del IVIA, y los tratamientos UV-C se realizaron en la ETSIAMN.

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

La lectura del número de frutos podridos (incidencia%) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) se realizó a los 4 y 7 días de los tratamientos (5 y 8 días de la inoculación). También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 7 días del tratamiento.

La lectura del número de frutos con daños aparentes en la corteza y la severidad del daño se realizó a los 4 días de los tratamientos.

### **Tratamientos**

1. T<sub>1</sub>: control inoculado y no tratado.
2. T<sub>2</sub>: agua caliente: 50°C, 2 min.
3. T<sub>3</sub>: irradiación con UV-C: dosis 24 kJ/m<sup>2</sup> (exposición de 2 min), con el prototipo II dando una irradiancia en el plano de aplicación de 20mW/cm<sup>2</sup>.
4. T<sub>4</sub>: agua caliente: 50°C, 2 min + secado manual (papel) + dosis UV-C de 24 kJ/m<sup>2</sup>.
5. T<sub>5</sub>: dosis UV-C de 24 kJ/m<sup>2</sup> + agua caliente a 50°C, 2 min.

### ILUV-4

En este ensayo se evaluó el efecto curativo del tratamiento UV-C, y se utilizó el prototipo II, para reducir el tiempo de exposición de los frutos a la irradiación, sólo y en la combinación de secuencias con agua caliente.

### **Frutos y procedimiento**

Se determinaron previamente los parámetros de calidad:

- Color corteza.
- Firmeza (Instron).
- Rotura piel (Instron).

- Liberación aceite esencial (penetrómetro).
- Grosor corteza y flavedo.

Mandarinas *cv* 'Valencia-late' de recolección tardía. Unidad muestral de 4x10 (4 repeticiones de 10 frutos), 40 frutos por tratamiento, 5 tratamientos, total inoculado: 200 frutos.

Los tratamientos se realizaron 24 h después de la inoculación fúngica. Los tratamientos de agua se realizaron en baño de agua caliente en la planta piloto del IVIA, y los tratamientos UV-C se realizaron en la ETSIAMN.

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

La lectura del número de frutos podridos (incidencia%) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) se realizó a los 4 y 7 días de los tratamientos (5 y 8 días de la inoculación). También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 7 días del tratamiento.

La lectura del número de frutos con daños aparentes en la corteza y la severidad del daño se realizó a los 4 días de los tratamientos.

### **Tratamientos**

1. T<sub>1</sub>: control inoculado y no tratado.
2. T<sub>2</sub>: agua caliente: 50°C, 2 min.
3. T<sub>3</sub>: irradiación con UV-C: dosis 12 kJ/m<sup>2</sup> (exposición de 1 min), con el prototipo II dando una irradiancia en el plano de aplicación de 20mW/cm<sup>2</sup>.
4. T<sub>4</sub>: agua caliente: 50°C, 2 min + secado manual (papel) + dosis UV-C de 12 kJ/m<sup>2</sup>.
5. T<sub>5</sub>: dosis UV-C de 12 kJ/m<sup>2</sup> + agua caliente a 50°C, 2 min.

En la fotografía se observa el momento de la inoculación en naranjas Valencia-late, como se indica en la Figura 4.10.



**Figura 4.10:** Preparación de la inoculación en el ensayo de Valencia-late.

### *Campaña 2009-2010*

#### ILUV-5

En este ensayo se determinaron las dosis de radiación UV-C más adecuadas, tanto desde el punto de vista curativo como preventivo. De los resultados anteriores se observó que las dosis utilizadas en los ensayos ILUV-1 a ILUV-4 fueron excesivas ya que la severidad en el tratamiento UV-C fue mayor que la de los controles.

#### **Frutos y procedimiento**

Clementinas *cv* 'Clemenules' de recolección temprana, fueron inoculadas con *P. digitatum* a  $10^5$  esporas/ml en un punto de la zona ecuatorial. Se realizaron dos inoculaciones en distintos frutos para ver por una parte, el efecto curativo (inoculación 24 h antes de la exposición a UV-C), y el efecto preventivo con inoculación dos días después de la exposición a UV-C.

Unidad muestral  $4 \times 10$  (4 repeticiones de 10 frutos por tratamiento), para ver los efectos preventivos y curativos, respectivamente, y se realizaron 7 tratamientos a las distintas dosis UV-C, una dosis a cada unidad muestral.

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a  $20^\circ\text{C}$ . y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA. Se realizaron las lecturas del número de frutos podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 4 y 7 días de la inoculación correspondiente. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 4 y 7 días.

#### **Tratamientos preventivos y curativos**

Se realizaron 7 dosis de aplicación y 2 inoculaciones en las distintas unidades muestrales equivalentes a 7 tratamientos preventivos y a 7 curativos con las siguientes dosis aplicadas UV-C  $T_1$  de  $0 \text{ kJ/m}^2$  (Con), 1,3,5,10,15 y  $T_7$  de  $20 \text{ kJ/m}^2$  respectivamente con el prototipo II.

## ILUV-6

En función de los resultados obtenidos en el ensayo anterior se optó por profundizar en la evaluación de los tratamientos preventivos.

En este ensayo se determinó el efecto preventivo contra *P. digitatum* de las dosis de radiación UV-C seleccionadas en ILUV-5 en función del tiempo entre tratamiento e infección y de la época de recolección de los frutos.

Para ello el ensayo se dividió en 2 partes: A= Mandarinas Ortanique de recolección temprana y B= Mandarinas Ortanique de recolección tardía.

### ILUV-6A

Mandarinas *cv* 'Ortanique' recolectadas a principios de campaña se inocularon con *P. digitatum* a  $10^5$  esporas/ml en un punto de la zona ecuatorial. Los tratamientos UV-C se realizaron con el prototipo I en la ETSIAMN, véase Figura 4.1 que nos proporciona una irradiancia menor que el prototipo II.

La inoculación en los frutos para ver el efecto preventivo se realizó a dos tiempos distintos: 2 y 6 días después de la exposición a UV-C. Esto se hizo para ver el efecto a los 2 días después del tratamiento UV-C, que es cuando se produce la máxima resistencia a *P. digitatum* (Rodov y col., 1992; Droby y col., 1993), y a los 6 días, cuando se produce la máxima acumulación de escoparona (Kuniga y col., 2006).

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA. Se realizaron las lecturas del número de frutos podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 3 y 7 días de la inoculación correspondiente. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 7 días.

### **Tratamientos**

Las dosis de irradiación con el prototipo I fueron de  $5\text{kJ/m}^2 D_5$  ( 1 min exposición) y  $10\text{kJ/m}^2 D_{10}$  (2 min de exposición)

1. T<sub>1</sub>. CON: control no tratado e inoculación a los 2 días.
2. T<sub>1</sub>. D<sub>5</sub>: irradiación 1 min e inoculación a los 2 días del tratamiento UV-C.
3. T<sub>1</sub> D<sub>10</sub>: irradiación de 2 min e inoculación a los 2 días del tratamiento UV-C.
4. T<sub>2</sub>. CON: control no tratado e inoculación a los 6 días.
5. T<sub>2</sub>. D<sub>5</sub>: irradiación 1 min e inoculación a los 6 días del tratamiento UV-C.

6. T<sub>2</sub>. D<sub>10</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 6 días del tratamiento UV-C.

### ILUV-6B

Mandarinas *cv 'Ortanique'* recolectadas a final de campaña, se inocularon con *P. digitatum* a 10<sup>5</sup> esporas/ml en un punto de la zona ecuatorial. Los tratamientos UV-C se realizaron con el prototipo I en la ETSIAMN, véase Figura 4.1 que nos proporcionó una irradiancia menor que el prototipo II.

La inoculación en los frutos para ver el efecto preventivo se realizó a dos tiempos distintos: 2 y 6 días después de la exposición a UV-C. Esto se hizo para ver el efecto a los 2 días después del tratamiento UV-C, que es cuando se produce la máxima resistencia a *P. digitatum* (Rodov y col., 1992; Droby y col., 1993), y a los 6 días, cuando se produce la máxima acumulación de escoparona (Kuniga y col., 2006).

### **Tratamientos**

Las dosis de irradiación con el prototipo I fueron de 5kJ/m<sup>2</sup> D<sub>5</sub> (1 min exposición) y 10kJ/m<sup>2</sup> D<sub>10</sub> (2 min de exposición)

1. T<sub>1</sub>. CON: control no tratado e inoculación a los 2 días.
2. T<sub>1</sub>. D<sub>5</sub>: irradiación 1 min e inoculación a los 2 días del tratamiento UV-C.
3. T<sub>1</sub> D<sub>10</sub>: irradiación de 2 min e inoculación a los 2 días del tratamiento UV-C.
4. T<sub>2</sub>. CON: control no tratado e inoculación a los 6 días.
5. T<sub>2</sub>. D<sub>5</sub>: irradiación 1 min e inoculación a los 6 días del tratamiento UV-C.
6. T<sub>2</sub>. D<sub>10</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 6 días del tratamiento UV-C.

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C. y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA. Se realizaron las lecturas del número de frutos podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 3 y 7 días de la inoculación correspondiente. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 7 días.

## ILUV-7

En este ensayo se determinó el efecto preventivo contra *P. digitatum* de las dosis de irradiación seleccionadas en el ensayo anterior ILUV-6 de 5kJ/m<sup>2</sup> y con la secuencia de combinación de agua caliente más irradiación UV-C.

### **Frutos y procedimiento**

Previamente se realizó la determinación de los parámetros de calidad análogos a ensayos anteriores.

En función de los resultados que se obtuvieron en los ensayos ILUV 1-6, se seleccionaron las condiciones de ILUV-7. Se disminuyó la concentración de inóculo a 10<sup>4</sup> esporas/ml, y de todas las secuencias de combinación de tratamientos, las que presentaban resultados satisfactorios, era la combinación AG+UV-C, a la dosis de 5kJ/m<sup>2</sup>.

Mandarinas *cv 'Ortanique'* recolectadas a finales de campaña 24/03/2010 se inocularon con *P. digitatum* a 10<sup>4</sup> esporas/ml en un punto de la zona ecuatorial. Los tratamientos UV-C se realizaron con el prototipo I en la ETSIAMN.

Los tratamientos se realizaron 48 h antes de la inoculación fúngica. Después de los tratamientos las frutas se introdujeron en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

La inoculación con *P. digitatum* se realizó a 10<sup>4</sup> esporas/ml en un punto de la zona ecuatorial previamente marcado.

Después de la inoculación la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y a 80-90 % de HR de la planta piloto del IVIA, y se realizó la lectura del número de frutos podridos (incidencia %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 3 y 7 días de la inoculación. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 7 días.

### **Tratamientos**

Los tratamientos efectuados fueron los siguientes:

1. CON: control inoculado y no tratado.
2. UV: irradiación con UV-C: dosis 5 kJ/m<sup>2</sup> (exposición de 1 min).
3. AG: agua caliente: 50°C, 1 min.
4. AG + UV: agua caliente: 50°C, 1 min + secado manual + UV-C 5 kJ/m<sup>2</sup>.

## ILUV-8

### **Frutos y procedimiento**

Naranjas *cv.* 'Valencia-late' recolectadas a principios de campaña (fecha recolección = 03/05/10) fueron inoculadas con *Penicillium digitatum* a  $10^5$  esporas/ml en un punto de la zona ecuatorial.

Los tratamientos UV-C se realizaron en la ETSIAMN con el prototipo I.

La inoculación de las frutas para ver el efecto preventivo, se realizó 2 días después de la exposición a UV-C, que es cuando se produce la máxima resistencia del fruto (Ben-Yehoshua y col., 1992; Droby y col., 1993).

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA. Se realizó la lectura del número de frutos podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 3 y 7 días de la inoculación. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 7 días.

### **Tratamientos**

Los tratamientos efectuados fueron los siguientes:

Control (no irradiado) y 2 dosis de irradiación UV-C: 5 (1 min exposición, D<sub>5</sub>) y D<sub>10</sub> kJ/m<sup>2</sup> (2 min, D<sub>10</sub>) respectivamente.

1. CON: control no tratado e inoculación a los 2 días.
2. D<sub>5</sub>: irradiación 1 min e inoculación a los 2 días.
3. D<sub>10</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 2 días.

## ILUV-9

Se continuó con la secuencia de combinación agua caliente e irradiación UV-C pero en este caso se evaluó el efecto preventivo. En función de los resultados de los ensayos anteriores ILUV 1-6, se seleccionó la secuencia de combinación AG+UV a la dosis de irradiación UV-C de 5 kJ/m<sup>2</sup>.

### **Frutos y procedimiento**

Naranjas *cv.* 'Valencia-late' recolectadas a principios de campaña (fecha recolección = 05/05/2010). Previamente a los tratamientos, se realizó la determinación de los parámetros de calidad análogos a ensayos anteriores.

Los tratamientos se realizaron 48 h antes de la inoculación fúngica. Los tratamientos de agua se realizaron en baño de agua caliente en la planta piloto del IVIA y

los tratamientos UV-C se realizaron en la ETSIAMN. Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90% HR de la planta piloto del IVIA durante 48 h.

La naranja se inoculó con *P. digitatum* a  $10^5$  esporas/ml en un punto de la zona ecuatorial.

Después de la inoculación la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90% HR de la planta piloto del IVIA. Se realizó la lectura del número de frutos podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 3 y 7 días de la inoculación. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 7 días.

### Tratamientos

1. CON: control inoculado y no tratado.
2. UV: irradiación con UV-C: dosis  $5 \text{ kJ/m}^2$  (exposición de 1 min).
3. AG: agua caliente: 50°C, 1 min.
4. AG + UV: agua caliente: 50°C, 1 min + secado manual + UV-C  $5 \text{ kJ/m}^2$ .

### Campaña 2010-2011

#### ILUV-10

Se determinó el efecto preventivo contra *P. digitatum* de la dosis de irradiación con UV-C seleccionada de  $5 \text{ kJ/m}^2$  aplicada con el prototipo III, Figura 4.5. La inoculación en los frutos para ver el efecto preventivo se realizó a dos tiempos distintos: 2 y 6 días después de la exposición a UV-C.

#### Frutos y procedimiento

Es la repetición del ILUV-6, pero en este caso, se realizó con naranjas y sin evaluar el estado de madurez del fruto. Se rebajó la densidad de inóculo a  $10^3$  esporas/ml. Se efectuaron pinchazos en la corteza antes de la exposición a la luz UV-C, y se realizó la inoculación posterior con el patógeno en los mismos puntos de herida.

Naranjas cv. 'Lane-late' de madurez comercial, fueron transportadas a la ETSIAMN para ser irradiadas el 08/03/2011 a la dosis de tratamiento.

Los frutos se hirieron en la piel unas 2 h antes de la exposición a la irradiación UV-C.

Los tratamientos UV-C se realizaron en la ETSIAMN con el prototipo III, a la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> equivalente a un tiempo de aplicación de 2 min en la línea de tratamiento.

La inoculación con *P. digitatum* fue a 10<sup>3</sup> esporas/ml y se realizó en los dos puntos de la zona ecuatorial de cada fruto que se habían herido, con el fin de ver el efecto preventivo a dos tiempos distintos: 2 y 6 días después de la exposición a UV-C. Los frutos se inocularon mojando el punzón en la suspensión de esporas e incidiendo otra vez en la herida ya realizada.

Después de los tratamientos las frutas se introdujeron en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

Se realizó la lectura del número de frutos podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 4 y 8 días de la inoculación correspondiente. Indicar que se dejó un día de incubación más puesto que la densidad de inóculo fue muy baja. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 8 días.

### **Tratamientos**

La inoculación se realizó a dos tiempos después de los tratamientos, 2 (T<sub>1</sub>) y 6 días (T<sub>2</sub>). A los 2 días es cuando se produce la máxima resistencia a *P. digitatum* (Rodov y col., 1992; Droby y col., 1993) y a los 6 días se produce la máxima inducción del antifúngico escoparona en los cítricos (Kuniga y col., 2006; D'hallewin y col., 1999).

Control (no irradiado) y 1 dosis de irradiación UV-C, D<sub>5</sub> = 5 kJ/m<sup>2</sup>

1. T<sub>1</sub>, CON: control no tratado e inoculación a los 2 días.
2. T<sub>1</sub>, D<sub>5</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 2 días.
3. T<sub>2</sub>, CON: control no tratado e inoculación a los 6 días.
4. T<sub>2</sub>, D<sub>5</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 6 días.

### ILUV-11

Se determinó el efecto preventivo contra *P. digitatum* de la dosis de irradiación con UV-C seleccionada de 5 kJ/m<sup>2</sup> aplicada con el prototipo III Figura 4.10 a dos tiempos distintos: 4 y 6 días después de la exposición a UV-C. La inoculación con *P. digitatum* fue a 10<sup>3</sup> esporas/ml y los frutos se inocularon mojando el punzón en la suspensión.

Este ensayo fue la repetición del ILUV-10, pero en este caso con mandarinas *cv.* 'Ortanique' y tiempo entre tratamiento e infección de 4 días en lugar de 2 días,

ya que no resultó ser efectivo en el ensayo anterior y 6 días (que sí produjo una reducción significativa del % de incidencia).

### **Frutos y procedimiento**

Mandarinas *cv.* 'Ortanique' de madurez comercial y recolección temprana.

Los frutos se hirieron una vez en la corteza en la zona ecuatorial del fruto unas 2 h antes de la exposición a la irradiación UV-C. Se marcó con rotulador la posición de la herida.

Los tratamientos UV-C se realizaron en la ETSIAMN con el prototipo III, a la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> equivalente a un tiempo de aplicación de 2 min en la línea de tratamiento.

La inoculación con *P. digitatum* a 10<sup>3</sup> esporas/ml se realizó en un punto de la zona ecuatorial de cada fruto que se había herido para ver el efecto preventivo a dos tiempos distintos: 4 y 6 días después de la exposición a UV-C.

Después de los tratamientos, las frutas se introdujeron en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

Se realizó la lectura del número de frutos podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 4 y 8 días de la inoculación correspondiente. Se dejó un día de incubación más puesto que la densidad de inóculo fue muy baja. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 8 días.

### **Tratamientos**

La inoculación se realizó a dos tiempos después del tratamiento UV, 2 (T<sub>1</sub>) y 6 días (T<sub>2</sub>). A los 2 días es cuando se produce la máxima resistencia a *P. digitatum* (Rodov y col., 1992; Droby y col., 1993) y a los 6 días se produce la máxima inducción del antifúngico escoparona en los cítricos (Kuniga y col., 2006; D'hallewin y col., 1999).

Control (no irradiado) y 1 dosis de iluminación UV-C, D<sub>5</sub> = 5 kJ/m<sup>2</sup>.

1. T<sub>1</sub>, CON: control no tratado e inoculación a los 2 días.
2. T<sub>1</sub>, D<sub>5</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 2 días.
3. T<sub>2</sub>, CON: control no tratado e inoculación a los 6 días.
4. T<sub>2</sub>, D<sub>5</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 6 días.

## ILUV-12

Se determinó el efecto preventivo contra *P. digitatum* a la dosis de irradiación con UV-C seleccionada de 5 kJ/m<sup>2</sup> aplicada con el prototipo III, en la ETSIAMN (Figura 4.5).

Este ensayo fue una repetición del ensayo ILUV-11, pero en este caso sólo se inocularon los frutos después de 6 días del tratamiento y se procuró herir bien la corteza de la mandarina durante la inoculación. En el ensayo ILUV-11 la fruta control no pudo de forma normal, por lo que en este ensayo aumentamos la dosis de inóculo a 10<sup>4</sup> esporas/ml.

### **Frutos y procedimiento**

Mandarinas *cv. 'Ortanique'* de madurez comercial y recolección tardía de fecha 14/04/2011. Los frutos se hirieron una vez en la piel, en la zona ecuatorial del fruto unas 2 h antes de la exposición a la irradiación UV-C. Se marcó con rotulador la posición de la herida.

Los tratamientos UV-C se realizaron con el prototipo III en la ETSIAMN, a la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> equivalente a un tiempo de aplicación de 2 min en la línea de tratamiento.

Los frutos se inocularon con *P. digitatum* a 10<sup>4</sup> esporas/ml en el punto de la zona ecuatorial de cada fruto que se había herido previamente, para ver el efecto preventivo a los 6 días después de la exposición a UV-C. Se inocularon mojando el punzón en la suspensión de esporas e incidiendo otra vez en la herida ya realizada.

Después de los tratamientos, los frutos se introdujeron en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

Se realizó la lectura del número de frutos podridos (incidencia, %) y el crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 8 días de la inoculación correspondiente. Se dejó un día de incubación más puesto que la densidad de inóculo fue muy baja. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 8 días.

**Tratamientos** En este ensayo se ha realizado un solo tiempo entre tratamiento e inoculación fúngica: 6 días (T6).

Control (no irradiado) y 1 dosis de iluminación UV-C, D<sub>5</sub> = 5 kJ/m<sup>2</sup>

1. T<sub>6</sub>, CON: control no tratado e inoculación a los 6 días.
2. T<sub>6</sub>, D<sub>5</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 6 días.
3. T<sub>6</sub> D<sub>2,5</sub> irradiación 1 min e inoculación a los 6 días.

## ILUV-13

Se determinó el efecto preventivo contra *P. digitatum* de la dosis de irradiación con UV-C seleccionada de 5 kJ/m<sup>2</sup> aplicada con el prototipo III en la ETSIAMN (Figura 4.5).

Este ensayo fue una repetición del ILUV-11, pero en este caso sólo se inoculó después de 6 días del tratamiento y se procuró herir bien la corteza de la mandarina durante la inoculación. En el ensayo ILUV-11 la fruta control no pudo normalmente, por lo que se aumentó la dosis de inóculo a 10<sup>4</sup> esporas/ml.

### **Frutos y procedimiento**

Mandarinas *cv.* 'Ortanique' con madurez comercial y de recolección tardía de fecha 14/04/2011, se hirieron una vez en la piel de la zona ecuatorial del fruto unas 2 h antes de la exposición a la luz UV-C. Se marcó con rotulador la posición de la herida.

Los tratamientos UV-C se realizaron con el prototipo III en la ETSIAMN, a la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> equivalente a un tiempo de aplicación de 2 min en la línea de tratamiento.

Se inoculó con *P. digitatum* a 10<sup>4</sup> esporas/ml en el punto de la zona ecuatorial de cada fruto que se había herido para ver el efecto preventivo a los 6 días después de la exposición a UV-C. Se inoculó mojando el punzón en la suspensión de esporas e incidiendo otra vez en la herida ya realizada.

Después de los tratamientos los frutos se introdujeron en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

Se realizó la lectura del número de podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 8 días de la inoculación correspondiente. Se dejó un día de incubación más puesto que la densidad de inóculo fue baja. También se determinó el porcentaje de la fruta que presentó esporulación a los 8 días.

### **Tratamientos**

En esta ensayo el tiempo entre el tratamiento y la inoculación fúngica fue de 6 días (T6).

Control (no irradiado) y 1 dosis de iluminación UV-C, D<sub>5</sub> = 5 kJ/m<sup>2</sup>

1. T6, CON: control no tratado e inoculación a los 6 días.
2. T6, D<sub>5</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 6 días.

## ILUV-14

Se determinó el efecto preventivo contra *Penicillium digitatum* a la dosis de irradiación UV-C de 5 kJ/m<sup>2</sup> y 2.5 kJ/m<sup>2</sup> aplicada con el prototipo III en la ETSIAMN, (Figura 4.5) y en la secuencia de combinación agua caliente + UV-C. Se repitió el ensayo ILUV-13, y se efectuaron los tratamientos en este ensayo con naranjas Valencia-late.

### **Frutos y procedimiento**

Naranjas *cv.* 'Valencia-late' de madurez comercial y recolección temprana de fecha 27/05/2011.

Los frutos se hirieron una vez en la zona ecuatorial de los mismos con el punzón de inocular desinfectado. Se marcó con rotulador la posición de la herida. Estos se bañaron en agua caliente a 50°C durante 2 min en el IVIA y se secaron con papel secante antes de tratarse con irradiación UV-C.

Los tratamientos UV-C se realizaron con el prototipo III en la ETSIAMN, a la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> equivalente a un tiempo de aplicación de 2 min en la línea de tratamiento. La dosis de 2.5 kJ/m<sup>2</sup> a 1 min. Los frutos se guardaron en cámaras, a 20°C y 80-90 % HR durante 6 días.

Tras los 6 días, se inoculó con *Penicillium digitatum* a 10<sup>4</sup> esporas/ml. La inoculación se realizó mojando el punzón en la suspensión de esporas e incidiendo otra vez en la herida ya realizada.

La unidad muestral fue de 4x10 (4 repeticiones de 10 frutos), 40 frutos por tratamiento. Se realizaron 5 tratamientos y se utilizaron una cantidad total de 200 frutos.

Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

La lectura del número de frutos podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) se hizo a los 4 y 8 días de la inoculación correspondiente. También se realizó una evaluación de daños en la piel de los frutos a los 3 días de los tratamientos y el % de esporulación a los 8 días

### **Tratamientos**

1. T<sub>6</sub>, CON: control no tratado e inoculación a los 6 días.
2. T<sub>6</sub>, D<sub>5</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 6 días.
3. T<sub>6</sub>, D<sub>2,5</sub>: irradiación 1 min e inoculación a los 6 días.

4. T<sub>6</sub>, AG+D<sub>5</sub>: baño 2 min en agua 50°C, secado con papel, irradiación 2 min e inoculación a los 6 días.
5. T<sub>6</sub>, AG+D<sub>2,5</sub>: baños 2

### ILUV-15

Se determinó el efecto preventivo contra *Penicillium digitatum* a la dosis de irradiación con UV-C seleccionada de 5 kJ/m<sup>2</sup> y 2.5 kJ/m<sup>2</sup> aplicada con el prototipo III, (Figura 4.5), y en la secuencia de combinación agua caliente + UV-C. Se repitió el ensayo ILUV-14, en el que no se pudrieron los controles, por lo que se aumentó la dosis de inóculo.

### **Frutos y procedimiento**

Naranjas *cv.* 'Valencia-late' de madurez comercial y recolección tardía de fecha 17/06/2011.

Los frutos se hirieron una vez en la zona ecuatorial de los mismos con el punzón de inocular desinfectado. Se marcó con rotulador la posición de la herida. Estos se bañaron en agua a 50°C durante 2 min en el IVIA y se secaron con papel secante antes de tratarse con irradiación UV-C.

Los tratamientos UV-C se realizaron con el prototipo III en la ETSIAMN a la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> equivalente a un tiempo de aplicación de 2 min en la línea de tratamiento a la dosis de 2.5 kJ/m<sup>2</sup> equivalente a 1 min. Los frutos se guardaron en cámaras, a 20°C y 80-90 % HR durante 6 días.

Tras los 6 días, se inoculó con *Penicillium digitatum* a 5 10<sup>4</sup> esporas/ml. Se realizó mojando el punzón en la suspensión de esporas e incidiendo otra vez en la herida ya realizada.

La unidad muestral fue de 4x10 (4 repeticiones de 10 frutos), 40 frutos por tratamiento. Se realizaron 5 tratamientos y se utilizaron una cantidad total de 200 frutos.

Después de los tratamientos los frutos se introdujeron en una cámara a 20°C y 80-90 % HR de la planta piloto del IVIA.

La lectura del número de frutos podridos (incidencia, %) y del crecimiento del hongo en el punto de inoculación (severidad, mm) a los 4 y 8 días de la inoculación correspondiente. También se realizó una evaluación de daños en la piel de los frutos a los 3 días de los tratamientos y el % de esporulación a los 8 días

### **Tratamientos**

1. T6, CON: control no tratado e inoculación a los 6 días.
2. T6, D<sub>5</sub>: irradiación 2 min e inoculación a los 6 días.
3. T6, D2.5: irradiación 1 min e inoculación a los 6 días.
4. T6, AG+D<sub>5</sub>: baño 2 min en agua 50°C, secado con papel, irradiación 2 min e inoculación a los 6 días.
5. T6, AG+D2.5: baños 2 min en agua 50°C, secado con papel, irradiación 1 min e inoculación a los 6 días.

### ***Campaña 2011-2012***

#### **ILUV-16 - DESVERDIZACIÓN**

Se determinó el efecto sobre el desverdizado en clementinas *cv. 'Clemenules'* y naranjas *cv. 'Navel-lane'* disponibles para su desverdización el 16/12/2011. Se realizó una numeración de los frutos para determinar su coloración inicial.

En los ensayos preparatorios se observó que los tratamientos a dosis de irradiación UV-C de 5 kJ/m<sup>2</sup> interfería con el posterior desverdizado, tanto de las mandarinas como de las naranjas tratadas. La fruta no perdió la coloración verde tras el tratamiento de desverdización comercial. Con el fin de comprobar este efecto, se realizó el presente experimento. Después del tratamiento UV-C, a las dosis de 2,5 kJ/m<sup>2</sup> y 5 kJ/m<sup>2</sup>, los frutos fueron sometidos a un desverdizado comercial de 3 días a 21°C, 90 % HR, y 1,5ppm de etileno. A la salida del proceso de desverdizado se midió el color de cada uno de los frutos numerados.

#### **Frutos y procedimiento**

Se tomaron 20 frutos por variedad para ser irradiados a cada una de las dosis de UV-C el 16/12/2011. El color se midió con la opción multimedia de MINOLTA (L, a, b, parámetros de Hunter). Tras el proceso de desverdización, se midió nuevamente el color al cabo de los 3 días. Esta medida se realizó el 19/12/2011.

#### **Tratamientos**

1. Control: sin UV-C+desverdizado.
2. UV 5: dosis de 5kJ/m<sup>2</sup> + desverdizado.
3. UV 2,5: dosis de 2,5 kJ/m<sup>2</sup> + desverdizado.



# Capítulo 5

## Resultados

### 5.1 Introducción

A continuación se describen los resultados obtenidos en los distintos ensayos que se realizaron. Para cada uno de los ensayos ILUV, se detallan los aspectos más relevantes de los mismos, según metodología indicada y los resultados previos obtenidos según se indica a continuación.

### 5.2 Campaña 2008-2009

#### 5.2.1 Ensayos ILUV1

Los resultados (Figuras 5.1, 5.2,) del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia y severidad respectivamente, con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados en mandarinas Ortanique de recolección temprana a la dosis de  $12 \text{ kJ/m}^2$  con el prototipo II a los 4 y 7 días después del tratamiento. Los tratamientos se efectuaron 24 h después de la inoculación. Letras iguales indican que no existen diferencias significativas entre tratamientos.

El análisis ANOVA de los resultados de este ensayo se indican en la Tabla 5.1.

**Tabla 5.1:** ANOVA de los resultados del ensayo ILUV 1

ANOVA Table for **diametro 4d** by Tratamiento

Analysis of Variance

---

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1217,58	4	304,395	1,33	<b>0,2602</b>
Within groups	44629,7	195	228,87		
Total (Corr.)	45847,3	199			

ANOVA Table for **diametro 7d** by Tratamiento

Analysis of Variance

---

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	7646,22	4	1911,55	0,59	<b>0,6684</b>
Within groups	628985,0	195	3225,56		
Total (Corr.)	636631,0	199			

ANOVA Table for **incidencia 4d** by Tratamiento

Analysis of Variance

---

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	283,879	4	70,9698	0,30	<b>0,8725</b>
Within groups	3531,67	15	235,444		
Total (Corr.)	3815,55	19			

ANOVA Table for **incidencia 7d** by Tratamiento

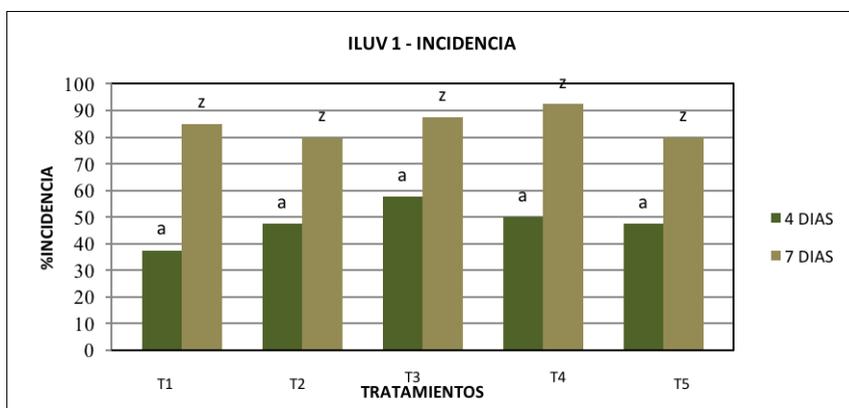
## Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	540,016	4	135,004	1,01	<b>0,4329</b>
Within groups	2003,82	15	133,588		
Total (Corr.)	2543,84	19			

ANOVA Table for **esporulacion 7d** by Tratamiento

## Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	683,461	4	170,865	1,06	<b>0,4102</b>
Within groups	2418,57	15	161,238		
Total (Corr.)	3102,03	19			



**Figura 5.1:** Porcentaje de incidencia a los 4 días y 7 días en mandarinas Ortanique de recolección temprana.

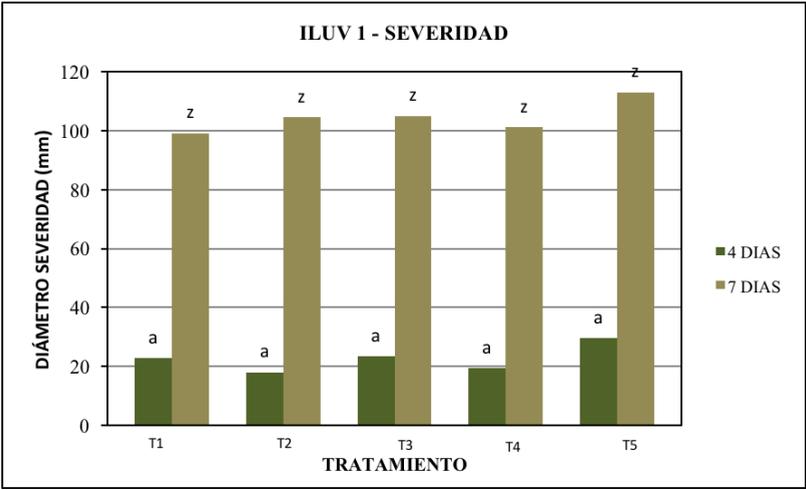


Figura 5.2: Severidad a los 4 y 7 días de los tratamientos realizados en mandarinas Ortanique de recolección temprana.

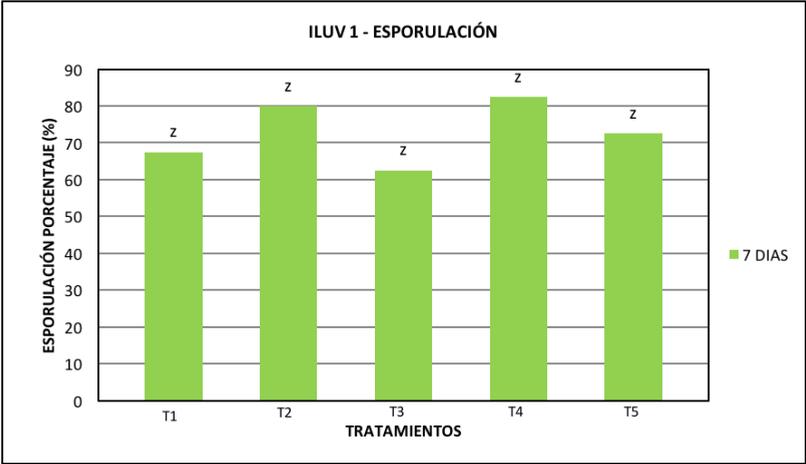


Figura 5.3: Resultados del porcentaje de esporulación en los distintos tratamientos en la mandarina Ortanique de recolección temprana.

Los resultados del ensayo (Figura 5.3) indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis de 12 kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo II, a los 7 días después del tratamiento.

### 5.2.2 Ensayos ILUV2

En la Tabla 5.2 se indica el ANOVA de los resultados del ensayo ILUV2.

Los resultados (Figuras 5.4, 5.5) del ensayo indican que existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia a los 4 días y severidad a los 4 y 7 días después del tratamiento con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis de  $24 \text{ kJ/m}^2$  con el prototipo II. Los tratamientos se efectuaron 24h después de la inoculación. Destacó la combinación  $T_4$  (AG+UV-C). Los resultados con el tratamiento  $T_3$  (UV-C), no mejoraron la eficacia respecto al testigo. Existieron diferencias entre las dos secuencias de combinación, siendo (AG+UV-C) mejor que (UV-C+AG).

**Tabla 5.2:** Resultados del ANOVA del ensayo ILUV 2

**ANOVA Table for Incidencia PD 4d byCodigo Tratamientos**

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	3127,81	4	781,952	7,56	0,0015
Within groups	1551,85	15	103,456		
Total (Corr.)	4679,65	19			

**Multiple Range Tests for Incidencia PD 4d byCodigo Tratamientos**

Method: 95,0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
T4	4	0,905964	X
T2	4	18,1178	X
T5	4	22,5	X
T1	4	29,3606	XX
T3	4	38,3587	X

Contrast	Difference	+/- Limits
T1 - T2	11,2429	15,3299
T1 - T3	-8,99813	15,3299
T1 - T4	*28,4546	15,3299
T1 - T5	6,86061	15,3299
T2 - T3	*-20,241	15,3299
T2 - T4	*17,2118	15,3299
T2 - T5	-4,38225	15,3299
T3 - T4	*37,4528	15,3299
T3 - T5	*15,8587	15,3299
T4 - T5	*-21,594	15,3299

**ANOVA Table for Severidad PD 4d byCodigo Tratamientos**

## Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	635,629	4	158,907	1,95	0,1540
Within groups	1221,32	15	81,4213		
Total (Corr.)	1856,95	19			

**Multiple Range Tests for Severidad PD 4d byCodigo Tratamientos**

Method: 95,0 percent LSD

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
T4	4	47,8842	X
T2	4	50,8945	XX
T5	4	52,2736	XX
T1	4	55,5033	XX
T3	4	64,3334	X

Contrast	Difference	+/- Limits
T1 - T2	4,60874	13,5997
T1 - T3	-8,8301	13,5997
T1 - T4	7,61904	13,5997
T1 - T5	3,22965	13,5997
T2 - T3	-13,4388	13,5997
T2 - T4	3,0103	13,5997
T2 - T5	-1,37909	13,5997
T3 - T4	*16,4491	13,5997
T3 - T5	12,0598	13,5997
T4 - T5	-4,38939	13,5997

\* denotes a statistically significant difference.

**ANOVA Table for Esporulacion PD 7d by Codigo Tratamientos**

Analysis of Variance

---

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	2137,86	4	534,466	4,55	0,0133
Within groups	1763,73	15	117,582		
Total (Corr.)	3901,59	19			

---

**Multiple Range Tests for Esporulacion PD 7d by Codigo Tratamientos**

Method: 95,0 percent LSD

---

Level	Count	Mean	Homogeneous Groups
T4	4	18,1178	X
T2	4	29,1413	XX
T5	4	33,9693	XXX
T1	4	37,6633	XX
T3	4	49,6718	X

---

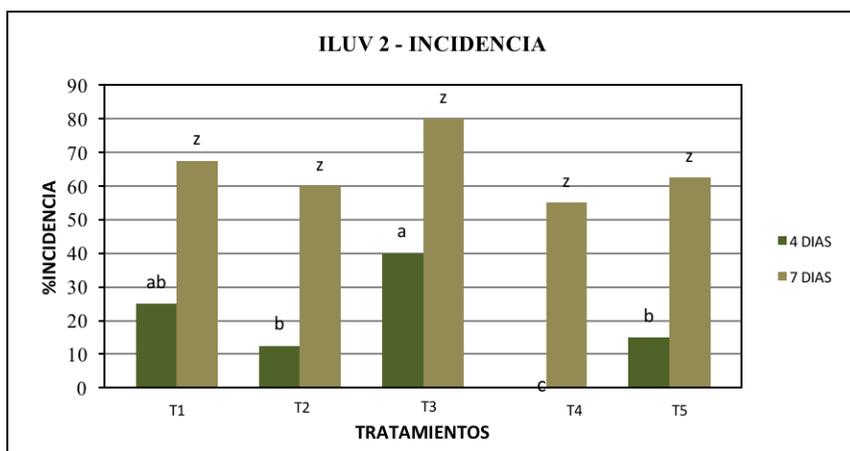


---

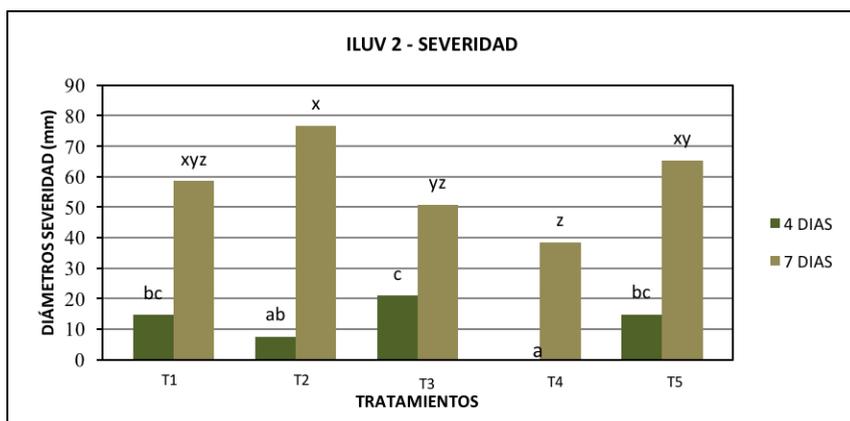
Contrast	Difference	+/- Limits
T1 - T2	8,52207	16,343
T1 - T3	-12,0084	16,343
T1 - T4	*19,5456	16,343
T1 - T5	3,69399	16,343
T2 - T3	*-20,5305	16,343
T2 - T4	11,0235	16,343
T2 - T5	-4,82808	16,343
T3 - T4	*31,554	16,343
T3 - T5	15,7024	16,343
T4 - T5	-15,8516	16,343

---

\* denotes a statistically significant difference.

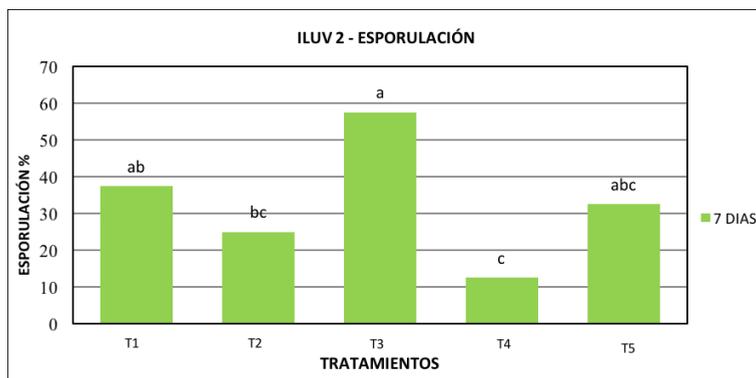


**Figura 5.4:** Porcentaje de incidencia a los 4 y 7 días en mandarinas Ortanique de recolección tardía.



**Figura 5.5:** Severidad a los 4 y 7 días de los distintos tratamientos realizados en mandarinas Ortanique de recolección tardía.

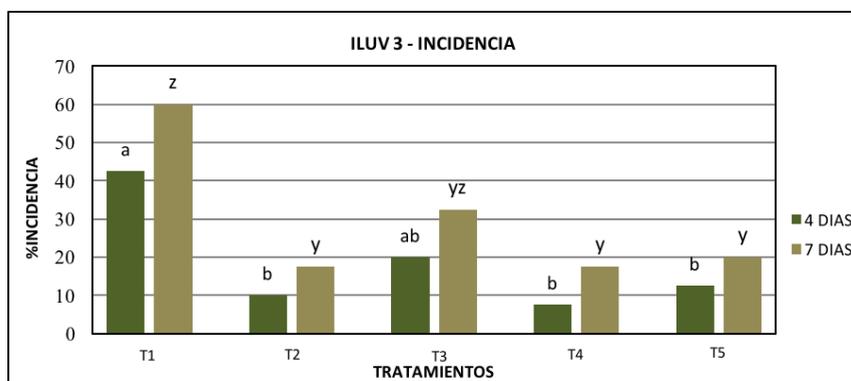
En los resultados del ensayo en cuanto a la severidad, destacó la combinación T<sub>4</sub> (AG+ UV-C). Los resultados con el tratamiento T<sub>3</sub> (UV-C), no mejoraron la eficacia respecto al testigo. Existieron diferencias entre las dos secuencias de combinación (AG+UV-C) mejor que la combinación (UV-C+AG), que se comportó igual que el testigo a los 4 días (Figura 5.5).



**Figura 5.6:** Porcentaje de esporulación en mandarinas Ortanique de recolección tardía a los 7 días de los distintos tratamientos.

Los resultados del ensayo (Figura 5.6) indican que existieron diferencias significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis de 24 kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo II a los 7 días después del tratamiento. Los tratamientos se efectuaron 24 h después de la inoculación. Destacó la combinación T<sub>4</sub> (AG+UV-C). Los resultados con el tratamiento T<sub>3</sub> (UV-C), no mejoraron respecto al testigo. Existieron diferencias entre las dos combinaciones (AG+UV-C), que es mejor que la combinación (UV-C+AG). Letras diferentes o grupos de letras diferentes indican diferencias significativas entre los valores medios ( $P \leq 0,05$ ).

### 5.2.3 Ensayos ILUV3

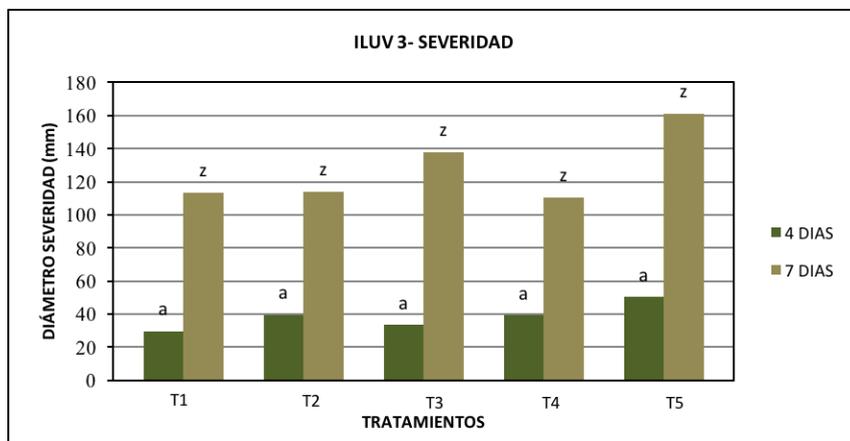


**Figura 5.7:** Porcentaje de incidencia en naranjas Valencia-late de recolección temprana a los 4 y 7 días.

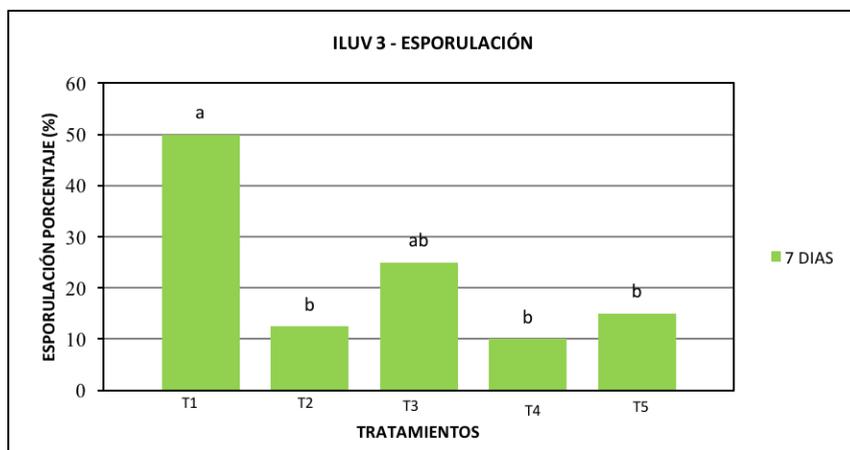
Los resultados (Figura 5.7) del ensayo indican que existieron diferencias significativas en cuanto a la de incidencia con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis de  $24 \text{ kJ/m}^2$  con el prototipo II, a los 4 y 7 días después del tratamiento. Los tratamientos se efectuaron 24h después de la inoculación. Los resultados con el tratamiento T<sub>3</sub> (UV-C), no mejoraron la eficacia respecto al testigo, pero si lo hicieron con la secuencia de combinación en las que no existieron diferencias entre las mismas y no mejoraron el resultado con respecto al agua caliente (T<sub>2</sub>) a los 4 y 7 días del tratamiento.

Los resultados del ensayo también indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la severidad con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis de  $24 \text{ kJ/m}^2$  con el prototipo II a los 4 y 7 días de los tratamientos (Figura 5.8).

Los resultados del ensayo indican que existieron diferencia significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis de  $24 \text{ kJ/m}^2$  con el prototipo II a los 7 días después del tratamiento. Los resultados se efectuaron 24h después de la inoculación. Los resultados con el tratamiento T<sub>3</sub> (UV-C), no mejoraron la eficacia respecto al testigo, pero si las secuencias de combinación T<sub>4</sub> (AG+ UV-C) y T<sub>5</sub> (UV-C+AG) en las que no existieron diferencias entre ellas, y no mejoraron el resultado con respecto al tratamiento con agua caliente(T<sub>2</sub>) (Figura 5.9).



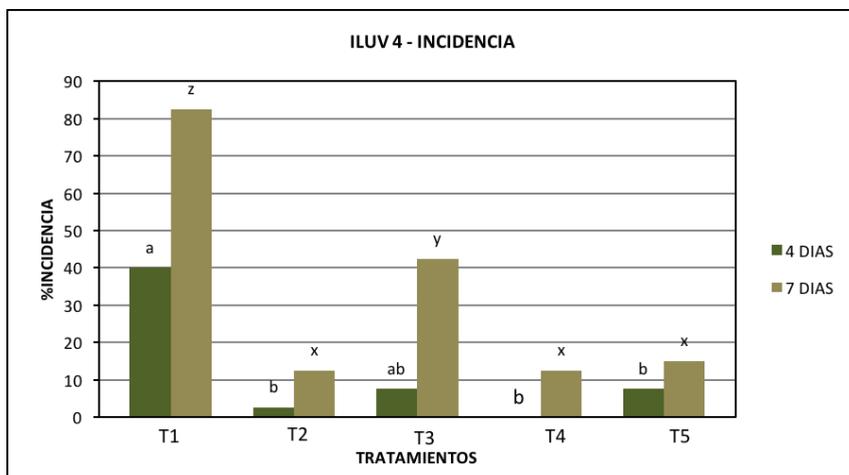
**Figura 5.8:** Severidad a los 4 y 7 días de los distintos tratamientos realizados en naranjas Valencia-late de recolección temprana.



**Figura 5.9:** Porcentaje de esporulación a los 7 días en los distintos tratamientos en naranjas Valencia-late de recolección temprana.

### 5.2.4 Ensayos ILUV4

Los resultados de la incidencia con naranjas Valencia-late de recolección tardía se indican en la Figura 5.10.



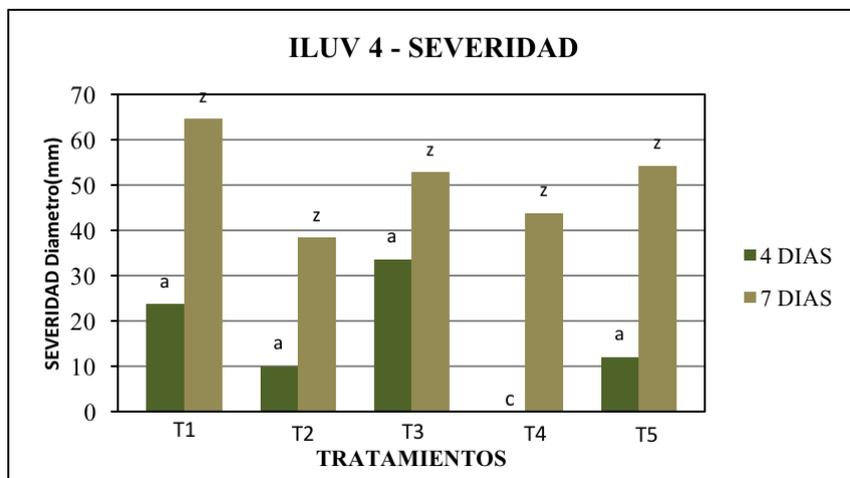
**Figura 5.10:** Porcentaje de incidencia a los 4 y 7 días en naranjas Valencia-late de recolección tardía.

Los resultados del ensayo indican que existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis de  $12 \text{ kJ/m}^2$  con el prototipo II, a los 4 y 7 días después de los tratamientos (Figura 5.10).

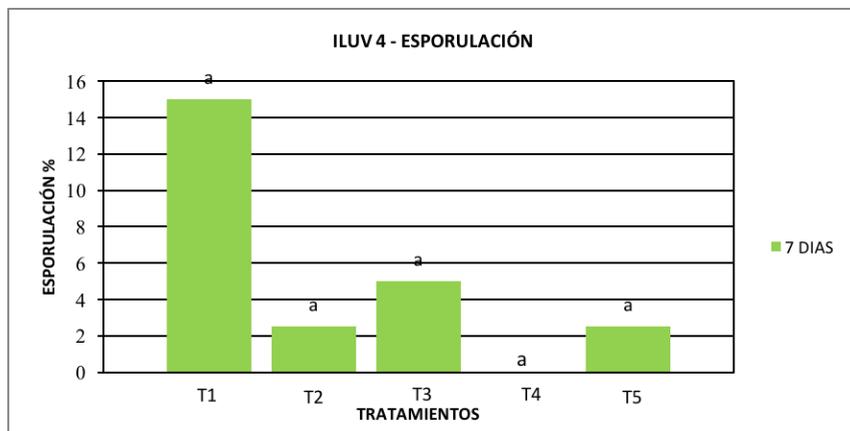
Los tratamientos se efectuaron 24h después de la inoculación. Los resultados con el tratamiento  $T_3$  (UV-C), no mejoraron la eficacia respecto al testigo a los 4 días, pero si a los 7 días. Entre los tratamientos  $T_4$  (AG+UV-C) y  $T_5$  (UV-C+AG) no existieron diferencias significativas y tampoco mejoraron el resultado con respecto al agua caliente ( $T_2$ ).

En cuanto a los resultados de la severidad, el tratamiento  $T_4$  (AG+UV-C) mejoró la eficacia con respecto al testigo a los 4 días, pero no a los 7 días, y no existieron diferencias significativas de ninguno de los tratamientos. Los resultados obtenidos de la esporulación indican que no existieron diferencias significativas de ningún tratamiento respecto al testigo a los 7 días (Figura 5.11).

El resumen comparativo de los resultados en los ensayos de las dos variedades se indica en la Tabla 5.3.



**Figura 5.11:** Severidad a los 4 y 7 días de los distintos tratamientos realizados en la Valencia-late de recolección tardía.



**Figura 5.12:** Resultados del porcentaje de esporulación en los distintos tratamientos en naranja Valencia-late de recolección tardía.

El resumen comparativo de los resultados a los 4 días de los tratamientos en los ensayos en las dos variedades se indica en la Tabla 5.3.

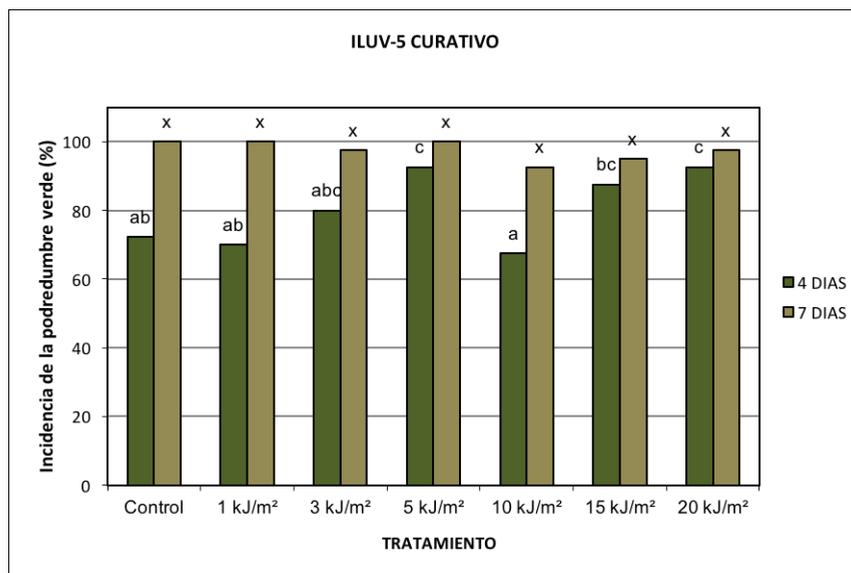
**Tabla 5.3:** Comparación de los resultados obtenidos de la incidencia y severidad a los 4 días en los primeros ensayos realizados.

VARIEDAD	INCIDENCIA %					SEVERIDAD (diámetro mm)				
	T1	T2	T3	T4	T5	T1	T2	T3	T4	T5
Ortanique temprana 4días ILUV1 Dosis:12kJ/m <sub>2</sub>	37,5a	47,5a	57,5a	50a	47,5	22,7a	17,8a	23,3a	19,3a	29,4a
Ortanique tardía. 4días ILUV2 Dosis:24kJ/m <sub>2</sub>	25ab	12,5a	40a	0c	15b	14,6bc	7,5ab	20,9c	0a	14,8bc
Valencia-Late temprana 4días ILUV3 Dosis:12kJ/m <sub>2</sub>	42,5a	10b	20ab	7,5b	12,5b	29,7a	39,5a	33,6a	39,2a	50,1a
Valencia-late tardía. 4días ILUV4 Dosis:12kJ/m <sub>2</sub>	40a	2,5b	7,5ab	0b	7,5b	23,6a	10a	33,5a	0b	12a

### 5.3 Campaña 2009-2010

Durante esta campaña se realizaron tratamientos curativos y preventivos cuyos resultados se presentan a continuación.

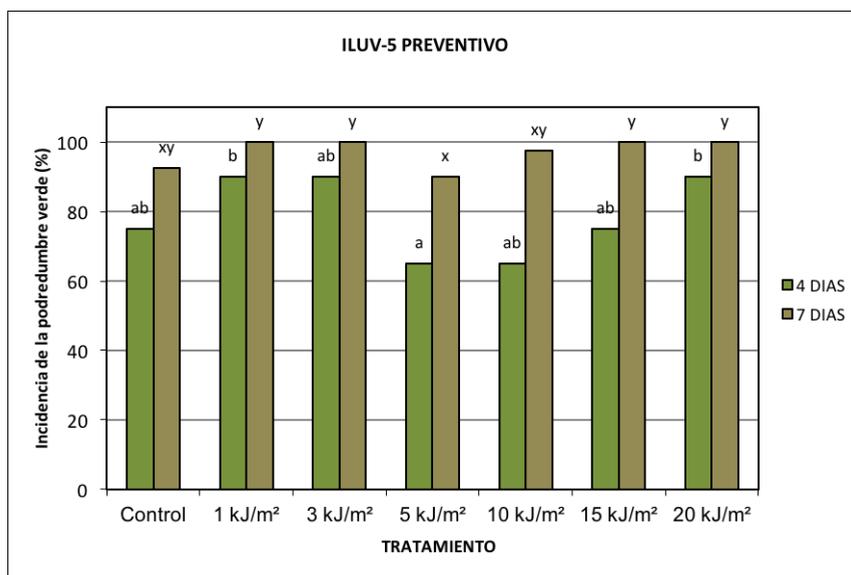
#### 5.3.1 Ensayos ILUV5



**Figura 5.13:** Porcentaje de incidencia con los tratamientos curativos en clementinas Clemenules de recolección temprana a las distintas dosis de aplicación.

Los resultados del ensayo indican que existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia con respecto al testigo de las distintas dosis de irradiación UV-C aplicadas con el prototipo II, a los 4 días, pero no a los 7 días después del tratamiento (Figura 5.13).

Los tratamientos se realizaron 24h después de la inoculación. Solo los resultados con el tratamiento a dosis de UV-C 10kJ/m<sup>2</sup>, mejoraron su eficacia respecto al testigo a los 4 días, pero no a los 7 días. No existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia con respecto al testigo de las distintas dosis de irradiación UV-C aplicadas en las lecturas efectuadas a los 7 días después de los tratamientos (Figura 5.14).



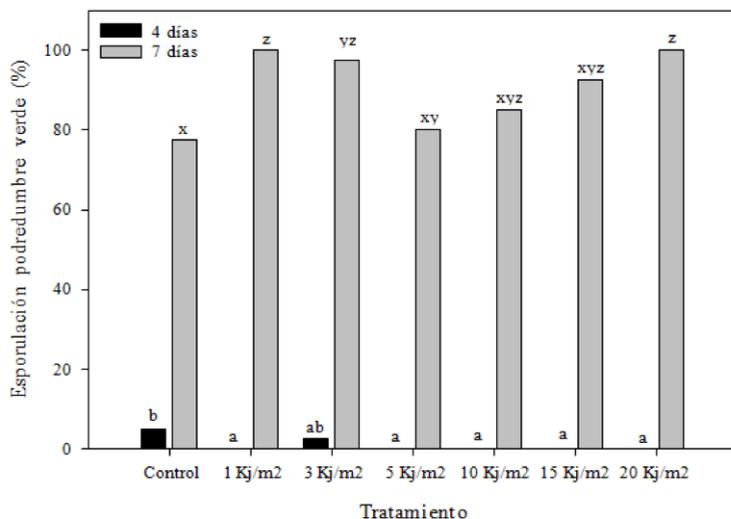
**Figura 5.14:** Resultados de los porcentajes de incidencia con los tratamientos preventivos en clementinas Clementules de recolección temprana a las distintas dosis aplicadas a los 4 y 7 días del tratamiento.

En la Figura 5.16 se indican los resultados de la severidad con los tratamientos curativos, y en la Figura 5.17 los resultados con los tratamientos preventivos a los 4 y 7 días respectivamente. Los resultados del ensayo indican que existieron diferencias significativas en cuanto a los porcentajes de incidencia con respecto al testigo de las distintas dosis de UV-C aplicadas con el prototipo I a los 4 días y a los 7 días después de los tratamientos.

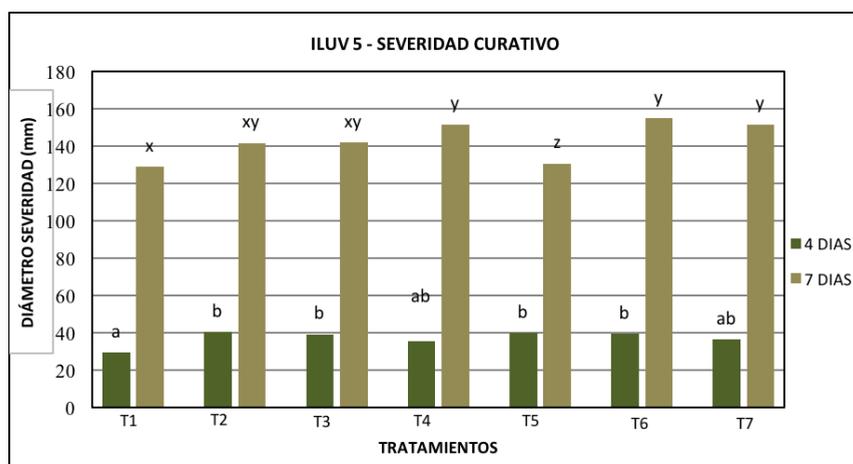
Diferentes letras o grupos de letras diferentes denotan diferencias significativas entre los valores medios.

Respecto a la severidad, ninguna de las dosis UV-C aplicadas mejoró los resultados con respecto al testigo.

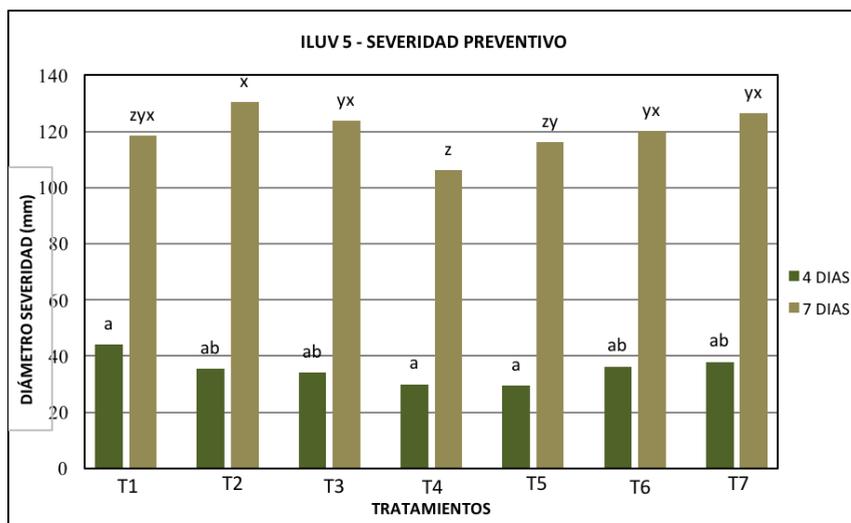
En la figura Figura 5.18 se indica los resultados comparativos curativos/preventivos de los tratamientos más efectivos realizados en el ensayo ILUV5.



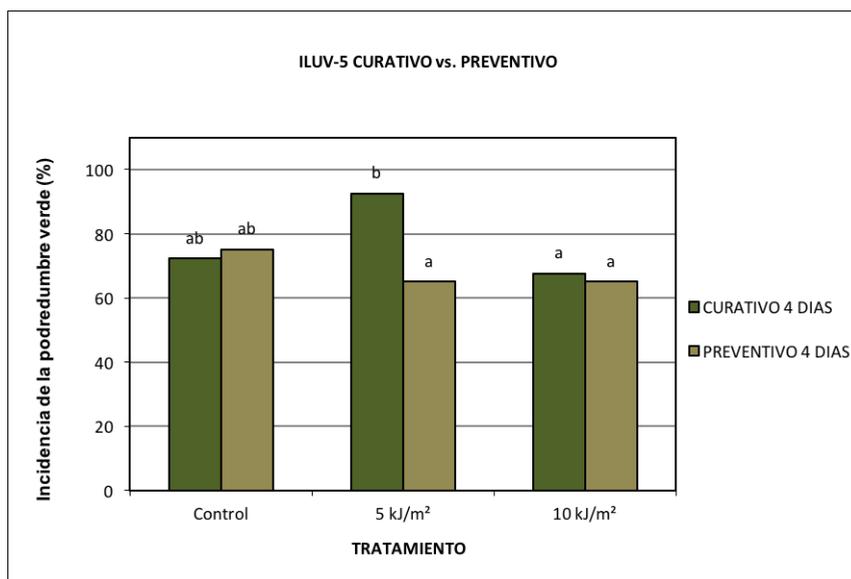
**Figura 5.15:** Resultados de los porcentajes de esporulación de los tratamientos preventivos con clementinas Clemenules de recolección temprana a las distintas dosis de aplicación.



**Figura 5.16:** Resultados de la severidad de los tratamientos curativos en clementinas Clemenules de recolección temprana a las distintas dosis UV-C aplicadas.



**Figura 5.17:** Resultados de la severidad con los tratamientos preventivos en clementinas Clemenules de recolección temprana a las distintas dosis UV-C aplicadas.



**Figura 5.18:** Resultados comparativos de los tratamientos más efectivos en el ensayo ILUV5 de la incidencia y la severidad de la podredumbre a los 4 días. Diferentes letras o grupos de letras diferentes denotan diferencias significativas.

Los tratamientos realizados después de la inoculación fúngica (tratamientos curativos) no redujeron la incidencia ni la severidad (Tabla 5.4) de la podredumbre verde a ninguna de las dosis de UV-C probadas. De hecho, ambos parámetros aumentaron con las mayores dosis UV-C aplicadas, aparentemente debido a daños físicos inducidos en la piel de los frutos por el tratamiento. En ambos casos, la dosis que parece deteriorar menos la fruta es la de UV-C 10 kJ/m<sup>2</sup>.

**Tabla 5.4:** Incidencia y severidad de la podredumbre verde en clementinas *Clemenules* inoculadas con *Penicillium digitatum* (10<sup>5</sup> esporas/mL) 24 h antes del tratamiento con distintas dosis de radiación UV-C e incubadas a 20°C y 85 % HR durante 4 y 7 días. En cada columna, los valores medios seguidos por letras o grupos de letras diferentes denotan diferencias significativas según la prueba de Fisher ( $P \leq 0,05$ ).

Dosis	4 días	7 días	Dosis	4 días	7 días
Control	72,2 ab	100 x	Control	20,92 a	128,8 x
1 kJ/m <sup>2</sup>	70 ab	100 x	1 kJ/m <sup>2</sup>	27,75 b	140,8 xy
3 kJ/m <sup>2</sup>	80 abc	97,5 x	3 kJ/m <sup>2</sup>	30,92 b	139,15 xy
5 kJ/m <sup>2</sup>	92,5 c	100 x	5 kJ/m <sup>2</sup>	33,05 ab	151,45 y
10 kJ/m <sup>2</sup>	67,5 a	92,5 x	10 kJ/m <sup>2</sup>	26,65 b	124,3 x
15 kJ/m <sup>2</sup>	87,5 bc	95 x	15 kJ/m <sup>2</sup>	34,1 b	146,8 y
20 kJ/m <sup>2</sup>	92,5 c	97,5 x	20 kJ/m <sup>2</sup>	34,75 ab	148,77 y
INCIDENCIA (%)	P=0,0463	P=0,3025	SEVERIDAD (mm)	P=0,2957	P=0,0073

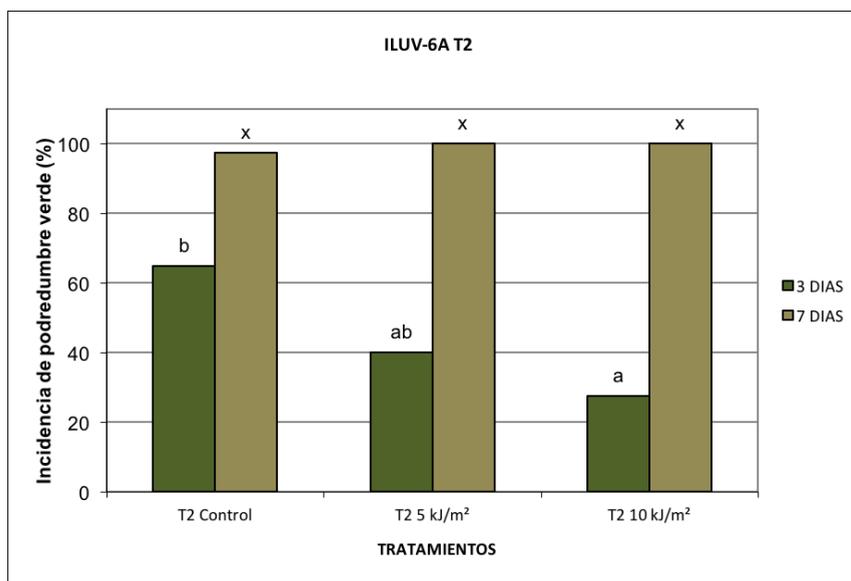
### 5.3.2 Ensayos ILUV6

En función de los resultados obtenidos en el ensayo anterior se optó por profundizar en la evaluación de los tratamientos preventivos. Los resultados se muestran a continuación.

En estos ensayos con mandarinas Ortanique de dos estados de madurez (temprano y tardío), se evaluó la capacidad de las dosis UV-C elegidas en los ensayos anteriores (5 y 10 kJ/m<sup>2</sup>) como inductoras de resistencia (actividad preventiva) a dos tiempos distintos entre la exposición a UV-C e inoculación fúngica a los 2 y 6 días.

#### ILUV-6A

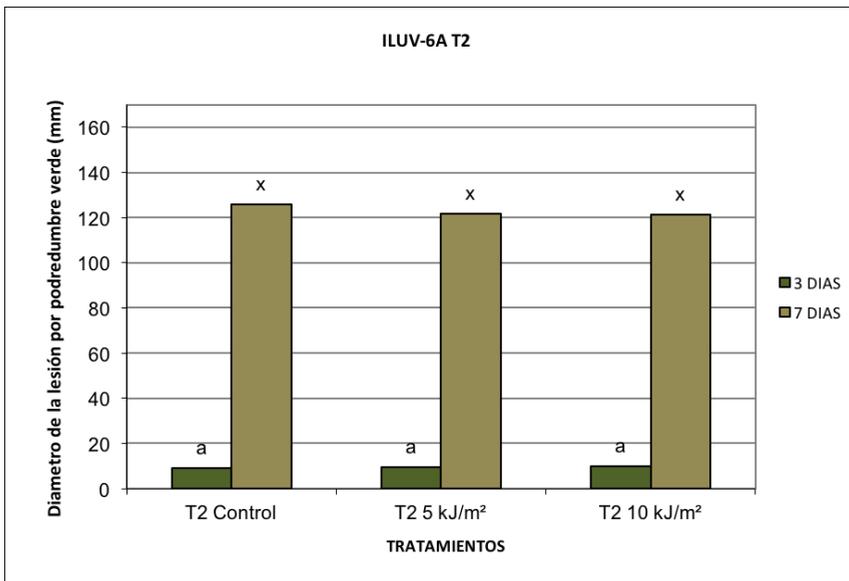
Los resultados obtenidos indican que la incidencia de los tratamientos UV-C fue estadísticamente significativa con respecto al testigo en las inoculaciones realizadas a los 2 días del tratamiento en observaciones realizadas a los 3 días de la inoculación a la dosis de UV-C (10 kJ/m<sup>2</sup>) aplicada con el prototipo I, no así a los 7 días (Figura 5.19).



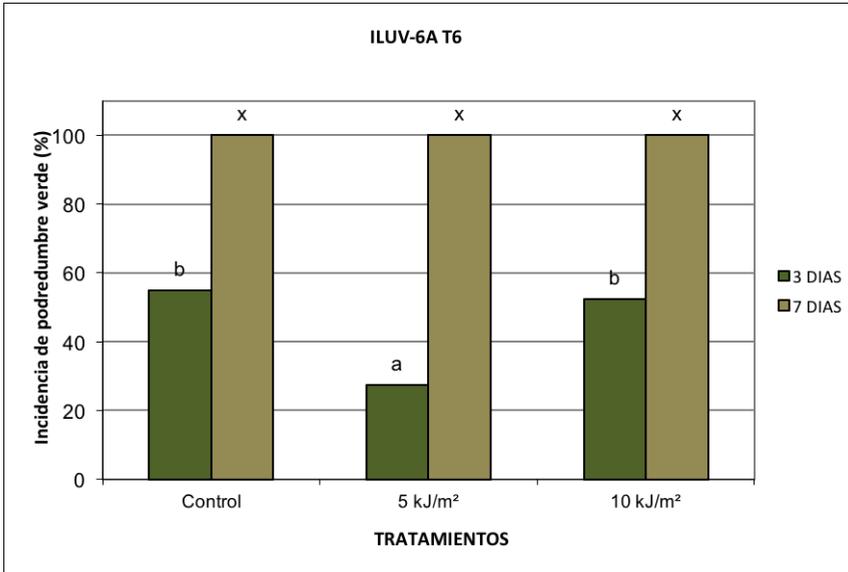
**Figura 5.19:** Porcentaje de incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique de recolección temprana inoculadas a los 2 días del tratamiento UV-C con el prototipo I.

Los resultados obtenidos en mandarinas Ortanique indican también que no existieron diferencias significativas en cuanto a la severidad con respecto al testigo en las inoculaciones realizadas a los 2 días del tratamiento, en observaciones a los 3 y 7 días de la inoculación a las dos dosis UV-C aplicadas con el prototipo I (Figura 5.23).

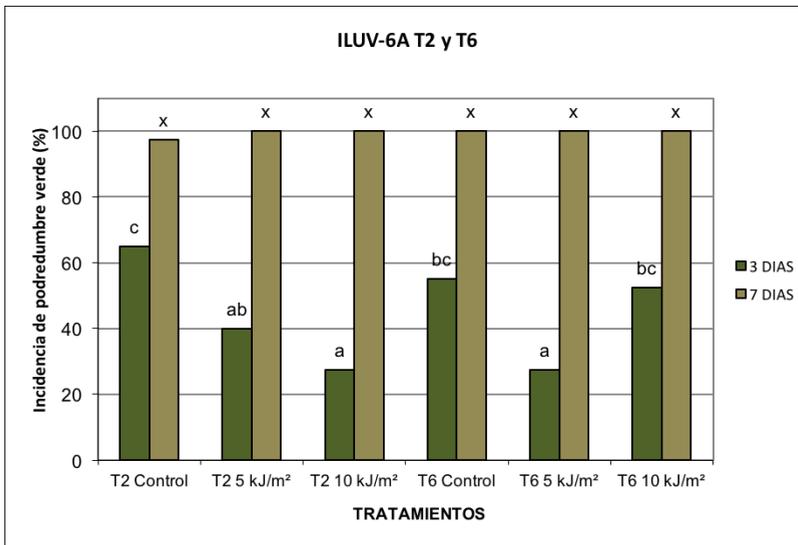
Los resultados obtenidos en mandarinas Ortanique indicaron que la incidencia de los tratamientos UV-C fue estadísticamente significativa con respecto al testigo en la inoculación que se realizó a los 6 días del tratamiento UV-C en observaciones a los 3 días de la inoculación pero no así a los 7 días a las dos dosis UV-C aplicadas, con mejores resultados a la dosis más alta aplicada, como se indica en la Figura 5.21.



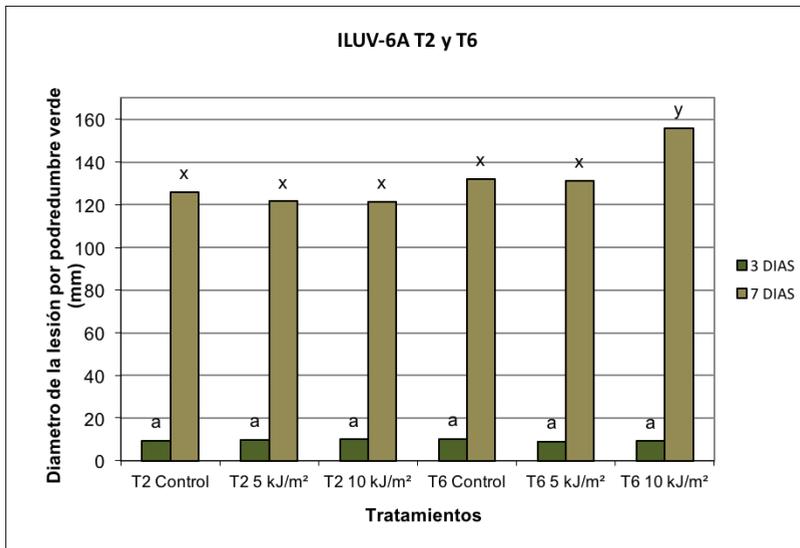
**Figura 5.20:** Severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique de recolección temprana.



**Figura 5.21:** Porcentaje de incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique de recolección temprana inoculadas a los 6 días del tratamiento UV-C con el prototipo I.



**Figura 5.22:** Comparación de la incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 2 y 6 días de las dos dosis UV-C aplicadas.



**Figura 5.23:** Comparación de la severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 2 y 6 días de las dos dosis UV-C aplicadas.

En la Figura 5.24 se muestran dos fotografías de los resultados de esporulación en mandarinas Ortanique de maduración temprana inoculadas 2 días después del tratamiento, del control  $T_0$  y tratadas a la dosis UV-C  $T_2$   $10 \text{ kJ/m}^2$ , a los 7 días de la inoculación.

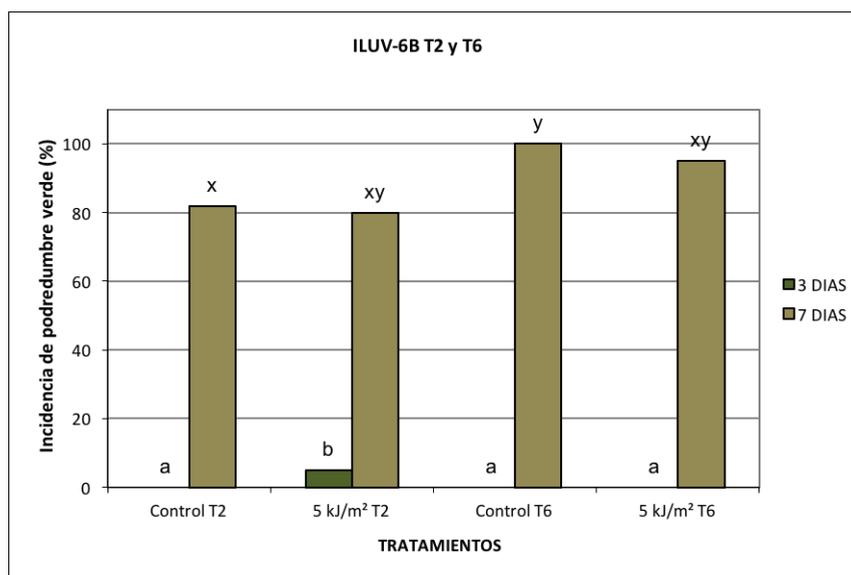


**Figura 5.24:** ILUV 6A  $T_2$ . Aspecto que presentaban las mandarinas Ortanique antes del recuento de la fruta esporulada a los 7 días de la inoculación. La fotografía de la izquierda muestra el tratamiento control  $T_0$ , y la de la derecha el tratamiento  $T_2$   $10 \text{ kJ/m}^2$  inoculadas a 2 días del tratamiento.

### ILUV-6B

En las Figuras 5.25 y 5.26 se indican los resultados de incidencia y severidad de los ensayos con mandarina Ortanique de maduración tardía.

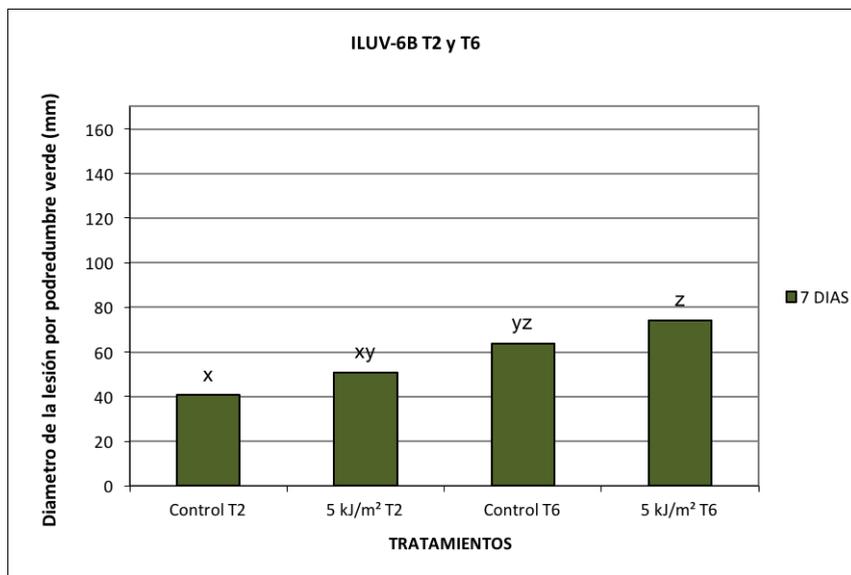
Los resultados comparativos de los porcentajes de incidencia de la fruta inoculada y de la severidad a los 2 y 6 días de los tratamientos UV-C en mandarinas Ortanique de maduración tardía se indica en la Figura 5.25. La severidad con inoculación a los 6 días después del tratamiento se indica en la Figura 5.26.



**Figura 5.25:** Resultados comparativos de los porcentajes de incidencia a los 3 y 7 días en mandarinas Ortanique de recolección tardía inoculadas a los 2 y 6 días del tratamiento UV-C a 5 kJ/m<sup>2</sup>.

Los resultados del ensayo indican que existieron diferencias significativas, en cuanto a la incidencia a los 3 días de la inoculación con respecto al testigo, del tratamiento UV-C en fruta que se inoculó a los 2 días del tratamiento. No sucedió así a los 7 días de la inoculación que se realizó a los 6 días del tratamiento (Figura 5.25).

En este ensayo los resultados de severidad a los 7 días con mandarinas Ortanique de recolección tardía, indican que no existieron diferencias significativas con respecto a los testigos para las inoculaciones que se realizaron a los 2 y 6 días de los tratamientos a dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> (Figura 5.26).



**Figura 5.26:** Resultados comparativos de la severidad a los 7 días en mandarinas Ortañique de recolección tardía inoculadas a los 2 y 6 días del tratamiento UV-C a 5 kJ/m<sup>2</sup>.

### 5.3.3 Ensayos ILUV7

En la Figura 5.27 se recogen los resultados de la incidencia con los distintos tratamientos realizados. Los resultados del ensayo indican que existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia respecto al testigo del tratamiento T<sub>2</sub> (UV-C) a dosis 5 kJ/m<sup>2</sup> a los 3 días de la inoculación, no a los 7 días con el prototipo I.

Los resultados del ensayo indican que existieron diferencias significativas en cuanto a la severidad respecto al testigo del tratamiento T<sub>3</sub> (AG) a los 7 días de la inoculación (Figura 5.28).

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo de con distintos tratamientos efectuados (Figura 5.29).

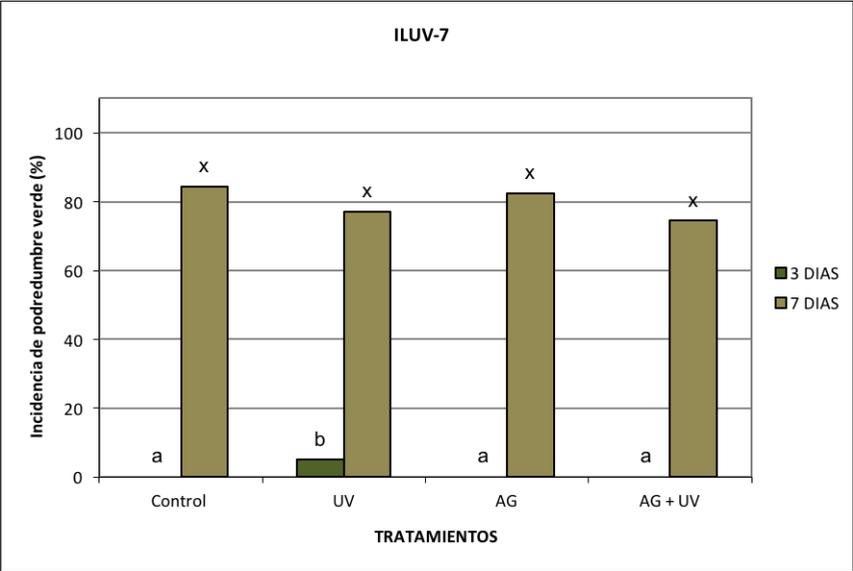


Figura 5.27: Porcentaje de incidencia en mandarinas Ortanique inoculadas 2 días después de los tratamientos a los 3 y 7 días de la inoculación.

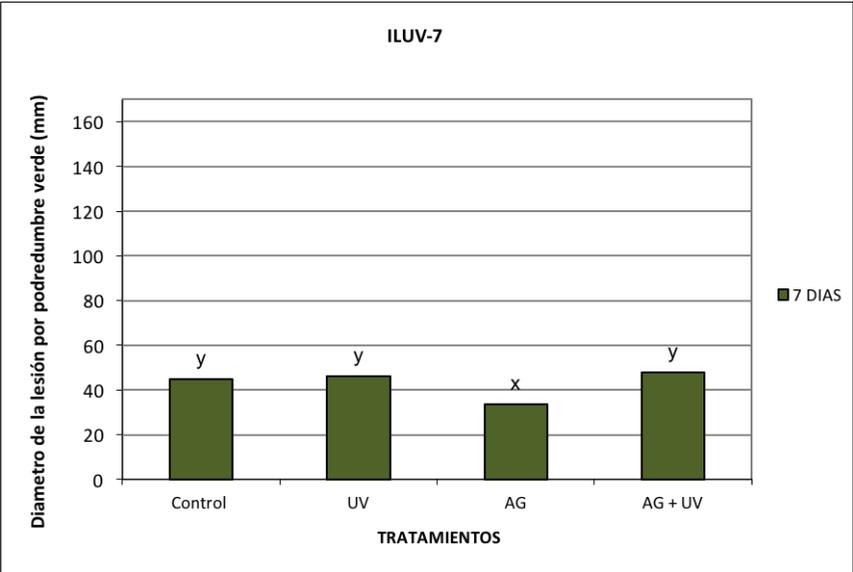
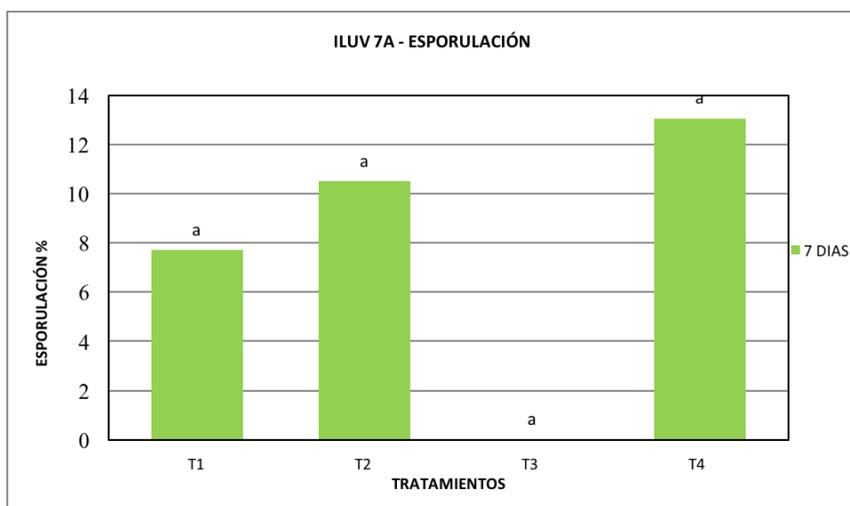
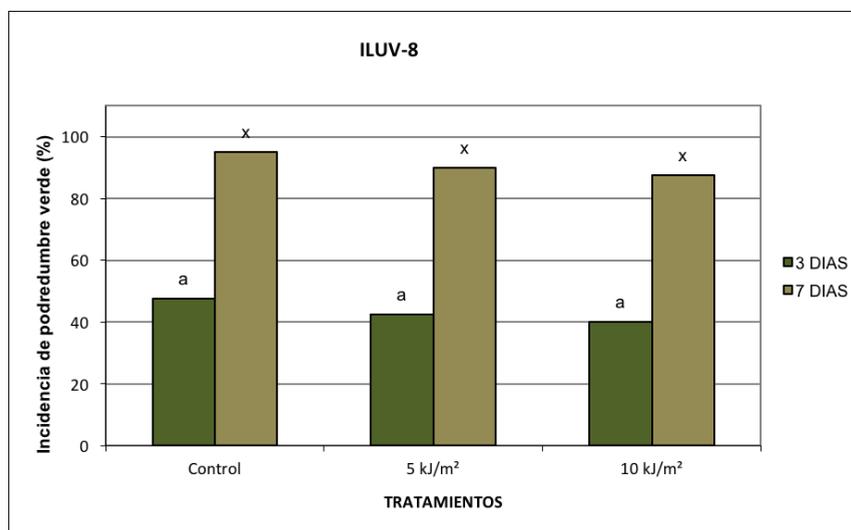


Figura 5.28: Severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en mandarinas Ortanique a los 7 días de la inoculación.



**Figura 5.29:** Resultados de la esporulación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 2 días del tratamiento, a los 7 días de la inoculación.

### 5.3.4 Ensayos ILUV8

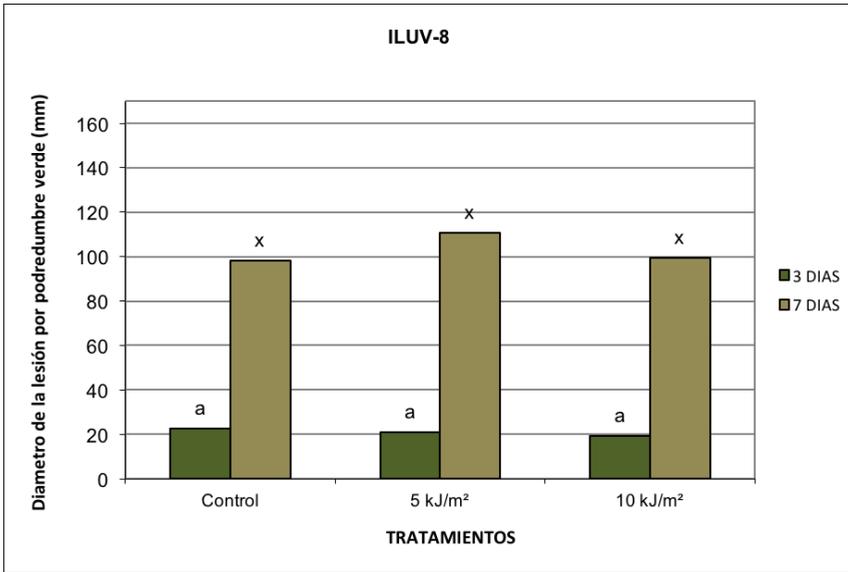


**Figura 5.30:** Porcentaje de incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de recolección temprana.

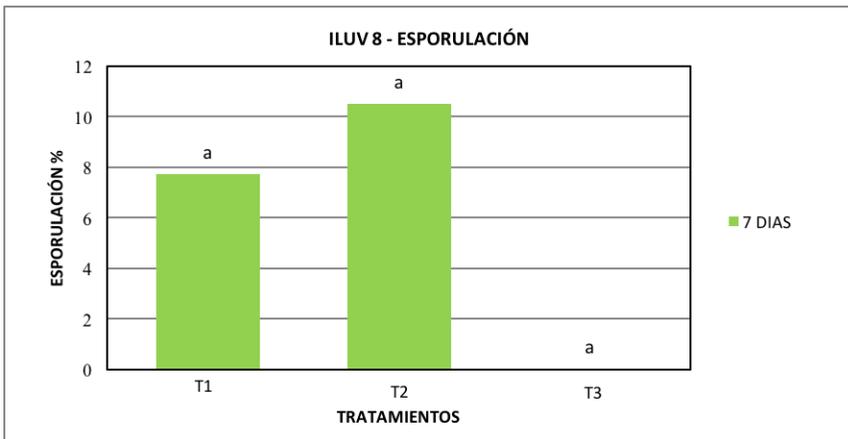
Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas de la incidencia con respecto al testigo con los distintos tratamientos UV-C efectuados a las dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> y 10 kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo I, a los 3 y 7 días de la inoculación. Las inoculaciones en las naranjas se realizaron 48h después de los tratamientos UV-C (Figura 5.30).

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la severidad con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> y 10 kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo I, a los 3 y 7 días respectivamente después de la inoculación (Figura 5.31).

Los resultados del ensayo indican que si existieron diferencias significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> y 10kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo I, a los 7 días después de la inoculación (Figura 5.32).



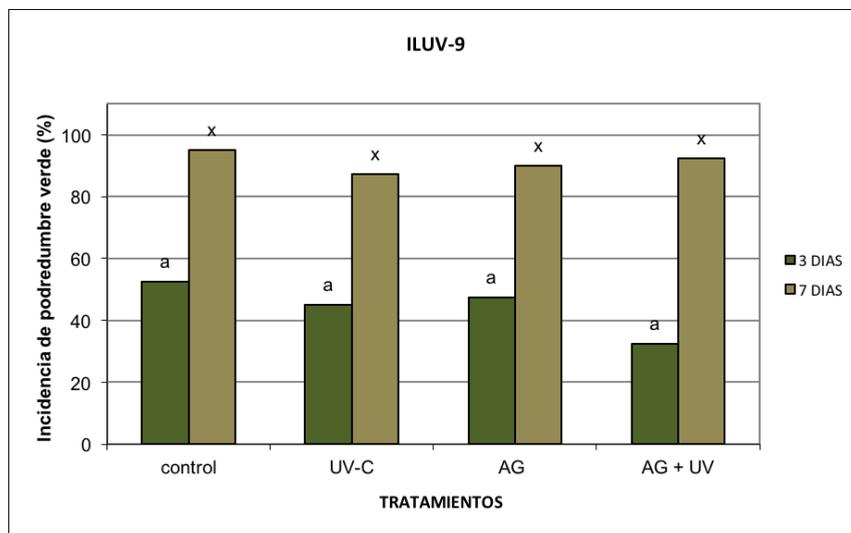
**Figura 5.31:** Severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de maduración temprana.



**Figura 5.32:** Resultados de la esporulación a los 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de recolección temprana.

### 5.3.5 Ensayos IUV9

Se presentan a continuación los resultados de un ensayo en naranjas Valencia-late realizado con el prototipo I.

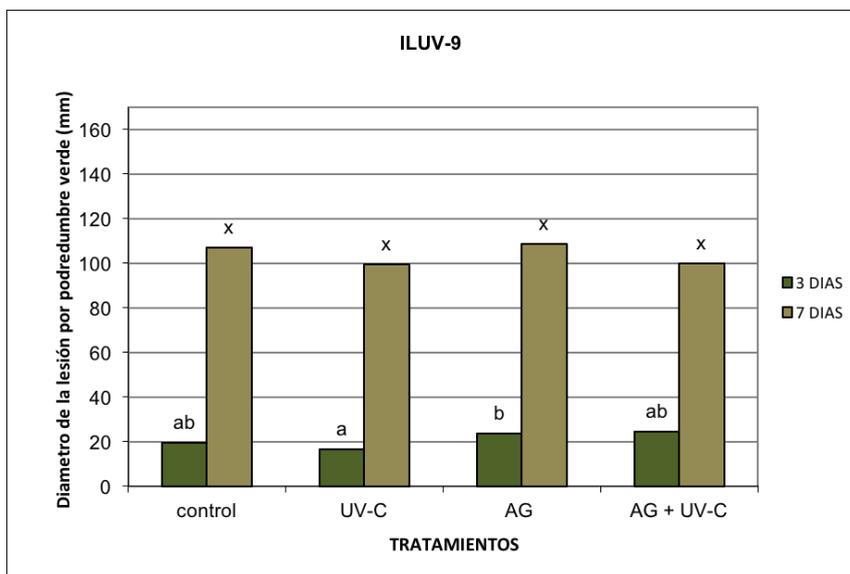


**Figura 5.33:** Porcentaje de incidencia a los 3 y 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de recolección temprana.

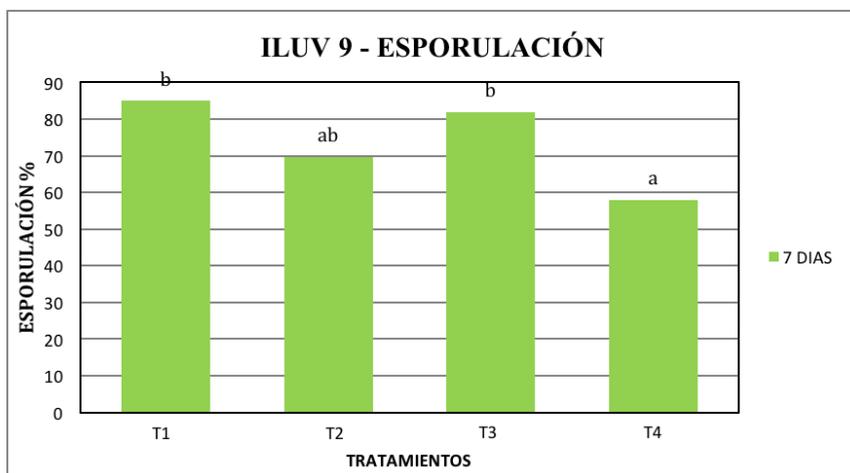
Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a los 3 y 7 días después de la inoculación (Figura 5.33). Las inoculaciones se realizaron 48h después de los tratamientos. El tratamiento T<sub>4</sub> (AG+UV-C) no mejoró la eficacia con respecto al tratamiento T<sub>2</sub> (UV-C) y al control T<sub>0</sub>.

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la severidad del tratamiento T<sub>2</sub> (UV-C) con respecto al testigo 3 y 7 días después de la inoculación (Figura 5.34).

Los resultados del ensayo indican que si existieron diferencias significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo del tratamiento T<sub>4</sub> a la dosis de UV-C 5 kJ/m<sup>2</sup>. El tratamiento T<sub>2</sub>(UV-C) no mejoró su eficacia con respecto al testigo (Figura 5.35).

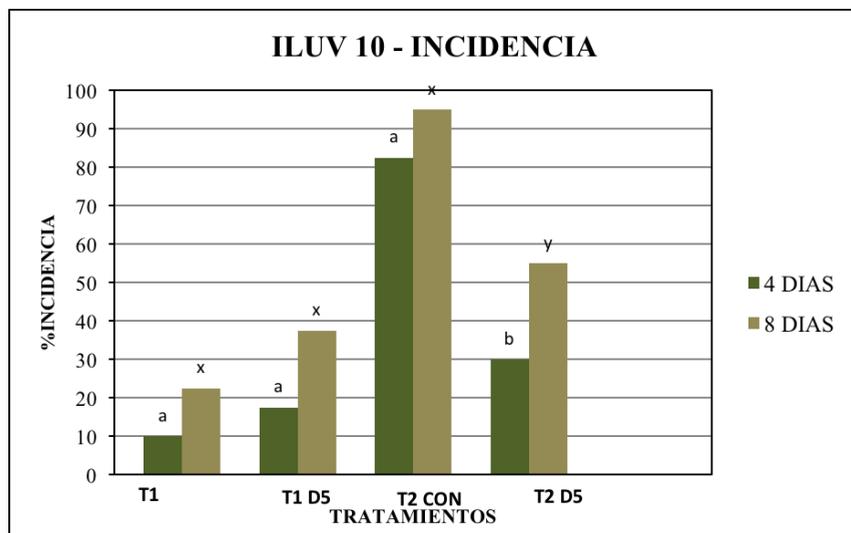


**Figura 5.34:** Severidad a los 3 y 7 días de la inoculación en naranjas Valencia-late de recolección temprana.



**Figura 5.35:** Resultados de la esporulación en naranjas Valencia-late a los 7 días de la inoculación.

### 5.3.6 Ensayos ILUV10

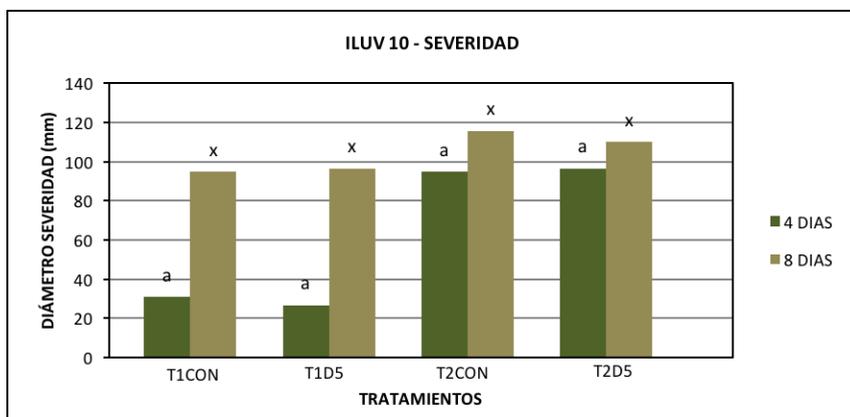


**Figura 5.36:** Comparación de los porcentajes de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación en naranjas Navel Lane -late con inoculación a los 2 y 6 días de los tratamientos.

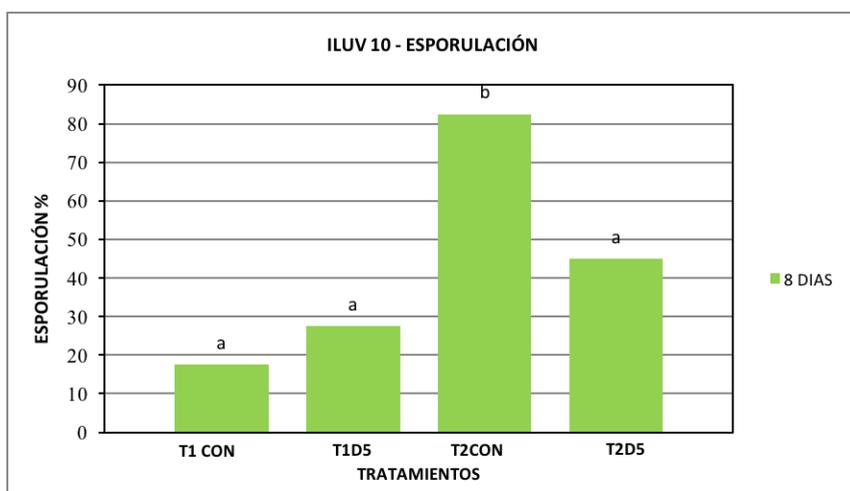
Los resultados del ensayo indican que si existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia con respecto al testigo de los distintos tratamientos aplicados a la dosis UV-C 5 kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo III, para inoculaciones efectuadas a los 6 días después de la aplicación. Cuando la inoculación se realizó a los 2 días no hubieron diferencias con respecto al testigo (Figura 5.36).

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la severidad con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a la dosis UV-C 5 kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo III (Figura 5.37).

Los resultados del ensayo indican que si existieron diferencias significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo del tratamiento efectuado a la dosis UV-C 5 kJ/m<sup>2</sup> para inoculaciones efectuadas a los 6 días después de la aplicación (Figura 5.38).

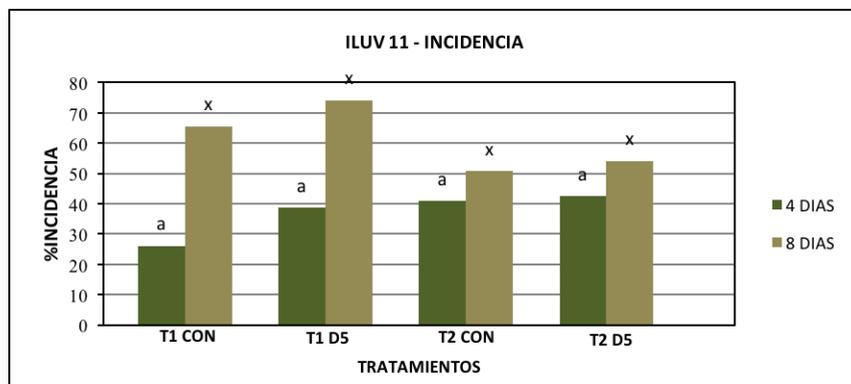


**Figura 5.37:** Severidad a los 4 y 7 días de la inoculación en naranjas Navel Lane-late con inoculación a los 2 y 6 días del tratamiento.



**Figura 5.38:** Resultados de la esporulación a los 7 días con inoculación a los 2 y 6 días de los tratamientos.

### 5.3.7 Ensayos ILUV11



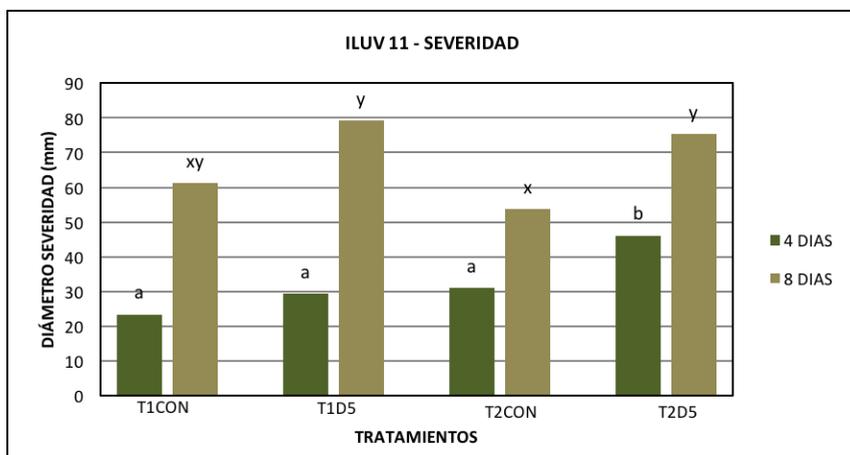
**Figura 5.39:** Comparación del porcentaje de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 4 y 6 días del tratamiento UV-C.

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia con respecto al testigo del tratamiento efectuado a la dosis UV-C de 5 kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo III. Las inoculaciones se efectuaron en las mandarinas a los 4 y 6 días después del tratamiento, a los 4 y 8 días de la inoculación (Figura 5.39).

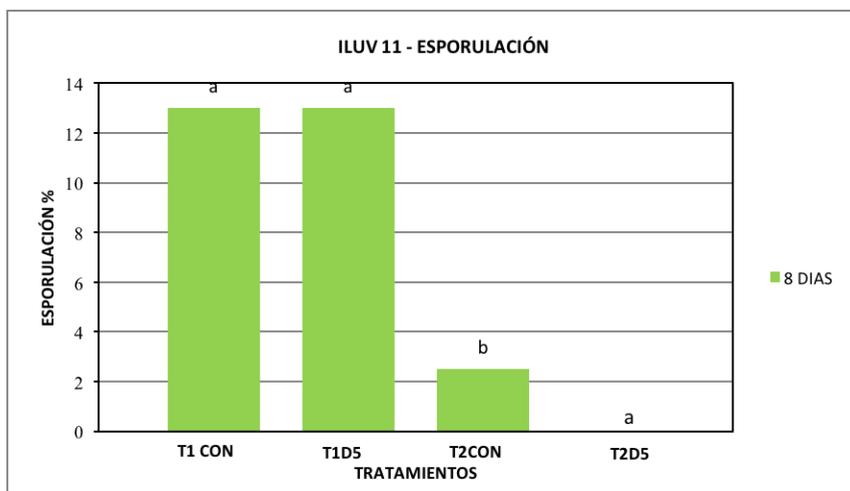
En este ensayo se observó que el control no pudo ser como se esperaba.

Los resultados del ensayo también indican que existieron diferencias significativas en cuanto a la severidad con respecto al testigo de los tratamientos efectuados a la dosis UV-C de 5 kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo III, para las inoculaciones efectuadas a los 6 días después de la aplicación UV-C a los 4 y 8 días. La severidad con el tratamiento T<sub>2</sub> D5 no mejoró el T<sub>2</sub> control (Figura 5.40).

Los resultados del ensayo indican que si existieron diferencias significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo de los tratamientos efectuados a la dosis UV-C de 5 kJ/m<sup>2</sup> con el prototipo III, para inoculaciones efectuadas a los 6 días después de la aplicación UV-C a los 8 días. La esporulación con el tratamiento T<sub>2</sub> D5 mejoró el T<sub>2</sub> control (Figura 5.41).

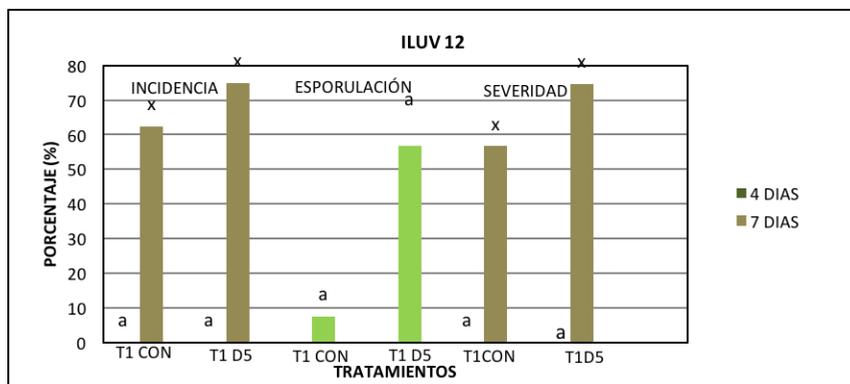


**Figura 5.40:** Severidad a los 4 y 8 días de la inoculación en mandarinas Ortanique inoculadas a los 4 y 6 días del tratamiento UV-C.



**Figura 5.41:** Resultados de la esporulación en mandarinas Ortanique a los 7 días inoculadas a los 4 y 6 días del tratamiento UV-C.

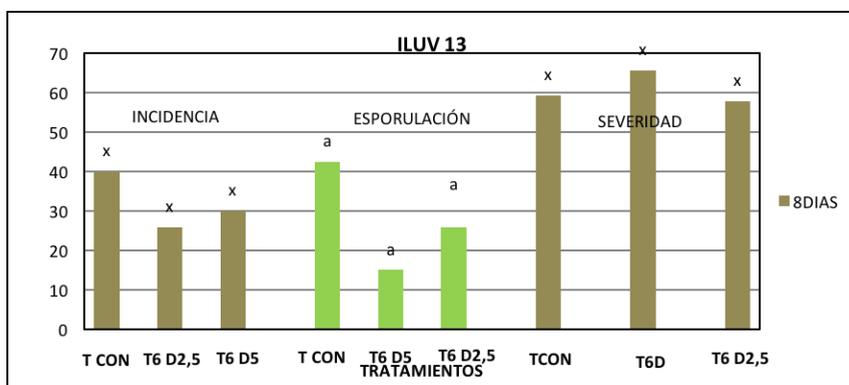
### 5.3.8 Ensayos ILUV12



**Figura 5.42:** Comparación del porcentaje de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación, en las columnas de la izquierda. En la parte central, se presentan los resultados de la esporulación a los 8 días en mandarinas Ortanique y en la parte derecha, la severidad a los 4 y 8 días de la inoculación.

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en la incidencia, severidad y esporulación con respecto al testigo. La inoculación se realizó a los 6 días de los tratamientos UV-C dosis 5 kJ/m<sup>2</sup>.

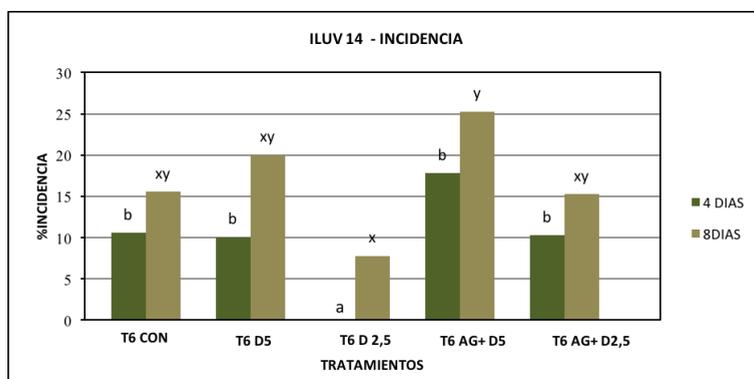
### 5.3.9 Ensayos ILUV13



**Figura 5.43:** Comparación del porcentaje de incidencia, esporulación y severidad a los 4 y 8 días de la inoculación en mandarinas Ortanique.

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en la incidencia, severidad y esporulación con respecto al testigo. La inoculación se realizó a los 6 días de los tratamientos a las dos dosis UV-C aplicadas T<sub>6</sub> D2,5 y T<sub>6</sub> D5 (Figura 5.43).

### 5.3.10 Ensayos ILUV14

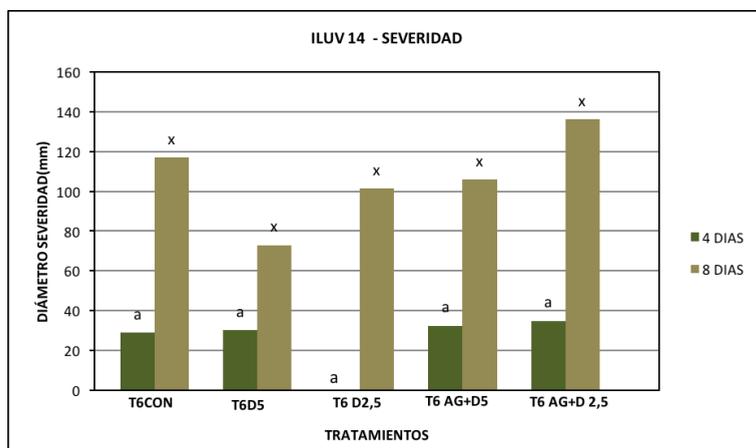


**Figura 5.44:** Porcentaje de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación en naranjas Valencia-late.

Los resultados del ensayo indican que existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia respecto al testigo del tratamiento T<sub>6</sub> D2,5. La secuencia de combinación del tratamiento T<sub>6</sub> (AG+D2,5) no mejoró el resultado del T<sub>6</sub> control

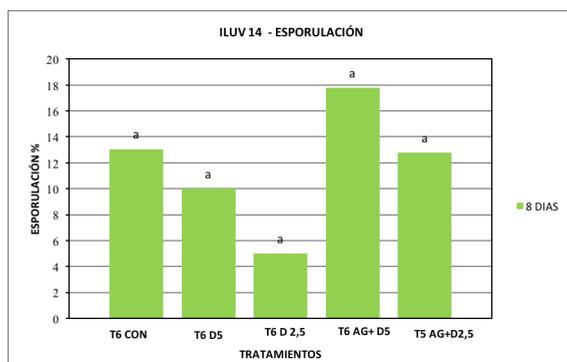
a los 4 y 8 días de la inoculación. Los frutos fueron inoculados 6 días después de los distintos tratamientos (Figura 5.44).

La secuencia de combinación T<sub>6</sub> (AG+D2,5) fue mejor que la secuencia T<sub>6</sub> (AG+D5).



**Figura 5.45:** Severidad a los 4 y 8 días de la inoculación en naranjas Valencia-late inoculadas a los 6 días de los tratamientos.

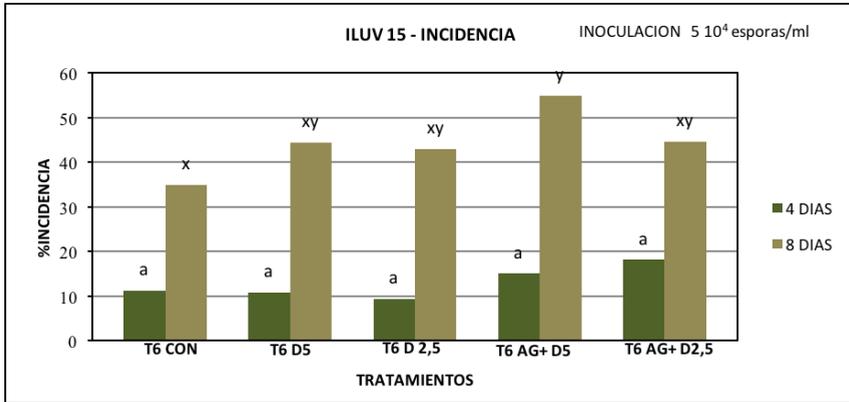
Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la severidad respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados a las dosis aplicadas con el prototipo III y con las secuencias de combinación ensayadas, a los 4 y 8 días de las inoculaciones (Figura 5.45).



**Figura 5.46:** Resultados de la esporulación en naranjas Valencia-late a los 8 días con inoculación a los 6 días del tratamiento de UV, para dos dosis de aplicación UV en combinación con agua caliente.

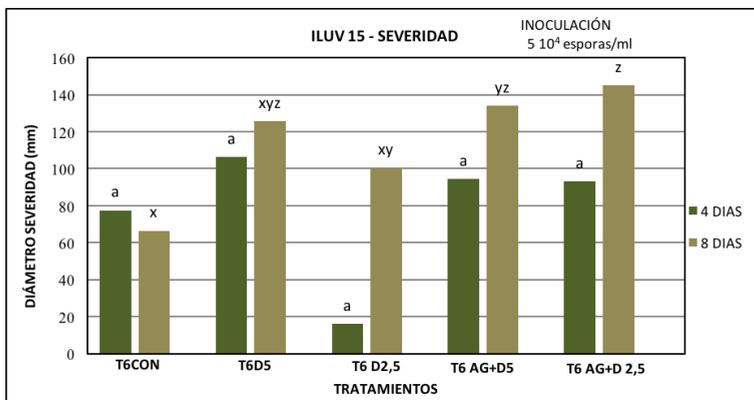
No existieron diferencias significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo entre los distintos tratamientos, a los 8 días de las inoculaciones (Figura 5.46).

### 5.3.11 Ensayos ILUV15



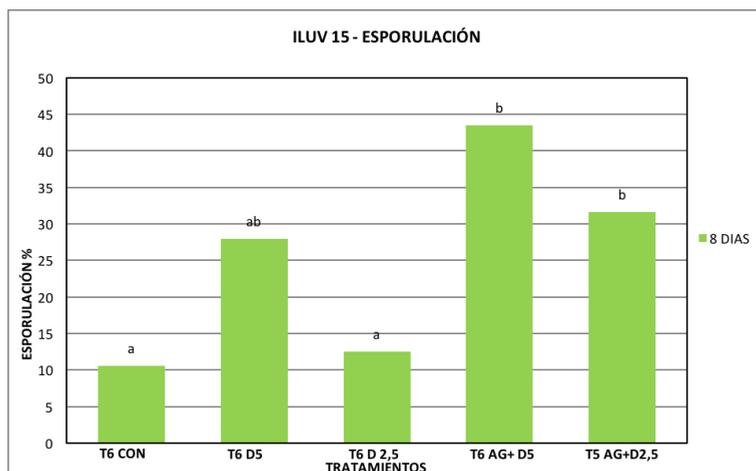
**Figura 5.47:** Porcentaje de incidencia a los 4 y 8 días de la inoculación en naranjas Valencia-late inoculadas a los 6 días de los tratamientos.

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la incidencia con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados. Los frutos fueron inoculados 6 días después de la aplicación de las distintas dosis UV-C a los 4 días de la inoculación. Si existieron diferencias significativas a los 8 días entre la secuencia de combinación T<sub>6</sub> (AG+D2,5) y el testigo. Esta secuencia de combinación no mejoró la eficacia respecto al testigo (Figura 5.47).



**Figura 5.48:** Severidad a los 4 y 8 días de los distintos tratamientos realizados en naranjas Valencia-late.

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la severidad con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados. Los frutos fueron inoculados 6 días después de la aplicación de las distintas dosis UV-C a los 4 días de la inoculación. Si existieron diferencias significativas a los 8 días entre las secuencias de combinación de los tratamientos T<sub>6</sub> (AG+D5) y T<sub>6</sub> (AG+D2,5) con respecto al testigo. Estas secuencias de combinación no mejoraron los resultados de la severidad respecto al testigo (Figura 5.48).



**Figura 5.49:** Resultados de la esporulación en los distintos tratamientos en naranjas Valencia-late a los 8 días.

Los resultados del ensayo indican que no existieron diferencias significativas en cuanto a la esporulación con respecto al testigo de los distintos tratamientos efectuados. Los frutos fueron inoculados 6 días después de la aplicación de las distintas dosis UV-C a los 8 días de la inoculación. Si existieron diferencias significativas entre las secuencias de combinación de los tratamientos T<sub>6</sub> (AG+D5) y T<sub>6</sub> (AG+D2,5) con respecto al testigo. Estas secuencias de combinación no mejoraron los resultados de la esporulación respecto al testigo (Figura 5.49).

Se ha procedido a evaluar los daños en la corteza de los cítricos en los dos ensayos anteriores. Para ello se ha diseñado una escala de valoración de 0-3 a los 3 días de los tratamientos. Los resultados aparecen en la tabla Tabla 5.5.

**Tabla 5.5:** Valores medios de los daños observados en los ensayos ILUV14 e ILUV15 de naranjas Valencia-late a los 3 días de los tratamientos.

Categoría	Daños	Piel
Cat.1	Ausencia	0
Cat.2	Ligeros	1
Cat.3	Moderados	2
Cat.4	Severos	3

Tratamiento	Daños 0-3 ILUV14	Daños 0-3 ILUV15
CONTROL	0	0
UV-C 5kJ/m <sup>2</sup>	1.07	0.6
UV-C 2.5kJ/m <sup>2</sup>	0.07	0.21
AG+UV-C 5kJ/m <sup>2</sup>	0.98	0.28
AG+UV-C 2.5kJ/m <sup>2</sup>	0.61	0.16

En la Tabla 5.5 se observa que los daños en la corteza fueron menores en las naranjas Valencia-late de recolección tardía que en las de recolección temprana, para las mismas dosis aplicadas. Los daños en la piel de los frutos fueron menores cuando antes de aplicar la radiación, se realizó el baño con agua caliente en la secuencia de combinación (AG+UV-C) a la dosis 5kJ/m<sup>2</sup> respecto al tratamiento (UV-C) a la dosis 5kJ/m<sup>2</sup>. No sucedió así a las dosis bajas de irradiación. En este caso, la secuencia de combinación (AG+UV-C) a la dosis 2,5kJ/m<sup>2</sup> no mejoró el daño en la piel de los frutos respecto al tratamiento a la dosis (UV-C) 2,5kJ/m<sup>2</sup>.

El resumen de los ensayos efectuados en la campaña 2010-2011, se indica en la Tabla 5.6.

**Tabla 5.6:** Resumen de los tratamientos efectuados en la campaña 2010-11.

	Cultivar	Tratamiento	Red. incidencia	Red. Diámetro	Daños
ILUV10	Navel Lane-late	T <sub>2</sub> ,D <sub>5</sub>	NO	NO	NO
		T <sub>6</sub> ,D <sub>5</sub>	SI	NO	NO
ILUV11	Ortanique	T <sub>4</sub> ,D <sub>5</sub>	NO	NO	NO
		T <sub>6</sub> ,D <sub>5</sub>	NO	NO	NO
ILUV12	Ortanique	T <sub>6</sub> ,D <sub>5</sub>	NO	NO	NO
ILUV13	Ortanique	T <sub>6</sub> ,D <sub>2,5</sub>	SI	NO	NO
		T <sub>6</sub> ,D <sub>5</sub>	NO	NO	NO
ILUV14	Valencia- late	T <sub>6</sub> ,D <sub>2,5</sub>	SI	NO	SI, ligeros
		T <sub>6</sub> ,D <sub>5</sub>	NO	NO	SI, moderado
		T <sub>6</sub> ,AG+D <sub>2,5</sub>	NO	NO	SI, ligeros
		T <sub>6</sub> ,AG+D <sub>5</sub>	NO	NO	SI, moderado
ILUV15	Valencia-late	T <sub>6</sub> ,D <sub>2,5</sub>	NO	NO	SI, ligeros
		T <sub>6</sub> ,AG+D <sub>5</sub>	NO	NO	SI, ligeros
		T <sub>6</sub> ,AG+D <sub>2,5</sub>	NO	NO	SI, ligeros
		T <sub>6</sub> ,AG+D <sub>5</sub>	NO	NO	SI, ligeros

## 5.4 Campaña 2011-2012

### 5.4.1 Ensayos ILUV16

El estudio estadístico aparece reflejado en la Tabla 5.7

Mientras la fruta no irradiada y desverdizada aumentó en 9.5 unidades el índice de cambio de color (ICC), la irradiada UV-C a  $2.5 \text{ kJ/m}^2$  lo hizo en 7.4 unidades y la irradiada UV-C a  $5 \text{ kJ/m}^2$  en 5.2 unidades. Los resultados ICC del ensayo en las dos variedades, indican que existieron diferencias significativas con respecto al testigo. Por variedades, las mandarinas Clementes, que inicialmente tenían una coloración externa más verde, cambiaron más de coloración que las Navel Lane-late.

No hubo interacciones entre las dos variedades y los tratamientos, es decir, los tratamientos UV-C inhibieron de igual manera la desverdización en las dos variedades tratadas.

**Tabla 5.7:** Captura de pantalla del ANOVA de los resultados obtenidos, por tratamiento, variedad e interacciones.**ILUV: Efecto sobre el desverdizado**

ANOVA Table for cambio de color by tratamiento

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	374,202	2	187,101	17,11	0,0000
Within groups	1279,69	117	10,9375		
Total (Corr.)	1653,89	119			

Multiple Range Tests for cambio de color by tratamiento

Method: 95,0 percent LSD

tratamiento	Count	Mean	Homogeneous Groups
UV 5	40	5,2385	X
UV 2,5	40	7,4115	X
control	40	9,564	X

Mientras que la fruta no irradiada y llevada a desverdizar aumenta en 9.5 unidades el índice de color, la irradiada con 2.5 kJ/m<sup>2</sup> lo hace en 7.4 unidades y la irradiada con 5 kJ/m<sup>2</sup> en 5.2 unidades. Las diferencias incluyen a las dos variedades tratadas y son estadísticamente significativas.

ANOVA Table for cambio de color by cultivar

Analysis of Variance					
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	590,254	1	590,254	65,48	0,0000
Within groups	1063,63	118	9,01385		
Total (Corr.)	1653,89	119			

Multiple Range Tests for cambio de color by cultivar

Method: 95,0 percent LSD

cultivar	Count	Mean	Homogeneous Groups
Navel Lane	60	5,18683	X
Clemenules	60	9,6225	X

Por variedades, las mandarinas Clemenules, que inicialmente estaban más verdes, cambian más de color que las Navel Late.

Analysis of Variance for cambio de color - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
<b>MAIN EFFECTS</b>					
A:cultivar	590,254	1	590,254	100,21	0,0000
B:tratamiento	374,202	2	187,101	31,77	0,0000
<b>INTERACTIONS</b>					
AB	17,9832	2	8,9916	1,53	0,2217
RESIDUAL	671,449	114	5,88991		
TOTAL (CORRECTED)	1653,89	119			

All F ratios are based on the residual mean square error.

No hay interacciones entre cultivar y tratamiento, es decir, los tratamientos UV inhiben de igual manera la desverdización en las dos variedades tratadas.

## 5.5 Resultados de determinación de la calidad de los frutos

**Color** - Los resultados en los distintos ensayos se indican en la Tabla 5.8:

**Tabla 5.8:** Valores medios de ICC obtenidos en los distintos ensayos efectuados en las variedades de cítricos *cv* 'Valencia-late' y *cv* 'Ortanique'.

	VALENCIA – LATE -ICC			ORTANIQUE -ICC		
	CAMPAÑA 2009	ILUV 3	0,219	a	ILUV 1	0,698
ILUV 4		0,35	b	ILUV 2	0,78	a
CAMPAÑA 2010	ILUV 9	0,54	c	ILUV 7	0,823	b

No se observaron diferencias significativas en los resultados de ICC en los primeros ensayos de las mandarinas Ortanique. En naranjas Valencia-late, los resultados de ICC de los ensayos efectuados en la campaña 2009, si que difirieron significativamente con respecto los efectuados en la campaña 2010.

**Grosor corteza** - Los resultados en los distintos ensayos se indican en la Tabla 5.9:

**Tabla 5.9:** Valores medios del grosor de la corteza medidos en mm.

	VALENCIA – LATE -mm			ORTANIQUE		
	CAMPAÑA 2009	ILUV 3	4,7	b	ILUV 1	3,34
ILUV 4		4,33	a	ILUV 2	3,14	a
CAMPAÑA 2010	ILUV 9	5,04	b	ILUV 7	2,46	b

No se observaron diferencias significativas en los resultados del grosor de la corteza en los primeros ensayos de las mandarinas Ortanique. En naranjas Valencia-late,

si que difirió el grosor de la corteza de la fruta de los ensayos efectuados en la campaña 2009.

**Grosor flavedo** - Los resultados en los distintos ensayos se indican en la Tabla 5.10:

**Tabla 5.10:** Valores medios del grosor del flavedo medidos en mm.

	VALENCIA – LATE -mm			ORTANIQUE mm		
	CAMPAÑA 2009	ILUV 3	2,27	a	ILUV 1	1,84
	ILUV 4	1,91	b	ILUV 2	1,65	a
CAMPAÑA 2010	ILUV 9	2,45	a	ILUV 7	1,72	a

Los resultados indican que no existieron diferencias del parámetro medido en mandarinas Ortanique. Si existieron diferencias en naranjas Valencia-late.

**Penetrómetro** - Los resultados en los distintos ensayos se indican en la Tabla 5.11:

**Tabla 5.11:** Valores medios del penetrómetro medidos en Kgf.

	VALENCIA – LATE Kgf			ORTANIQUE Kgf		
	CAMPAÑA 2009	ILUV 3	4,05	a	ILUV 1	5,11
	ILUV 4	3,45	a	ILUV 2	4,18	b
CAMPAÑA 2010	ILUV 9	5,58	b	ILUV 7	5,8	c

Los resultados de los ensayos de penetromía, indicaron que existieron diferencias entre los frutos de recolección temprana y tardía en mandarinas Ortanique. Los valores medios más bajos, indicaron que las mandarinas se encontraban más turgentes en los ensayos de naranjas Valencia-late y mandarinas Ortanique.

**Resistencia (Rotura)** - Los resultados en los distintos ensayos se indican en la Tabla 5.12:

**Tabla 5.12:** Valores medios de rotura medidos en N/cm<sup>2</sup>.

	VALENCIA – LATE- N/cm2			ORTANIQUE - N/cm2		
CAMPAÑA 2009	ILUV 3	0,235	a	ILUV 1	0,276	b
	ILUV 4	0,253	a	ILUV 2	0,305	b
CAMPAÑA 2010	ILUV 9	0,236	a	ILUV 7	0,235	a

Los resultados de este parámetro en los distintos ensayos, indican que tampoco existieron diferencias significativas entre las muestras de frutos de recolección temprana y tardía en naranjas Valencia-late. Si que existieron diferencias significativas en las mandarinas Ortanique recolectadas en 2010.

**Compresión** - Los resultados en los distintos ensayos se indican en la Tabla 5.13:

**Tabla 5.13:** Valores medios de compresión medidos en Kgf.

	VALENCIA – LATE Kgf			ORTANIQUE Kgf		
CAMPAÑA 2009	ILUV 3	1,84	c	ILUV 1	2,18	b
	ILUV 4	2,12	b	ILUV 2	1,76	c
CAMPAÑA 2010	ILUV 9	2,52	a	ILUV 7	2,61	a

Los resultados de este parámetro en los distintos ensayos, indican que existieron diferencias significativas en los valores de compresión en mandarinas Ortanique y naranjas Valencia-late. Los valores medios fueron menores en las mandarinas Ortanique de recolección tardía. También existieron diferencias en naranjas Valencia-late pero no se obtuvieron valores más bajos en el ensayo con naranjas de recolección tardía.



# Capítulo 6

## Discusión

### **6.1 Influencia de la fruta en los resultados de los tratamientos efectuados.**

El conocimiento de las dosis óptimas de tratamiento y la fisiología de los productos frescos conforman la base para establecer modelos de su comportamiento bajo el efecto de la tecnología UV-C, o de las diferentes tecnologías postcosecha. La predicción del comportamiento a través de modelos predictivos centra las investigaciones que actualmente se realizan en varios centros de investigación postcosecha españoles (Cabezas y col., 2015).

A la partir de los resultados obtenidos en las determinaciones de calidad de los ensayos, se pueden determinar si existe correlación entre el porcentaje de incidencia para una misma dosis de irradiación UV-C, y los parámetros externos que determinan la calidad del fruto. El número de ensayos en los que se han determinado los parámetros de calidad indicados en las campañas 2009 y 2010 no permiten establecer todavía modelos de regresión predictivos robustos sobre el comportamiento de las distintas variedades de cítricos.

### **6.2 Respuestas en frutas cítricas**

Como antecedentes al diseño de nuestros aplicadores de UV-C, denominados prototipo I, II, y III, para utilizarlos sobre cítricos en fresco, e integrar el de mayor interés en una línea de manipulación comercial, un prototipo en tren continuo fue diseñado en 1997 para proporcionar una dosis baja de luz UV-C en la superficie de la fruta en una línea de manipulado de manzana y probado para su control

sobre *Penicillium expansum*, hongo causante de la podredumbre azul de la fruta de pepita. Consistía en una fila de lámparas instaladas en un bastidor por encima de una cinta transportadora. La dosificación de la luz UV-C aplicada a la superficie de la fruta fue regulada mediante la variación de la velocidad de la cinta transportadora. El podrido después de 28 días de almacenamiento de manzanas 'Empire' se redujo un 52% en relación con los controles no tratados cuando el fruto circuló a una velocidad de 6,2 m/min, y la dosis de aplicación fue de 1,38 kJ/m<sup>2</sup> en el reactor UV-C (Wilson y col., 1997).

Posteriormente estos investigadores junto a otros centraron sus investigaciones en el uso de agua caliente a distintas temperaturas y tiempos de exposición (bien sola o junto con fungicidas de síntesis de postcosecha para reducir las podredumbres de los cítricos especialmente *P. digitatum* y aumentar así el tiempo de comercialización de los mismos (Porat y col., 2000a; Fallik, 2004).

El interés de las investigaciones de la presente tesis doctoral ha sido buscar estrategias para el control de enfermedades de postcosecha que disminuyan el uso de fitosanitarios por interés de los consumidores, reduciendo el impacto ambiental y la capacidad de los hongos de producir cepas resistentes.

La radiación UV-C presenta efectos directos (como germicida) e indirectos de activación de los mecanismos de defensa del fruto) frente a enfermedades de postcosecha de cítricos.

Tratamientos con aplicadores conteniendo lámparas de UV-C han sido realizados por varios investigadores para evaluar en el fruto su capacidad antifúngica (Ben-Yehoshua y col., 1992; Rodov y col., 1992; Droby y col., 1993).

La evidencia experimental de los trabajos de esta tesis indica que el efecto de la radiación UV-C en la reducción de *P. digitatum*, en frutos cítricos es más un fenómeno de resistencia inducida que un efecto germicida directo sobre las estructuras fúngicas.

Puesto que la radiación UV-C es un tratamiento superficial las hifas del hongo están protegidas dentro de la herida de la corteza del cítrico, cosa que no ocurre con las esporas que son eliminadas por la radiación al estar expuestas de manera directa en la superficie.

Se han encontrado diferencias significativas en cuanto al porcentaje de incidencia en el podrido originado por *P. digitatum* de la aplicación UV-C a la misma dosis de tratamiento en los resultados obtenidos en las recolecciones tempranas y tardías de la variedad *cv*' *Ortanique*', siendo menos efectivas en los ensayos con fruta procedente de recolecciones tardías.

De forma similar. resultados de un estudio en pomelos mostraron que la radiación UV-C fue más eficaz en la inducción de niveles más altos de fitoalexinas en la

fruta cosechada en febrero y mayo que en noviembre. Esto puede ser de particular importancia debido a que los cítricos en el final de la temporada por lo general han perdido gran parte de la resistencia natural a enfermedades que poseen cuando son inmaduros. Sólo la dosis de irradiación de  $3,0 \text{ kJ/m}^2$  de UV-C afectó el desarrollo del color de pomelo *cv' Star Ruby'* cosechado en noviembre, en comparación con la fruta no tratada. Para pomelos 'Star Ruby', la dosis óptima fue de  $0,5 \text{ kJ/m}^2$ , para un rango de dosis investigadas de  $0,5- 3 \text{ kJ/m}^2$ . Los niveles de escoparona y escopoletina se incrementaron con todas las dosis de UV. Se produjo un pardeamiento de la corteza y la necrosis de los tejidos a dosis UV  $>1,5 \text{ kJ/m}^2$  (D'hallewin, 2000).

En algunos casos la capacidad antifúngica del tratamiento UV-C y los posibles daños en la piel del cítrico son función de la temperatura de conservación de los frutos tratados. Así en kumquats 'Nagami', para un rango de dosis de irradiación entre  $0,2-15 \text{ kJ/m}^2$ , los niveles de niveles escoparona aumentaron después de la irradiación en todas las exposiciones UV-C. Después de 2 semanas de almacenamiento a  $17^\circ\text{C}$  la fruta con tratamiento UV-C mostró signos de daño; sin embargo, a temperaturas más bajas el daño ocasionado era insignificante incluso a la dosis más altas utilizadas, siendo la dosis óptima de  $1,5 \text{ kJ/m}^2$  (Rodov y col., 1992).

Los resultados obtenidos de la severidad de los distintos tratamientos con respecto al testigo, indican que las dosis más altas aplicadas fueron las causantes del mayor diámetro de crecimiento de la podredumbre, por un efecto dañino de la radiación sobre el fruto.

Los resultados en un estudio de limón 'Eureka', indicaron que la irradiación de la fruta con UV-C redujo su susceptibilidad a *P. digitatum*. La expresión de este efecto estaba directamente relacionada también con el nivel de escoparona en la fruta iluminada. Existía otro mecanismo involucrado, que era la presencia de citral. La luz UV-C y la aplicación de citral exógeno fueron visiblemente perjudiciales para los tejidos flavado a altas dosis. El intervalo de dosis de aplicación estudiada fue de  $0-15 \text{ kJ/m}^2$ , encontrándose que la dosis óptima de UV-C, sólo era eficaz para suprimir la podredumbre de los limones que habían sido irradiados con al menos 24 h antes de la inoculación con *P. digitatum*. Se encontraron niveles más altos de escoparona en frutas irradiadas (Ben-Yehoshua y col., 1992).

En unos trabajos con distintas variedades de naranja *Shamouti* y *Valencia*, también después de 2 semanas de almacenamiento a  $17^\circ\text{C}$  de la fruta con tratamiento UV-C, ésta mostró signos de daño. Sin embargo, a temperaturas más bajas el daño por UV-C era prácticamente insignificante en las dosis más altas utilizadas. Los niveles de escoparona aumentaron después de la irradiación en todas las exposiciones. El rango de las dosis de trabajo fue de  $0,2-15 \text{ kJ/m}^2$ , siendo la dosis óptima de  $9 \text{ kJ/m}^2$  (Rodov y col., 1992).

Los resultados obtenidos en nuestra tesis en los distintos ensayos, indican también que existen diferencias en cuanto al comportamiento entre las distintas variedades de naranjas y mandarinas.

Análogamente a estos resultados otros autores han centrado también sus investigaciones en buscar estrategias para el control de enfermedades de postcosecha que disminuyan el uso de fitosanitarios. En sus observaciones han indicado que se requiere un aumento de dosis para lograr una efectividad en condiciones de ensayo similares a las comerciales, pero no se observa control de podredumbres aún con las mayores dosis. Cuando éstas son mayores de  $80\text{kJ/m}^2$  se observan pérdidas de peso, alteraciones fisiológicas, disminución de la acidez y aumento de acetaldehído. Por lo que se considera que el tratamiento en estas condiciones no controla la mayoría de las podredumbres provocadas por los daños de cosecha y además, las elevadas dosis alteran otros parámetros de calidad en naranjas (Cocco y col., 2010 b).

En mandarinas si se observó efecto en la incidencia de la podredumbres a partir de dosis de  $50\text{kJ/m}^2$ , aunque con alteraciones y pérdidas de peso, por lo que se deben buscar alternativas de combinación con otros tratamientos para no tener efectos adversos (Cocco y col., 2010 a).

Los ensayos se han realizado con tres prototipos de aplicador UV-C, en principio buscando un efecto directo germicida sobre el fruto, pero a la hora de aplicar las dosis de los ensayos curativos ha resultado que con los aplicadores I y II se han producido efectos dañinos sobre la piel del fruto. Ello da idea de la importancia de la zona de fruto y de la orientación en el momento de ser sometido a exposición a la luz UV-C, como ponen de manifiesto trabajos de otros investigadores.

A los resultados obtenidos en nuestras investigaciones, con la búsqueda de un aplicador de UV-C, que mejore la aplicación de la radiación emitida, otros trabajos indicaron la importancia de la orientación del fruto durante el tratamiento, seguida de una aplicación de una dosis baja de UV-C e inoculación con *P. digitatum*, buscando un efecto de hormesis.

Hormesis en una definición amplia es la aplicación de agentes potencialmente dañinos en dosis bajas para los organismos vivos con el fin de inducir respuestas de estrés.

La comercialización del tratamiento UV-C de productos hortícolas en general con el fin de inducir respuestas beneficiosas en el producto después del tratamiento requiere tanto del suministro de la dosis exacta, como de un dispositivo de aplicación que permita el tratamiento de gran cantidad de frutos de manera eficiente en las centrales hortofrutícolas. Además, desde hace tiempo se ha supuesto que tales efectos requieren que toda la superficie de los productos hortícolas - normalmente fruta - sean expuestas a la radiación UV-C. Esto se logra mediante la rotación

manual de la fruta en un campo UV-C, (Wilson y col., 1997); mientras que la reducción de la dosis administrada en cada rotación es directamente proporcional al número de rotaciones (Obande y Shama, 2011).

Por tanto de los tres prototipos ensayados el que presente mejores perspectivas, por los resultados obtenidos para ser integrado en una línea comercial de manipulación de cítricos (Sorica y col., 2014), de manera efectiva y a un coste razonable es el aplicador III, según se detalla en el Anejo 2.

En el Anejo 2 se detalla el plano que se ha diseñado de una línea comercial de tratamiento y manipulado de cítricos en la que se ha implementado después del túnel de secado previo, un futuro aplicador UV-C de una longitud de 3 metros, y de 2 metros de ancho.

También se podría integrar en dicha línea un equipo de tratamiento de agua caliente HWB (Porat y col., 2000a; Irtwange, 2006), que permitiría combinar la secuencia de combinación de tratamientos más eficaz : tratamiento agua caliente + UV-C.

La anchura de la línea propuesta podría oscilar entre 1,50 y 2 m., que son las dimensiones habituales de las líneas comerciales.

Se describen a continuación los equipos más representativos en la de tratamientos de la línea de confección:

- **Volcador:** Es un equipo capaz de vaciar las cajas de campo por capas de 6 cajas y volcarlas dos a dos en la línea de manipulación de manera dosificada.
- **Mesa de previa-tría:** Es una máquina diseñada para facilitar las operaciones de preselección de los cítricos y se realiza la primera selección del proceso, donde se elimina manualmente frutos podridos, frutos fuera de tamaño y algunos otros tipos de defectos como de forma o manchas.
- **Lavadora / duchadora de agua caliente:** Es el equipo destinado al lavado del fruta. El equipo está provisto de unos cepillos sobre los que se desplaza la fruta. Esta secuencia de combinación sería la más interesante desde la estrategia de los tratamientos combinados (AG+UV-C), según se ha determinado en nuestras investigaciones. También el tratamiento con agua caliente es una alternativa para mantener la calidad durante el manejo postcosecha de los cítricos (Irtwange, 2006).
- **Túnel de presecado:** Se sitúa después del lavado de la fruta y se emplea para secar la piel del fruto una vez sale de la máquina lavadora, y prepararlo para tratamientos posteriores.
- **Aplicador UV-C:** Para irradiación UV-C al fruto a la dosis óptima de tratamiento. Dotado de las correspondientes lámparas.

- **Aplicador de cera:** Es una máquina cuya misión es repartir uniformemente la cera sobre los frutos que avanzan en la línea sobre unos cepillos.
- **Túnel de secado:** Se sitúa después del aplicador de cera y consta de rodillos de aluminio sobre los cuales se desplaza la fruta al tiempo que se inyecta aire caliente.
- **Mesa de tría:** Es una máquina diseñada para facilitar las operaciones de selección y clasificación de los cítricos de manera manual.

Otras combinaciones se podrían establecer para líneas de tratamiento y manipulado de cítricos con hoja, y para líneas de tratamiento y pre-calibrado de cítricos a la entrada de la central (Sorica y col., 2014).

En los trabajos llevados a cabo por estos investigadores cuando la fruta fue expuesta a dosis bajas de UV-C una serie de cambios fueron inducidos en el cítrico incluyendo la producción de compuestos antifúngicos y retrasos en la maduración. Todos los trabajos indicados con anterioridad se refieren a los efectos inducidos por la radiación UV-C, es decir, longitudes de onda en el rango de 100 a 280 nm (Shama y Alderson, 2005).

Los resultados revelaron que cuando los extremos del cáliz de las mandarinas fueron expuestos en una posición estacionaria a dosis de  $1,3 \text{ kJ/m}^2$  de luz UV-C, la resistencia del huésped inducida a la podredumbre era igual a, o ligeramente mejor que cuando las frutas se hicieron girar cuatro veces diferentes. Cuando se rotaron frutas, exponiendo a la luz UV-C sólo uno o dos lados diferentes, la incidencia pareció aumentar, en comparación con el tratamiento de solamente los extremos de los tallos o cuando las frutas se hicieron girar cuatro veces.

La diferencia en la respuesta se podría atribuir al hecho de que la aplicación de dosis bajas de UV-C penetró en las capas externas de la piel en el extremo del cáliz de cada fruta, o todos los lados de la fruta. Una señal posible por medio de la vía de transducción del tejido receptor podría haber sido transmitido sistémicamente desde el extremo del cáliz de los frutos a numerosos conductos dentro del tejido vascular del floema de las frutas. También es posible que la translocación fuera rápida, porque no había un aumento significativo en el nivel de las respuestas defensivas para retardar la invasión de *P. digitatum*, en mandarinas y, en el extremo de la flor. Además, los resultados de este estudio parece mostrar una respuesta defensiva menor en las frutas tratadas en un lado de las no giradas y esas giradas dos veces en el retraso de estos patógenos, en comparación con aquellos tratados solamente en el extremo del tallo. Esto podría significar una translocación más lenta de una señal de transducción móvil vascular.

El estacionaria posicionamiento del pedúnculo de frutos para el tratamiento de la radiación UV-C postcosecha sería más eficiente para un aparato UV-C en línea y menos laborioso que la rotación convencional de los cuatro lados, lo que implicaría

la rotación manual periódica de las frutas en la línea de procesamiento (Wilson y col., 1997). Además, hay otras ventajas prácticas para el tratamiento en el extremo del tallo únicamente con UV-C, tales como el tratamiento de las frutas más pequeñas, como las mandarinas.

En la Tabla 6.1 se indica el efecto de la orientación del fruto en un ensayo de mandarina durante el tratamiento con luz UV-C y después de la inoculación artificial con *P. digitatum* en la zona peduncular y en la estilar (Stevens y col., 2005).

**Tabla 6.1:** Porcentaje de Incidencia y severidad de la podredumbre verde en cítricos tratados con luz UV-C en distintas zonas y orientaciones.

**Incidencia y Severidad (cm) dos días después de la inoculación.**

Fruto	Orientación fruto	Sitios de inoculación		Media
		Caliz	Zona estilar	
Tangerina	UV-C Caliz (sin rotación)	20 (0,9)	20 (0,7)	20(0,8)
	UV-C 4 sitios Rotación	26 (0,9)	29 (0,7)	28(0,8)
	UV-C 2 sitios rotacion	63 (1,2)	63 (1,0)	63(1,1)
	Control (sin tratamiento)	93 (1,5)	93 (1,2)	93 (1,4)

Es importante conocer la reducción en cuanto a la incidencia respecto al testigo y de la severidad en los tratamientos efectuados con UV-C para el control de *P. digitatum* en frutas cítricas, para ver si alcanzan al control del fungicida químico clásico como es el IMZ. Las alternativas combinadas con agua caliente o de productos de bajo impacto ambiental con fungicidas químicos, permiten bajar las dosis de estos últimos (Carbajo y Torres-Leal, 2011).

También el tratamiento con agua caliente reduce la sensibilidad de los cítricos al daño por frío, y es respetuoso con el medio ambiente, aunque es solo eficaz en un rango estrecho de temperaturas pues el calor inhibe el crecimiento del patógeno aunque provoca un daño fitotóxico a la fruta, permite reducir la dosis del fungicida (Ben-Yehoshua y Eckert, s.f.).

Se han producido efectos indirectos al bajar las dosis de aplicación en tratamientos preventivos y con la combinación de agua caliente se mejoran los resultados.

Por tanto existe la posibilidad de establecer combinaciones con otros métodos de control basados en agua caliente (Ben-Yehoshua, 2003b; D'hallewin y col., 2010).

Un tratamiento de mandarina '*Fairchild*' con carbonato sódico (CS) al 5% de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  condujo a una acumulación de escoparona en el albedo de 310, 361 y 382  $\mu\text{g/g}$  peso fresco después de 7, 10 y 15 días, respectivamente. La acumulación de escoparona se asoció con una disminución en la severidad del podrido. Cuando naranjas comunes '*Biondo*' fueron inoculadas con  $2 \times 10^6$  esporas/ml de *P. digitatum* o *P. italicum* y tratadas con 5% SC, a los 3 días después del tratamiento el porcentaje de podrido en comparación con el control se redujo en un 97,2 y 93,9%, respectivamente, además de los cambios estructurales, en el albedo aumentó significativamente el pH del tejido, que afectó la patogenicidad de *P. digitatum*. El depósito de (SC) distribuido como una película en el flavedo ileso no tuvo ningún efecto en la prevención de la infección por el contacto con el hongo (Venditti y col., 2005).

Otra posible combinación sinérgica de la radiación UV-C es con baños de soluciones de carbonato y bicarbonato sódico. Además, estas pueden calentarse con lo que también se obtienen beneficios adicionales análogos a los del agua caliente. Existe por tanto la posibilidad de establecer combinaciones con otros métodos de control basados en dichas soluciones que son aditivos alimentarios.

Otros investigadores ensayaron frutos del limón (*Citrus limon cv 'Verna'*) que se recolectaron en dos épocas (abril y agosto) y en cada recolección se clasificaron, se limpiaron y se dividieron en 4 grupos de acuerdo con los siguientes tratamientos: I) ninguno; II) UV-C (3  $\text{kJ/m}^2$ ); III)  $\text{NaHCO}_3$  al 2% (w / v); IV) UV-C seguido por  $\text{NaHCO}_3$ . El tratamiento con  $\text{NaHCO}_3$  se llevó a cabo mediante la inmersión de la fruta, por 15 s., en una solución que se calentó a 60°C. En el tratamiento combinado la exposición a UV-C se realizó 5 min antes de la inmersión. La fruta tratada se mantuvo durante 2 meses a 5°C C y 90% HR seguido de un período de comercialización simulada de 6 días.

El mismo experimento se llevó a cabo con fruta inoculada artificialmente con *P. digitatum* ( $10^5$  conidios/ml) y se mantuvo a 2°C y 90% de HR durante 5 días. En la fruta inoculada el grado de deterioro fue mayor en comparación con los limones recolectados en primera cosecha. Casi el 65% de la fruta temprana no tratada se perdió al final del experimento, mientras que sólo el 42% de la recolección tardía se pudrió. El podrido se redujo significativamente sólo mediante la combinación de los dos tratamientos. De hecho, el porcentaje de podrido para los limones recolectados temprana y tardíamente sometidas al tratamiento combinado fue de 8,0 y 5,2%, respectivamente (Venditti y col., 2010).

### 6.3 Respuestas en otros frutos y contra otros hongos.

La aplicación de luz ultravioleta (UV-C, 254 nm) hormesis en las frutas y verduras para estimular respuestas beneficiosas es un método para el control de podredumbres de postcosecha, y extender la vida útil del producto tratado (Fonseca y Rushing, 2008). El tratamiento de tomates (*Lycopersicon esculentum*) con diferentes dosis de radiación UV-C (1,3 a 40 kJ / m<sup>2</sup>) induce resistencia al moho negro (*Alternaria alternata*), moho gris (*Botrytis cinerea*), y pudrición blanda (*Rhizopus stolonifer*). Estas enfermedades se redujeron de manera efectiva cuando los tomates se inocularon después de aplicar radiación UV-C. Los tomates tratados con UV-C eran más firmes y menos de color rojizo que los tomates control, lo que indica un retraso en la maduración. La lentitud de maduración y la resistencia a la pudrición de almacenamiento de los tomates están probablemente relacionados. El efecto positivo de UV-C en los tomates disminuyó a medida que los tratamientos se realizaron en las etapas de aumento de la maduración (Liu y col., 1993).

La intensidad de la radiación UV-C es un factor clave para determinar la efectividad de los tratamientos UV-C en frutas. En fresa, para una dosis de 4 kJ/m<sup>2</sup> a partir de irradiancias de UV-C de 3-33 W/m<sup>2</sup> reduce en 10 veces el tiempo de tratamiento manteniendo la calidad. En tomate, los beneficios del aumento de la intensidad de la radiación UV-C son más sutiles (Cote, 2011). El aumento de la intensidad de la radiación UV-C podría ser interesante desde un punto de vista tecnológico, ya que podría aumentar la eficacia al tiempo que reduciría el tiempo de exposición para realizar los tratamientos, aumentando su viabilidad para aplicaciones industriales (Cote y col., 2013).

### 6.4 Propuestas de futuro

Se va a continuar la investigación con los siguientes objetivos planteados para otros trabajos de investigación que se pretenden realizar en un futuro a corto plazo:

- Mejorar el aplicador de UV-C implementando un control automático optimizando las dosis a aplicar.
- Implantar el aplicador de UV-C en líneas comerciales de manipulación de cítricos según se detalla en el Anejo N<sup>o</sup>2, de forma que la exposición este precedida siempre de tratamientos a los cítricos en ducha / balsa de agua caliente.
- Posibilidad de incorporación de emisores LED UV-C en los aplicadores, sustituyendo las lámparas de vapor de mercurio, con la finalidad de mejorar el aplicador actual.

- Continuar los ensayos acerca de los parámetros de calidad del fruto, que permitan determinar con la mayor exactitud posible las dosis para otras variedades no ensayadas.
- Establecer otros tratamientos combinados de luz UV-C con otros sistemas de control de la podredumbre verde que permitan aumentar la eficacia de estos tratamientos alternativos, y que minimicen los riesgos de daño por fitotoxicidad en la piel de los cítricos.  
Entre los sistemas no contaminantes de control de las enfermedades que se podrían combinar con la radiación UV-C destacan los baños en soluciones de productos naturales y de baja toxicidad (aditivos o conservantes alimentarios, aceites esenciales, extractos de plantas, etc) y la aplicación de microorganismos antagónicos de control biológico.
- Determinar la eficacia del aplicador de UV-C ya incorporado en la línea de confección contra otras enfermedades de postcosecha de cítricos importantes causadas por patógenos de herida como *Geotrichum citri-aurantii* (podredumbre amarga) ó *Rhizopus stolonifer* (podredumbre acuosa).

## Capítulo 7

# Conclusiones

De los resultados obtenidos en el presente trabajo puede concluirse que:

1. La dosis de irradiación UV-C  $2,5 \text{ kJ/m}^2$  no produce retraso en la coloración de los cítricos que va a ser sometidos al proceso de desverdización. Por tanto es la dosis que se debe utilizar cuando se manipulen cítricos que van a ser sometidos a dicho proceso, como es el caso de naranjas o mandarinas tempranas que han alcanzado la madurez comercial y no tienen todavía la coloración característica de la variedad.
2. En general, las dosis de irradiación UV-C más efectivas son inferiores para el tratamiento de las mandarinas que para las naranjas.
3. Las irradiaciones entre  $5$  y  $10 \text{ kJ/m}^2$  son las que mejor se comportan tanto en tratamientos curativos como preventivos en cuanto a reducción de incidencia y severidad de la podredumbre verde en mandarinas Clemenules. Dosis superiores resultan dañinas, y dosis inferiores inefectivas.
4. A las dosis seleccionadas no fitotóxicas, los tratamientos preventivos son más efectivos que los curativos en cuanto a reducción de incidencia y severidad de la podredumbre verde en mandarina Clemenules.
5. Se confirma que a estas dosis pequeñas el modo de acción indirecto por inducción de resistencia en el fruto es más importante que el modo de acción directo sobre el patógeno. Ello es debido a que los patógenos de herida, a diferencia de los microorganismos contaminantes superficiales, quedan poco expuestos a la acción germicida de la irradiación UV-C.
6. En tratamientos preventivos, las dosis de UV-C de  $5$  o  $10 \text{ kJ/m}^2$  se muestran efectivas para reducir la incidencia de la podredumbre verde en mandarinas

Ortanique tempranas, pero no en tardías. En cualquier caso, la inducción de resistencia no se mantiene tras 7 días de incubación a 20°C.

7. A medida que el fruto madura, las dosis aplicadas para el control de la podredumbre verde causada por *P. digitatum* pueden ser algo más altas, para mantener la actividad antifúngica, aunque la respuesta del fruto disminuye, aunque no tienen que producir daños en la piel de la fruta tratada.
8. La aplicación de dosis altas con los prototipos I y II resultan dañinas para el fruto, y se descarta su utilización dentro de las aplicaciones industriales para su implantación en líneas de tratamiento comerciales. El prototipo III es el que presenta mejores perspectivas para su implementación en las líneas de manipulación de cítricos.
9. Siendo la aplicación de UV-C un tratamiento de superficie, el calibre del fruto puede influir en la dosis efectiva aplicada sobre la superficie del mismo en los aplicadores donde se hace girar el fruto. Mientras que la reducción de la dosis administrada en cada rotación es directamente proporcional con el número de rotaciones, un fruto de tamaño pequeño tipo mandarina/clementina girará más veces en el aplicador que uno de calibre mayor tipo naranja.
10. La combinación de un tratamiento de agua caliente junto a la aplicación de UV-C mejora la actividad antifúngica siempre y cuando se realice con anterioridad a la misma. Por el contrario este beneficio se reduce considerablemente cuando el agua caliente se aplica después de la irradiación UV-C.
11. Para la utilización de alternativas en una estrategia CINCEP, es necesario utilizar métodos combinados o tecnologías de barrera. Los resultados de esta tesis ilustran que la combinación de distintos métodos de control, tradicionales o nuevos, produce un efecto sinérgico que posibilita que aunque tengan más baja intensidad sean más efectivos que un solo método de intensidad más alto. Ello favorecerá la calidad sensorial y nutricional de nuestros cítricos.

# Referencias bibliográficas

- Adrados, C. (2009). “Aplicaciones de la radiación ultravioleta en el mundo rural y agroalimentario”. *Revista Agronomos* 38, 44-54.
- Adrados, C., García, M. A., García, E. y Gutiérrez, R. (2005). “Disinfection of drain water by means of UV-C radiation. Experimental prototypes for small flows”. *Acta Horticulturae* 691, 373-380.
- Agustí, M. (2000). *Citricultura*. Vol. Ediciones Mundi-Prensa. Mundi-Prensa.
- Allende, A. y Artés, F. (2003a). “UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed ‘Lollo Rosso’ lettuce”. *Food Research International* 36.7, 739-746.
- Alonso, M. y Palou, L. (2007). “Effect of X-ray irradiation on fruit quality of clementine mandarin cv. ‘Clemenules’”. *Radiation Physics and Chemistry* 76, 1631-1635.
- Amat, S. Roger (1988). *Defectos y alteraciones de los frutos cítricos en su comercialización*. Comité de Gestión para la Exportación de Frutos Cítricos.
- Artés, F. y Allende, A. (2005). “Processing lines and alternative preservation techniques to prolong the shelf-life of minimally fresh processed leafy vegetables”. *Eur. J. Hort. Sci* 70, 231-245.
- Barreiro, P. y Ruiz-Altisent, M. (1996). “Propiedades mecánicas y calidad de frutos definiciones y medidas instrumentales”. *Fruticultura Profesional* 77, 48-55.
- Ben-Yehoshua, S. (2003a). “Effects of postharvest heat and UV applications on decay, chilling injury and resistance against pathogens of citrus and other fruits and vegetables.” *Internacional Conference: Postharvest Unlimited ISHS Acta Horticulturae* 599.

- Ben-Yehoshua, S. (2003b). "Effects of postharvest heat and UV applications on decay, chilling injury and resistance against pathogens of citrus and other fruits and vegetables". *Proceedings of the international conference postharvest unlimited* 599, 159-173.
- Ben-Yehoshua, S. (2005a). "Elicitation of resistance against pathogens in citrus fruits by combined UV illumination and heat treatments". *Proceedings of the 5th International Postharvest Symposium, Vols 1-3* 682, 2013-2019.
- Ben-Yehoshua, S. (2005b). *Environmentally Friendly Technologies for Agricultural Produce Quality*. CRC Press, Taylor y Francis. Boca Raton, FL USA.
- Ben-Yehoshua, S. y Eckert, J. W. *Postharvest treatment of citrus fruits to control decay during storage and marketing*. Vol. Istituto Sperimentale per l'Agumicoltura. Proceedings Acireale-Italy, 224.
- Ben-Yehoshua, S., Rodov, V., D'hallewin, D. y Dore, A. (2005). "Elicitation of resistance against pathogens in citrus fruits by combined UV illumination and heat treatments." *V International Postharvest Symposium*. ISHS Acta Horticulturae 682.
- Ben-Yehoshua, S., Rodov, V., Kim, J. y Carmeli, S. (1992). "Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 1217-1221.
- Bretones, R. M. Armida, Palacio, P. Barbero del y Llopis, P. Uribe (2012). "Normas básicas de seguridad durante el manejo de equipos de radiaciones no ionizantes". *Medicina y Seguridad del Trabajo* 58.226, 67-78.
- Brown, G. E. (1980). *Fruit handling and decay control techniques affecting quality*. Vol. 143 ACS Symposium Series. 10. Citrus Nutrition y Quality., 193-224.
- Cabezas, A. B., Romero, J., Barros, A., Turiño, T. y Galera, M. C. (2015). "Aplicación de la luz UV-C en la industria hortofrutícola". *interempresas.net*.
- Calabrese, E. J. y Baldwin, L. A. (2002). "Defining hormesis". *Human & Experimental Toxicology* 21, 91-97.
- Carbajo, M. S. y Torres-Leal, G. J. (2011). "Alternativas de bajo impacto ambiental para el control de *Penicillium Digitatum* Sacc. en frutas cítricas." En: ed. por INTA. Vol. INTA. Mendoza, Argentina. Mendoza, Argentina: INTA, TF-04.

- Cayuela, J. A. y Benitez, M. R. (2010). "Inducción de Fitoalexinas en tratamientos de curado para el control de *Penicillium* spp." *Levante Agrícola* 401, 216-222.
- Chamorro, E. y Esplugas, S. (1995). "Métodos de eliminación de pesticidas persistentes." *Química e industria* Junio, 359-365.
- Choi, Y. (2010). "The effects of UV disinfection on drinking water quality in distribution systems". *Water research*. 44, 115-122.
- Cocco, M. A., Plaza, P., Vazquez, D. y Meier, G. (2010 a). "Tecnología UV-C para el control de podredumbres en postcosecha de mandarinas". En: vol. Cap.3 Innovación en la producción primaria e industrias agroalimentarias. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Cap. I Congreso Mundial de Ingeniería.
- Cocco, M. A., Plaza, P., Vázquez, D., Meier, G. y Bello, F. (2010 b). "Evaluación de tratamientos con radiación ultravioleta UV-C para el control de podredumbres en postcosecha de naranjas." En: Rosario ,Prov. de Santa Fe: XXXIII Congreso Argentino de Horticultura.
- Conesa, E. (2010). "Equipos y funciones de las líneas de manipulación en centrales hortofrutícolas." En: vol. ETSIA-UPCT. Cap. IV Curso Internacional Tecnología Postcosecha y Procesado Mínimo.
- Cote, S. (2011). *Efecto de la intensidad de la radiación UV-C sobre la calidad sensorial, microbiológica y nutricional de frutos*. Facultad de Ciencias Exactas. Universidad Nacional de La Plata. Buenos Aires. Argentina, 1-99.
- Cote, S., Rodoni, L. y Miceli, E. (2013). "Effect of radiation intensity on the outcome of postharvest UV-C treatments". *Postharvest Biology and Technology* 83, 83-89.
- Cuquerella, J., Salvador, A. y Monterde, A. (2004). "Parámetros de recolección de mandarinas y naranjas, Influencia sobre algunos tratamientos postcosecha." *Todo Citrus* 27, 7-13.
- D'hallewin, G. (2000). "Ultraviolet C irradiation at 0.5 kJ/m<sup>2</sup> reduces decay without causing damage or affecting postharvest quality of star ruby grapefruit (*C. paradisi* Macf.)." *J Agric Food Chem* 48.10, 4571-4575.
- D'hallewin, G., Molinu, M. G., Venditti, T., Dore, A., Kinay, P., Ben-Yehoshua, S. y Rodov, V. (2010). "Heat conditioning before ultraviolet-C illumination improves decay control and the keeping quality of cold stored lemon fruit". *Acta Horticulturae* 877, 1427-1432.

- D'hallewin, G., Schirra, M., Manueddu, E., Piga, A. y Ben-Yehoshua, S. (1999). "Scoparone and Scopoletin Accumulation and Ultraviolet-C Induced Resistance to Postharvest Decay in Oranges as Influenced by Harvest Date". *J. Amer Soc. Hort.Sci* 124(6), 702-707.
- Droby, S., Chalutz, E. y Horev, B. (1993). "Factors affecting UV-induced resistance in grapefruit against the green mould decay caused by *Penicillium digitatum*." *Plant Pathology* 42, 418-424.
- Eckert, J. W. y Brown, G. E. (1986). *Evaluation of postharvest fungicide treatments for citrus fruits*. Hickey, K.D. APS Press, St Paul, MN, USA, 92-97.
- Eckert, J. W. y Eaks, I. L. (1989). *Postharvest disorders and diseases of citrus fruits*. Vol. DANR. University of California Press, Berkeley, CA, USA. The Citrus Industry., 179-260.
- Fallik, E. (2004). "Prestorage hot water treatments (immersion, rising and brushing)". *Postharvest Biology and Technology*.32, 125-134.
- Fonseca, J. M. y Rushing, J. W. (2008). "Application of Ultraviolet Light during Postharvest Handling of Produce: Limitations and Possibilities". *Global Science Books Fresh Produce*.4146.
- García, F. y Diezma, B. (2006). "Maquinaria de procesado en las centrales hortofrutícolas." *Vida Rural* 237, 68-72.
- Gardner, D. W. y Shama, G. (2000). "Modeling UV induced inactivation of microorganisms on surfaces." *Journal of Food Protection* 63.1, 63-70.
- González, A. y Sanz, A. (2008). *Sistemas de gestión de calidad y seguridad en centrales hortofrutícolas*. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia.
- González-Aguilar, G. (2007). "Improving postharvest quality of mango Haden by UV-C treatment". *Postharvest Biology and Technology* 45.1, 108-116.
- González-Aguilar, G. y Wang, C. (2001). "Use of UV-C irradiation to prevent decay and maintain postharvest quality of ripe 'Tommy Atkins' mangoes". *International Journal of Food Science and Technology*. 36, 767-773.
- Gutiérrez, P. (2005). *Efecto de factores de la recolección de cítricos en la incidencia de podredumbres postcosecha del genero Penicillium*. Universidad Politécnica de Madrid.

- Haro, F. J. y Guerrero, J. A. (2013). "Efecto de la radiación UV-C en frutas y verduras". *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 7, 68-77.
- Irtwange, S. V. (2006). "Hot water treatment: A non-chemical alternative in keeping quality during postharvest handling of citrus fruits". *International Commission of Agricultural Engineering the CIGR* E.8, 1-10.
- Jiménez-Cuesta, M., Cuquerella, J. y Martínez-Javega, J. M. (1981). "Determination of a color index for citrus fruit degreening." *Proc. Int. Soc. Citriculture*. 750-753.
- Jiménez-Cuesta, M., Cuquerella, J. y Martínez-Jávega, J. M. (1983). *Teoría y práctica de la desverdización de los cítricos*. Vol. Instituto Nacional de Investigación Agraria. Madrid. INIA.
- Knave, Bengt (2001). "Radiaciones ionizantes y no ionizantes". En: *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo*. Ed. por Jeanne Mager Stellman. Consejo de Seguridad Nuclear, España. Cap. 49.
- Kuniga, T. y Matsumoto, R. (2006). "Comparative Study of Scoparone Accumulation in Various Citrus Species after Inoculation with Gray Mold." *J. Japan. Soc. Hort. Sci* 75, 379-384.
- Kuniga, T., Tsumura, T., Matsuo, Y. y Matsumoto, R. (2006). "Changes in Scoparone Concentrations in Citrus Cultivars after Ultraviolet Radiation." *Japan. Soc. Hort. Sci* 75, 328-330.
- Lacer, J. y Casas, A. (1989). "Taula colorimétrica de Cítrics." *Generalitat Valencia*.
- Liu, J., Stevens, C., Khan, V. A., Lu, J. Y., Wilson, C. L., Adeyeye, O., Kabwe, M. K., Pusey, P. L., Chalutz, E., Sultana, T. y Droby, S. (1993). "Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes". *Journal of Food Protection* 56.10.
- Marcos, J. F., González-Candelas, L. y Zacarías, L. (2005). "Involvement of ethylene biosynthesis and perception in the susceptibility of citrus fruits to *Penicillium digitatum* infection and the accumulation of defence-related mRNAs." *Journal of Experimental Botany* 56, 2183-2193.
- Mazzuz, C. F. (1995). *Calidad de los frutos cítricos*. Vol. Ediciones de Horticultura, S.L. Tecnidex SA.

- McGlasson, W. B. y Eaks, I. L. (1972). "A role for ethylene in the development of wastage and off-flavors in stored Valencia oranges." *HortScience* 7, 80-81.
- Mercier, J. J., Arul, C. y Julien, C. (1993). "Effect of UV-C on phytoalexin accumulation and resistance to *Botrytis cinerea* in stored carrots." *J. Phytopathol.* 139, 17-35.
- Miranda, F. (2015). *Diagnóstico y situación del sector de los cítricos en España*.
- Montesinos-Herrero, C., Río, M. A. del, Pastor, C., Brunetti, O. y Palou, L. (2009). "Evaluation of brief potassium sorbate dips to control postharvest penicillium decay on major citrus species and cultivars." *Postharvest Biology and Technology* 52, 117-125.
- Muramatsu, N. y Takahara, T. (1999). "Changes in Rind Firmness and Cell Wall Polysaccharides during Citrus Fruit Development and Maturation". *HortScience* 34.1, 79-81.
- Nunes, C. (2007). "Effect of high temperature treatments on growth of *Penicillium* spp. and their development on 'Valencia' oranges." *Food Science and Technology International* 31, 21-36.
- Nunes, C. (2012). "Biological control of postharvest diseases of fruit". *European Journal of Plant Pathology* 133.1, 181-196.
- Obande, M. A. y Shama, G. (2011). "The use of biosimetry to measure the UV-C dose delivered to a sphere, and implications for the commercial treatment of fruit". *Journal of Food Engineering* 104.1, 1-5.
- Palou, L. (2005a). "Métodos de control físicos ensayados en postcosecha contra las podredumbres verde y azul de los cítricos". *Levante Agrícola* 337, 341-350.
- Palou, L. (2005b). "Sistemas alternativos a los fungicidas sintéticos para el control de enfermedades de postcosecha de cítricos". En: Palma del Río, Córdoba. Cap. Centro de Investigación y Formación Agraria de Palma del Río;
- Palou, L. (2007). "Evaluación de alternativas para el tratamiento antifúngico en postcosecha de cítricos de Producción Integrada". *Revista Fruticultura* 200, 83-93.
- Palou, L. (2009). "Control of citrus postharvest diseases by physical means." *Tree Forestry Sci. Biotechnology* 3, 127-142.

- Palou, L. (2011). "Control integrado no contaminante de enfermedades de postcosecha (CINCEP): Nuevo paradigma para el sector español de los cítricos." *Levante Agrícola* 406, 173-183.
- Palou, L. (2014). *Penicillium digitatum, Penicillium italicum in citrus fruit (Green Mold, Blue Mold)*. 2. Academic Press, Elsevier Inc., London, UK, 45-102.
- Palou, L. y Plaza, P. (2005). "Tratamientos con calor para el control de enfermedades de postcosecha de cítricos." *Todo Citrus* 31, 21-36.
- Palou, L., Smilanick, J. L. y Droby, S. (2008). "Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds". *Stewart Postharvest Solutions* 4.2, 1-16.
- Palou, L., Smilanick, J. L. y Margosan, D. A. (2007). "Ozone applications for sanitation and control of postharvest diseases of fresh fruits and vegetables". *Postharvest Technologies to Control Fungal Diseases in Fruits and Vegetables. Transworld Research Network*. 39-70.
- Palou, L., Smilanick, J. L., Usall, J. y Viñas, I. (2001a). "Control of Postharvest Blue and Green Molds of Oranges by Hot Water, Sodium Carbonate, and Sodium Bicarbonate". *Plant Disease Journal* 85.4, 371-376.
- Palou, L., Usall, J., Muñoz, J. A., Smilanick, J. L. y Viñas, I. (2002a). "Hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate for the control of postharvest green and blue molds of clementine mandarins". *Postharvest Biology and Technology* 24, 93-96.
- Palou, L., Usall, J. y Pons, J. (2001b). "Micoflora en centrales cítricas de Tarragona." *Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg.* 16.3.
- Palou, L., Usall, J., Smilanick, J. L., Aguilar, M. J. y Viñas, I. (2002b). "Evaluation of food additives and low-toxicity compounds as alternative chemicals for the control of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* on citrus fruit". *Pest Management Science* 58, 459-466.
- Pardo, J., Soler, G. y Buj, A. (2015). "Calendario de recolección de cítricos." *IVIA. Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural*.
- Plaza, P., Usall, J., Teixidó, N. y Viñas, I. (2004b). "Effect of water activity and temperature on competing abilities of common postharvest citrus fungi." *International journal of food microbiology* 90, 75-82.

- Porat, R., Daus, A., Weiss, B., Cohen, L., Fallik, E. y Droby, S. (2000a). "Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment". *Postharvest Biology and Technology* 18.2, 151-157.
- Porat, R., Pavoncello, D., Peretz, J., Ben-Yehoshua, S. y Lurie, S. (2000b). "Effects of various heat treatments on the induction of cold tolerance and on the postharvest qualities of 'Star Ruby' grapefruit". *Postharvest Biology and Technology* 18.2, 159-165.
- Porrás, I., García, A., Conesa, A., García-Legaz, M. F. y Ortiz, J. M. (1996). "Internal and external colour changes in different grapefruit varieties." *Proc. Int. Soc. Citriculture*. 1113-1116.
- Rivera, G. (1999). *Conceptos introductorios a la Fitopatología*. Universidad Nacional San José. Costa Rica., 308.
- Rivera, M., Gardea, A. y Martínez, M. (2007). "Efectos bioquímicos postcosecha de la irradiación UV-C en frutas y hortalizas." *Revista Fitotecnia Mexicana*. 30, 361-372.
- Rodov, V., Agar, T. y Peretz, J. (2000). "Effect of combined application of heat treatments and plastic packaging on keeping quality of "Oroblanco" fruit (*Citrus grandis* L. X *C. paradisi* Macf)". *Postharvest Biology and Technology*. 20, 287-297.
- Rodov, V., Yehoshua, S. Ben-, Kim, J. J., Shapiro, B. e Ittah, Y. (1992). "Ultra-violet Illumination Induces Scoparone Production in Kumquat and Orange Fruit and Improves Decay Resistance". *J. Amer Soc. Hort.Sci* 5.117, 788-792.
- Salvador, A., Navarro, P. y Martínez-Jávega, J. M. (2007). "Tecnología postcosecha de cítricos." En: vol. XI Simposio Internacional de Cítricos.
- Sanfeliu, I. (2015). "Necesidades actuales y de futuro del mercado mundial de los cítricos." *Jornada de Citricultura - Asociación Valenciana de Agricultores - Junio*.
- Schirra, M., D'Aquino, S., Cabras, P. y Angioni, A. (2011). "Control of postharvest diseases of fruit by heat and fungicides: efficacy, residue levels, and residue persistence. A review." *J. Agric. Food Chem*. 59.16, 8531-8542.
- Schirra, M. y D'hallewin, G. (1996). "Storage of Fortune mandarin following post-harvest disp in hot water and coating with an edible sucrose polyester". *Proc. Int. Soc. Citriculture*. 2, 1209-1214.

- Schirra, M., D'hallewin, G. y Cabras, P. (1998). "Seasonal susceptibility of Tarocco oranges to chilling injury as affected by hot water and thiabendazole postharvest dip treatments". *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 1177-1180.
- Sdiri, S., Navarro, P., Monterde, A., Benabda, J. y Salvador, A. (2012). "Effect of postharvest degreening followed by a cold-quarantine treatment on vitamin C, phenolic compounds and antioxidant activity of early-season citrus fruit". *Postharvest Biology and Technology*, 13-21.
- Shama, G. y Alderson, P. (2005). "UV hormesis in fruits: a concept ripe for commercialisation". *Trends in Food Science & Technology* 16.4, 128-136.
- Smilanick, J. L., Aiyabei, J. y Mlikota, F. (2002). "Quantification of the Toxicity of Aqueous Chlorine to Spores of *Penicillium digitatum* and *Geotrichum citri-aurantii*." *Plant Disease* 86.5, 509-514.
- Sorica, C., Voicea, I., Sorica, E., Nitu, M., Cujbescu, D., Selvi., K. C., Matei, Gh., Vladut, V. y Grigore, I. (2014). "Conditioning of horticultural products for consumption in fresh state using ultraviolet non-ionizing radiation, UV-C". *Annals of the University of Craiova - Agriculture, Montanology, Cadastre Series* 44.2, 194-202.
- Stevens, C., Khan, V. A., Lu, J. Y. y Wilson, C. L. (2005). "The effect of fruit orientation of postharvest commodities following low dose ultraviolet light-C treatment on host induced resistance to decay." *Crop protection* 24, 756-759.
- Stewart, I. y Wheaton, T. (1971). "Effects of ethylene and temperature on carotenoid pigmentation of citrus peel". *Florida State Horticultural Society*, 264-266.
- Tusset, J. J., García, J. e Hinarejos, C. (1987). *Podredumbres de los Frutos Cítricos*. Generalitat Valencia.
- Valea, A. y Alonso, J. (1998). *Radiación infrarroja y ultravioleta. Tecnología y aplicaciones*. Vol. Mac Graw-Hill. García, A.
- Valencia-Chamorro, S., Perez-Gago, M. B. y Rio, M. A. del (2009). "Curative and preventive activity of hydroxypropyl methylcellulose-lipid edible composite coatings containing antifungal food additives to control citrus postharvest green and blue molds". *J. Agric. Food Chem.* 57, 2770-2777.

- Venditti, T., Dore, A., Molinu, M. G., D'hallewin, G. y Rodov, V. (2010). "Treatment with UV-C light followed by NaHCO<sub>3</sub> application has synergic activity against citrus green mold". *Acta Horticulturae* 877, 1545-1550.
- Venditti, T., Molinu, M. G., Dore, A., Agabbio, M. y D'hallewin, G. (2005). "Sodium carbonate treatment induces scoparone accumulation, structural changes, and alkalization in the albedo of wounded Citrus fruits." *J. Agric. Food Chem.* 53, 3510-3518.
- Wild, B. L. (1998). "New method for quantitatively assessing susceptibility of citrus fruit to oleocellosis development and some factor that affect ist expression." *Australian Journal of Experimental Agriculture* 38, 279-285.
- Wilson, C. L., Droby, S., Wisniewski, M. y Chalutz, E. (2011). "Historical perspective on biological control of postharvest diseases - Past, present, and future". *Acta Horticulturae* 905, 23-28.
- Wilson, C. L., El-Ghaouth, A. y Upchurch, B. (1997). "Using an on-line UV-C Apparatus to treat harvested Fruit for controlling Postharvest Decay". *Hortecology* 7.July-September, 278-282.
- Wisniewski, M. y Wilson, C. L. (1992). "Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables: recent advances." *HortScience* 27, 94-98.
- Yaun, B., Sumner, S., Eifert, J. y Marcy, J. (2003). "Inhibition of pathogens on fresh produce by ultraviolet energy." *Int. J. Food Microbiol* 90, 1-8.

## Anejo 1

### Publicaciones derivadas de la tesis

# Ensayo de un prototipo experimental de reactor UVC para tratamiento poscosecha de cítricos.

**Adrados, C.; Palou, Ll.; Ibiza, S.  
Garcia, E.; Gutiérrez, P.**

Servicio de publicaciones de la USC  
V Congreso Nacional y II Congreso Ibérico de Agroingeniería.  
Lugo, 28 al 30 de Septiembre de 2009.

*Páginas : 389 – 390*

# ENSAYO DE UN PROTOTIPO EXPERIMENTAL DE REACTOR DE UVC PARA TRATAMIENTO POSCOSECHA DE CÍTRICOS

Carlos Adrados Blaise-Ombrecht, Lluís Palou<sup>1</sup>, Salvador Ibiza Mauri, Eugenio García Marí, Penélope Gutiérrez-Colomer

Universidad Politécnica de Valencia, Cno. Vera s/n 46022- Valencia; [cadrados@agf.upv.es](mailto:cadrados@agf.upv.es)

<sup>1</sup> Inst. Valenciano de Investigaciones Agrarias, Cno. Moncada-Náquera, s/n- Valencia; <sup>1</sup> [palou\\_llu@gva.es](mailto:palou_llu@gva.es)

Tanto la radiación UVC como la inmersión en agua caliente, son métodos alternativos a los productos fitosanitarios en el tratamiento poscosecha de frutas y hortalizas. En el presente estudio se ha aplicado la combinación de ambas técnicas a cítricos, con el fin de eliminar cualquier resto de tratamientos anteriores a la cosecha y a su vez prolongar el periodo poscosecha sin podredumbres ni químicos añadidos, incrementado el valor comercial de los mismos.

## Material

**Prototipo reactor UVC** formado por lámpara de amalgama de indio de 180 W (50 W de UVC a 254 nm), con reactancia electrónica de 200W/2A refrigerada con ventilador de 9W y proyector cilindro-parabólico en aluminio sin pulir



### Cámara de tratamientos

Dimensiones: 150 x 15 x 13 cm. . Presenta una bandeja extraíble con celdillas para depositar las frutas.



Las potencias medidas UVC en el prototipo, oscilan entre 25 y 30 mW.s/cm<sup>2</sup>

### Depósito de agua caliente

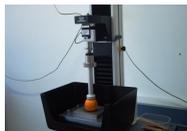
Balsa de acero inoxidable de 250 l. con dos resistencias de 4500 W cada una, termostato y bomba de recirculación.



## Métodos

### Tratamientos realizados:

1. Control inoculado y no tratado.
2. Agua caliente: baño a 50°C, 2 min..
3. Irradiación con UVC con dosis 20 kJ /m<sup>2</sup>
4. Agua caliente + UVC.
5. UVC + agua caliente.

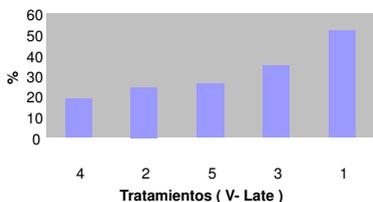


### Parámetros de calidad del fruto estudiados:

1. Color y firmeza de la corteza.
2. Fuerza rotura de la piel (Instron Mod. 3343).
3. Fuerza liberación aceite esencial (penetrómetro).
4. Grosor de la corteza.
5. Grosor del flavedo.

## Resultados

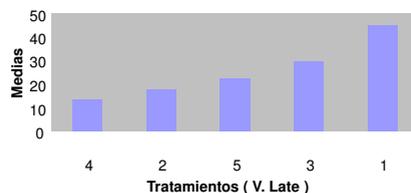
### Incidencia infección a los 7 días



Dosis > de 50 KJ/m<sup>2</sup> No causan daño al fruto



### Esporulación a los 7 días



## Conclusiones

El reactor UVC diseñado, presenta potencia y uniformidad suficiente para el tratamiento poscosecha de cítricos. Su construcción es sencilla, fiable y adaptable a las cadenas comerciales de manipulación de cítricos.

En mandarina Ortanique y naranja Valencia Late, dosis muy elevadas de UVC, por encima de 50 KJ/m<sup>2</sup>, no producen daños apreciables en la piel, por lo que en principio este no sería un factor limitante en los tratamientos realizados.

En tratamientos curativos con naranja Valencia Late, la combinación de agua caliente + UVC es la que proporciona mejores resultados. Se ha observado una mayor capacidad inhibidora de *Penicillium digitatum* en naranja Valencia Late que en mandarina Ortanique.

Es preciso realizar nuevas experiencias con tratamientos preventivos en los que es de prever buenos resultados, ya que en los mismos dará tiempo a que la producción de fitoalexinas como consecuencia de la radiación UVC alcance sus valores máximos.

# ENSAYO DE UN PROTOTIPO EXPERIMENTAL DE REACTOR DE UVC PARA TRATAMIENTO POSCOSECHA DE CÍTRICOS

Carlos Adrados Blaise-Ombrecht, Lluís Palou<sup>1</sup>, Salvador Ibiza Mauri, Eugenio García Marí, Rosa Penélope Gutierrez-Colomer

Universidad Politécnica de Valencia, Cno. Vera s/n 46022- Valencia; [cadrados@agf.upv.es](mailto:cadrados@agf.upv.es)

<sup>1</sup> Inst. Valenciano de Investigaciones Agrarias, Cno. Moncada-Nàquera, s/n- Valencia; <sup>1</sup> [palou\\_llu@gva.es](mailto:palou_llu@gva.es)

## **Resumen (Abstract)**

Los tratamientos y productos químicos que se emplean en poscosecha para acondicionar la fruta y prolongar su duración, dejan residuos de los mismos. Estos residuos, por debajo de unos niveles determinados, no parecen nocivos para las personas aunque en algunos países son cuestionados a la hora de comercializar la fruta, siendo más apreciados por los consumidores los productos sin tratamiento post-cosecha. La radiación ultravioleta C (UVC), junto con baño en agua caliente, es inocua, no deja residuos y puede disminuir la incidencia de los organismos causantes de podredumbres y deterioros de las frutas antes de su comercialización.

Se ha diseñado y construido un prototipo de reactor UVC para tratamiento poscosecha de cítricos y se están evaluando, por un lado las dosis UVC necesarias para controlar las podredumbres de poscosecha sin dañar los frutos y, por otro, la eficacia del tratamiento en variedades de cítricos comerciales, infectadas con los hongos que causan los mayores daños económicos en la poscosecha de cítricos.

Los primeros resultados en mandarina Ortanique y naranja Valencia Late, apuntan a que la conjunción de baño en agua caliente mas radiación UVC es efectiva en la inhibición del desarrollo de *Penicillium digitatum* y *P. italicum*.

(Products currently used for postharvest treatments to fit out the fruit and to extend its life in optimal consumption conditions leave synthetic chemical residues. Low levels of these residues on fruits are not harmful to human health, however in recent years they have been progressively questioned in some countries at the time of commercializing the fruit, being more appreciated by the consumers the "non trates" fruits.

Ultraviolet C radiation (UVC), along with hot water bath, is innocuous, does not leave residues and it has been reported to reduce and even remove the infective load of most microorganisms which caused the decay and chilling injury of harvested fruits before its commercialization.

In the present study an UVC reactor prototype was designed and assembled for the postharvest treatment of citrus fruits. The proper dose of UVC radiation to disinfect the fruits without suffering surface damage and the effectiveness of treatment on citrus fruits varieties infected with the fungi which cause the greater economic damages in the postharvest of fruits are both being evaluated.

The first results in Ortanique Mandarin and Valencia Late Orange suggested that UVC radiation along with hot water bath was an effective method to remove or to delay the harmful effects of *Penicillium digitatum* and *P. italicum*.)

### **Palabras Clave (KeyWords)**

Radiación UVC. Prototipo. Poscosecha Cítricos, *Penicillium digitatum* y *P. italicum*. (UVC radiation. Prototype. Citrus Postharvest, *Penicillium digitatum* y *P. italicum* )

### **1. Introducción. Objetivos**

En la poscosecha de frutas y hortalizas se llega a producir hasta un 25% de pérdidas si éstas no se someten a ningún tratamiento. Los tratamientos agroquímicos que se emplean en poscosecha para acondicionar la fruta y prolongar su duración en condiciones óptimas de consumo, dejan, en mayor o menor grado residuos de los mismos, y si en principio no son nocivos para las personas es mejor evitar su uso. En algunos países se utilizan estos residuos como traba a la hora de comercializar la fruta. Por otro lado muchos patógenos están desarrollando resistencias a los productos de síntesis lo que implica adoptar otros más agresivos o aumentar las dosis. Si a esto unimos, el que están irrumpiendo con fuerza en el mercado los productos “ecológicos” o “sin tratamiento” con mejor comercialización y precios más altos, se justifica un tratamiento post-cosecha eficaz que no altere ni contamine la fruta (R. D. 1201/2002 de 20 de noviembre ; Resolución de 27 de octubre de 2008, del Director General de Investigación ).

La radiación ultravioleta es inocua, no deja residuos y se puede utilizar para disminuir e incluso anular, la carga infectiva de la mayor parte de organismos causantes de podredumbres y deterioros de las frutas antes de su comercialización, con la ventaja añadida de que puede degradar los restos de tratamientos fitosanitarios realizados en el campo.

Esta técnica, unida a la inmersión en agua caliente, induce en la fruta la producción de fitoalexinas, que actúan como fungicidas naturales, junto a otros mecanismos de defensa como es la lignificación y tapado de las heridas, que aseguran su mayor duración en condiciones óptimas de consumo.

Los fungicidas sintéticos, como el tiabendazol o el imazalil, han sido el principal método de control de las enfermedades de poscosecha de los cítricos de mayor importancia económica, las podredumbres verde y azul causadas respectivamente por los patógenos *P. Digitatum* y *P. italicum* (Eckert et al.,1994 ; El Ghaouth et al.,1998). Actualmente, el uso continuado de estos fungicidas se está enfrentando con dos obstáculos: la creciente preocupación de los consumidores en lo que respecta a la contaminación de la fruta con residuos de fungicidas, y la proliferación de resistencias en las poblaciones de los patógenos causantes de las podredumbres (Bus et al.,1991 ; Eckert et al.,1994) .

Debido a esto, durante los últimos años, se están proponiendo y evaluando diferentes métodos alternativos no contaminantes para el control de podredumbres en cítricos. La aceptación por parte de los productores y, por tanto, la aplicación a nivel comercial de cualquiera de estos tratamientos, depende de que su eficacia sea comparable con la de los fungicidas convencionales. Dentro de los métodos de control no químicos estudiados hasta la fecha destacan el tratamiento con agua caliente (Ben Yehoshua et al., 2002 ; Ben-Yehoshua., 2003 ; Palou et al., 1999 ; Rodov et al., 1995), el tratamiento con carbonato y bicarbonato sódico (Palou et al., 1999 ; Smilanick et al., 1999), o el control biológico utilizando microorganismos antagonistas de los patógenos (Huang et al., 1992 ; Wilson et al., 1993).

Aunque cada uno de estos tratamientos ha logrado reducir las infecciones que se desarrollan durante la poscosecha de cítricos, ninguno de ellos ha sido capaz, por sí solo, de alcanzar niveles de control comercialmente aceptables, presentando una eficacia limitada a la hora de controlar las infecciones preexistentes en los frutos. Es por ello que estudios recientes se están orientando en evaluar la eficacia de aplicar diferentes combinaciones de los tratamientos mencionados (Obagwu et al., 2003 ; Palou et al., 2001 ; Porat et al., 2002). La aplicación de estos tratamientos combinados ha tenido como resultado la reducción de las infecciones desarrolladas en la poscosecha de cítricos a niveles comparables con los alcanzados mediante el uso de fungicidas sintéticos.

La reducción de las enfermedades poscosecha y el retraso en la pudrición cuando se radia con UV-C se han relacionado con el incremento de la resistencia a la pudrición de los tejidos, debido a la acumulación de compuestos antifúngicos. En el caso concreto de los cítricos, se ha encontrado que la radiación de los frutos con UV-C está asociada con la producción de escoparona y escopoletina (fitoalexinas) que inducen resistencia contra los patógenos que causan la podredumbre de los frutos. (Ben-Yehoshua et al., 1992 , 2002 ; D'Hallewin et al., 1999 , 2000 ; Rodov et al., 1992 , 1994).

Se ha observado que en diferentes especies, incluidas los cítricos, los efectos de la radiación UV-C sobre la inactivación de los microorganismos dependen de la dosis (Allende et al., 2003 , D'Hallewin et al., 2000 ; Stevens et al., 1999). Con respecto a la dosis de radiación a aplicar, hay que tener presente que se ha descrito que la aplicación de UV-C por encima de una dosis límite causa daños visibles en la piel de los cítricos, siendo la extensión del daño función del estado de madurez del fruto (Ben-Yehoshua et al., 1992 ; D'Hallewin et al., 2000). El incremento de la madurez de los frutos provoca una disminución de la respuesta de los tejidos a la radiación UV-C (Allende et al., 2003 ; Liu et al., 1993).

En el procesado clásico poscosecha de fruta, primero esta se lava con detergentes más fungicidas, a continuación se seca y se recubre de una cera que contiene, entre otros

productos, un fungicida. El presente estudio tiene por objeto la aplicación de un método alternativo consistente en la inmersión de la fruta en agua caliente, posterior secado y a continuación tratamiento con radiación UVC. Con este método se pretende (i) eliminar mediante el lavado cualquier resto de suciedad y productos fitosanitarios superficiales anteriores a la cosecha y (ii) prolongar el periodo de poscosecha sin podredumbres y sin necesidad de añadir ningún producto químico a la fruta, evitando así la presencia de residuos fitosanitarios en el producto comercializado.

## **2. Materiales y métodos**

### **2.1. Prototipo reactor UVC**

El tratamiento con radiación UVC se realiza en prototipos contruidos para tal fin, escogiéndose una técnica fácilmente adaptable en el futuro a las cadenas comerciales de procesado de fruta (El Ghaouth et al., 1998 ; Wilson et al., 1997).

En un primer lugar se diseñó un prototipo (Fig.1) con base en aluminio y lámpara de 55 W de vapor de mercurio de baja presión, que emite radiación de onda corta con máximo de 253,7 nm (UVC). El encendido es mediante reactancia electrónica de 58 W. El eje longitudinal de la lámpara se sitúa en el foco del reflector cilindro-parabólico también en aluminio, paralelo al plano de la bandeja de tratamientos.



Figura 1. Interior prototipo en funcionamiento

El campo de potencias para distintos perfiles se confeccionó mediante sensores tipo fotodiodo calibrado como el de la figura (Fig.2) y osciló entre 4 y 10 mW/cm<sup>2</sup>.



Figura 2. Sensor UVC

Se diseñó otro reactor más potente que permitiera acortar los tiempos de tratamiento. Para lo cual se utilizó una lámpara de amalgama de indio de 180 W (50 W de UVC a 254 nm), 110 cm de longitud, en funda de cuarzo puro, libre de ozono, con reactancia electrónica de 200W/2A refrigerada con ventilador de 9W y proyector cilindro-parabólico en aluminio sin pulir. La cámara de tratamientos de 150 x 15 x 13 cm. (Fig.3) presenta una bandeja extraíble con celdillas para depositar las frutas. Las potencias medidas UVC eran bastante superiores a las del primer prototipo, oscilando entre 25 y 30 mW.s/cm<sup>2</sup>. Esta lámpara se calienta en exceso disminuyendo su potencia a partir de los 35°C por lo que se refrigeró mediante corriente de aire longitudinal proporcionada por un ventilador de 35W (160 m<sup>3</sup>/h).

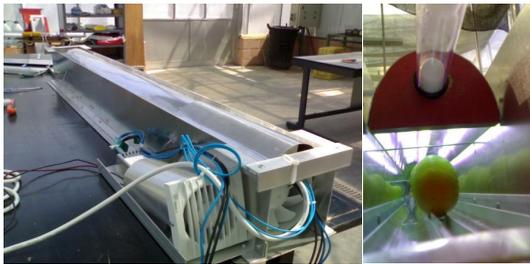


Fig.3 Reactor UVC. Interior del reactor.

## **2.2 Tratamiento con agua caliente**

Se realiza en balsa de acero inoxidable de 250 L con dos resistencias de 4500 W cada una, termostato y bomba de recirculación. La fruta se introduce en cestas de rejilla de acero inoxidable, con capacidad para entre 20 y 30 frutos, que se hunden en el baño el tiempo preestablecido según la dosis a aplicar (Fig.4)



Fig. 4. Balsa y cestas para tratamiento con agua caliente

## **2.3 Ensayos**

### **2.3.1 Dosis máximas**

Tras los primeros ensayos en orden a obtener las dosis máximas admisibles en las variedades utilizadas en la experiencia (mandarina Ortanique, naranja Valencia Late), se

comprobó que admitían dosis muy elevadas, por encima de 50 KJ/m<sup>2</sup>, sin mostrar daños en la piel, por lo que en principio este no sería un factor limitante, ya que en los tratamientos con fruta inoculada, según la bibliografía consultada, no sería preciso llegar a estos valores.

### **2.3.2. Actividad inhibidora de podredumbres**

Se han diseñado dos tipos de experiencias: unas curativas, en las que en primer lugar se inocula el hongo y con posterioridad se aplican las distintas técnicas de eliminación o inactivación del mismo; otras preventivas en las que el proceso es a la inversa, primero se aplican las técnicas autoinductoras de sustancias protectoras y con posterioridad se inocula el hongo a ensayar. En principio se han elegidos dos de los hongos que causan mayor daño económico en la poscosecha de cítricos: *Penicillium digitatum* y *P. italicum* y dos variedades de cítricos: mandarinas Ortanique y naranja Valencia Late en dos estados fenológicos, temprano y tardío.

En las primeras experiencias curativas se ha seguido el protocolo:

- Inoculación con *Penicillium digitatum*; 10<sup>5</sup> esporas/ml; 4 repeticiones de 10 frutos.
- Tratamientos 24 horas después de la inoculación fúngica.
- Incubación en cámara a 20°C y 80-90% HR.
- Lectura del número de podridos (incidencia, %), diámetro de lesión (severidad, mm) y esporulación del hongo a los 4 y 7 días de incubación.

Los tratamientos realizados fueron los siguientes:

- 1. Control inoculado y no tratado
- 2. Irradiación con UVC con dosis 25 kJ /m<sup>2</sup>
- 3. Agua caliente: baño a 50°C, 2 min
- 4. Agua caliente + secado + UVC
- 5. UVC + agua caliente

Además se determinaron los siguientes parámetros de calidad del fruto: color y firmeza de la corteza, fuerza necesaria para la rotura de la piel (Instron Mod. 3343; Fig.5), fuerza necesaria para la liberación de aceite esencial (penetrómetro) y grosor de la corteza y el flavedo, para ver si tenían alguna relación con la efectividad de los tratamientos aplicados.



Fig.5 Ensayo firmeza

### 3. Resultados y discusión

De los primeros ensayos realizados, y después del análisis estadístico correspondiente se desprende que todos los tratamientos son efectivos individualmente o combinados siendo el tratamiento 4: Agua caliente + secado manual + UV-C el que presenta mejores resultados en cuanto a disminuir la incidencia y esporulación respecto al testigo. En general se ha observado una mayor capacidad inhibidora de *P. digitatum* en naranja Valencia Late (Fig.6) que en mandarina Ortanique.

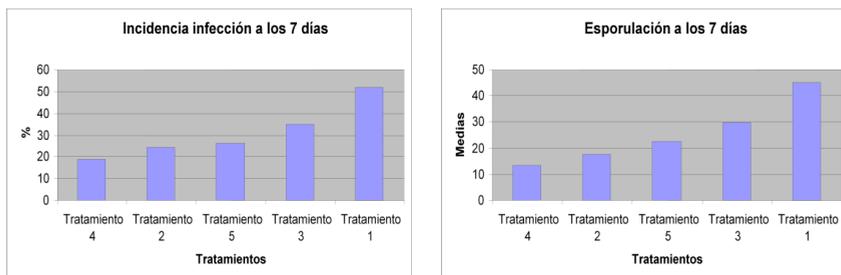


Fig.6 Gráficos de incidencia y esporulación de la podredumbre verde en naranjas Valencia Late sometidas a los 4 tratamientos descritos.

También se desprende en todos los ensayos que las combinaciones de tratamientos presentan mejores resultados que los tratamientos individuales.

### 4. Conclusiones

- El reactor UVC diseñado presenta potencia y uniformidad suficiente para el tratamiento poscosecha de cítricos. Su construcción es sencilla y fiable previendo una fácil adaptación a cadenas comerciales de manipulación de cítricos.
- En mandarina Ortanique y naranja Valencia Late, dosis muy elevadas de UVC, por encima de 50 KJ/m<sup>2</sup>, no producen daños apreciables en la piel, por lo que en principio este no se perfila como factor limitante en los tratamientos desinfectantes. Sin embargo, según se desprende de la bibliografía sobre el tema, hay que determinar para cada variedad y estado fenológico las dosis máximas admisibles.
- Los primeros ensayos con mandarina Ortanique y naranja Valencia Late previamente inoculadas con *Penicillium digitatum* se han obtenido resultados prometedores en el control del hongo para las combinaciones de agua caliente mas UVC

## 5. Agradecimientos

Proyecto realizado con el patrocinio de la Generalitat Valenciana, Consellería d'Educació (GVPRE/2008/014)

## 6. Referencias

Allende A., Artés F. (2003) UV-C radiation as a novel technique for keeping quality of fresh processed 'Lollo Rosso' lettuce. *Food Research International* 36, 739-746.

Ben-Yehoshua S., Rodov V., Kim J.J., Carmeli S. (1992) Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 1217-1221.

Ben Yehoshua, S., Rodov, V., Nafussi, B., Peretz, J., and Porat, R. .2002 Biotic and Abiotic Induction of Resistance against Pathogens in Citrus Fruits. Proceedings of the 9th Conference of the International Society of Citriculture, Orlando, Florida 3-7 December 2000.

Ben-Yehoshua, S. (2003). "Effects of postharvest heat and UV applications on decay, chilling injury and resistance against pathogens of citrus and other fruits and vegetables". Proc. Postharvest Intld. Eds. B.E. Verlinden et al. *Acta Horticulturae* 599, ISHS 2003.

Bus V.G., Bongers A.J., Risse L.A. (1991) Occurrence of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* resistance to benomyl, thiabendazole and imazalil on citrus fruit from different geographic origins. *Plant Disease* 75, 1098-1100.

D'Hallewin G., Schirra M., Manueddu E., Piga A., Ben-Yehoshua S. (1999) Scoparone and scopoletin accumulation and ultraviolet-C induced resistance to postharvest decay in oranges as influenced by harvest date. *Journal of American Society of Horticultural Science* 124, 702-707.

D'Hallewin G., Schirra M., Pala M., Ben-Yehoshua S. (2000) Ultraviolet C irradiation at 0.5 kJ m<sup>-2</sup> reduces decay without causing damage or affecting postharvest quality of Star Ruby grapefruit (*C. paradisi* Macf.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 4571-4575.

Eckert J.W., Sievert J.R., Ratnayake M. (1994) Reduction of imazalil effectiveness against citrus green mold in California packinghouses by resistant biotypes of *Penicillium digitatum*. *Plant Disease* 78, 971-974.

El Ghaouth, A., Upchurch, B., Stevens, C., Khan, V., Droby, S., Chalutz, E. (1998) An "on line" UV-C apparatus to treat harvested fruit for the control of postharvest decay. *Tektran. Appalachian fruit Res. St. United States Department of Agriculture. Agricultural Research Service.*

Huang Y., Wild B.L., Morris S.C. (1992) Postharvest biological control of *Penicillium digitatum* decay on citrus fruit by *Bacillus pumilus*. *Annals of Applied Biology* 130, 367-372.

Liu J., Stevens C., Khan V.A., Lu J.Y., Wilson C.L., Adeyeye O., Kabwe M.K., Pusey P.L., Chalutz E., Sultana T., Droby S. (1993) Application of ultraviolet-C light on storage rots and ripening of tomatoes. *Journal of Food Protection* 56, 868-872.

Obagwu J., Korsten L. (2003) Integrated control of citrus green and blue molds using *Bacillus subtilis* in combination with sodium bicarbonate or hot water. *Postharvest Biology and Technology* 28 187-194

Palou, L., Usall, J., Aguilar, M.J., Pons, J., Viñas, I., 1999. Control de la podredumbre verde de los cítricos mediante baños con agua caliente y carbonatos sódicos. *Levante Agrícola* 348, 412-421.

Palou, L., Smilanick, J.L., Usall, J., Viñas, I., 2001. Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate, and sodium bicarbonate. *Plant Disease*. 85, 371-376.

- Porat R. Daus A., Weiss B., Cohen I. Droby S. (2002) Effects of combining hot water, sodium bicarbonate and biocontrol on postharvest decay of citrus fruit. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 77(4) 441-445
- Rodov V., Ben-Yehoshua S., Kim J.J., Saphiro B., Ittah Y. (1992) Ultraviolet illumination induces scaparonone production in kumquat and orange fruit and improve decay resistance. *Journal of American Society of Horticultural Science* 117, 788-792.
- Rodov. V., Ben-Yehoshua S., Fang. D., D'Hallewin G., Castia T. (1994). "Accumulation of phytoalexins scoparone and scopoletin in citrus fruits subjected to various postharvest treatments". *Acta Hort.* 381:517-525.
- Rodov V., Ben-Yehoshua S., Albagli R., Fang D.Q. (1995) Reducing chilling injury and decay of stored citrus fruit by hot water dips. *Postharvest Biology and Technology* 5, 119-127
- Smilanick, J. L., Margosan, D. A., Mlikota, F., Usall, J. and 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, 139-45.
- Stevens C., Khan V.A., Lu J.Y., Wilson C.L., Chalutz E., Droby S., Kabwe M.K., Haung Z., Adeyeye O., Pusey L.P., Tang A.Y.A. (1999) Induced resistance of sweetpotato to *Fusarium* root rot by UV-C hormesis. *Crop Protection* 18, 463-470.
- Wilson, C. L., Wisniewski, M. E., Droby, S. and Chalutz, E. (1993). A selection strategy for microbial antagonists to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae*, 40, 105-12.
- Wilson C.L., El Ghaouth A., Upchurch B., Stevens C., Khan V., Droby S., Chalutz E. (1997). Using an on-line UV-C apparatus to treat harvested fruit for controlling postharvest decay. *HortTechnology* 7, 278-282.
- R. D. 1201/2002 de 20 de noviembre por el que se regula la producción integrada de productos agrícolas.
- Resolución de 27 de octubre de 2008, del Director General de Investigación, Desarrollo Tecnológico y Sanidad Vegetal, por la que se establecen las normas para la producción integrada en cítricos, en el ámbito de la Comunidad Valenciana. Norma 2008/13692.

---

# Evaluación de un prototipo para el tratamiento anti-fúngico con luz UV-C en postcosecha de cítricos

Ibiza, S.; Montesinos, Cl.; Palou, Ll.; Adrados, C.

VI Congreso Ibérico de Agroingeniería. Universidad de Évora. Portugal.  
Evora, 5 a 7 Septiembre de 2011.

*Páginas: 1 - 7*



# EVALUACION DE UN PROTOTIPO PARA EL TRATAMIENTO ANTIFUNGICO CON LUZ UV-C EN POSCOSECHA DE CITRICOS

S. Ibiza<sup>1</sup>, C. Montesinos-Herrero<sup>2</sup>, L. Palou<sup>2</sup>, C.M. Agrados<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universitat Politècnica de València, Cno. Vera s/n, 46022 Valencia; E-mail: [salibmau@upvnet.upv.es](mailto:salibmau@upvnet.upv.es); [caдрados@aef.upv.es](mailto:caдрados@aef.upv.es)

<sup>2</sup> Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Ctra. Moncada-Náquera km 4, 46113 Moncada; E-mail: [montesinos\\_claher@gva.es](mailto:montesinos_claher@gva.es); [palou\\_llu@gva.es](mailto:palou_llu@gva.es)

## OBJETIVOS

En primer lugar, determinar las dosis de radiación UV-C más adecuadas para tratar mandarinas 'Clemenules' y 'Ortanique'. En segundo lugar, determinar el efecto tanto curativo como preventivo de los tratamientos UV-C, a las dosis de radiación seleccionadas, en *Penicillium digitatum* (PD) en función del tiempo entre tratamiento e infección así como de madurez del fruto.

## MATERIAL



Se han utilizado dos prototipos: el primero compuesto por lámpara de amalgama de indio de 180 W (50 W de UV-C a 254 nm), con reactancia electrónica de 200W y proyector cilindro-parabólico en aluminio sin pulir. Puede suministrar potencias UV-C de hasta 30 mW s/cm<sup>2</sup>.

El segundo compuesto por lámpara de 55 W de vapor de mercurio de baja presión, con reactancia electrónica de 58 W y proyector cilindro-parabólico en aluminio situado en el foco del reflector. Proporciona potencias UV-C de hasta 10 mW s/cm<sup>2</sup>.

## MÉTODOS

Primero se inocularon mandarinas 'Clemenules' con PD a 10<sup>5</sup> esporas/mL. Para los ensayos curativos la inoculación fúngica se realizó 24 horas antes de la exposición a la radiación UV-C. Para los ensayos preventivos la inoculación se realizó 2 días tras la exposición a la radiación UV-C.

Las dosis aplicadas de radiación UV-C fueron en los dos casos de: 0, 1, 3, 5, 10, 15 y 20 kJ/m<sup>2</sup>. Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara acondicionada a 20°C y 80-90% HR para la incubación.

En todos los ensayos, los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) empleando el programa Statgraphics Plus 4.1 (Manugistics Inc.).

En tratamientos preventivos se utilizaron mandarinas híbridas 'Ortanique' con dos estados de madurez: fruta temprana inoculada con 10<sup>5</sup> esporas/mL y tratada con 5 o 10 kJ/m<sup>2</sup> de UV-C, y fruta tardía inoculada con 10<sup>4</sup> esporas/mL y tratada con 5 kJ/m<sup>2</sup>.

## RESULTADOS

Dosis	4 días	7 días
<b>Control</b>	72,2 ab	100 x
<b>1 kJ/m<sup>2</sup></b>	70 ab	100 x
<b>3 kJ/m<sup>2</sup></b>	80 abc	97,5 x
<b>5 kJ/m<sup>2</sup></b>	92,5 c	100 x
<b>10 kJ/m<sup>2</sup></b>	67,5 a	92,5 x
<b>15 kJ/m<sup>2</sup></b>	87,5 bc	95 x
<b>20 kJ/m<sup>2</sup></b>	92,5 c	97,5 x
<b>INCIDENCIA (%)</b>	<b>P=0,0463</b>	<b>P=0,3025</b>

Incidencia y severidad de la podredumbre verde en mandarinas 'Clemenules' inoculadas con *Penicillium digitatum* (10<sup>5</sup> esporas/mL) 24 horas antes del tratamiento con distintas dosis de radiación UV-C e incubadas a 20°C y 85% HR durante 4 y 7 días. En cada columna, las medias seguidas por letras diferentes son significativamente distintas según la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher (P<0,05).

Dosis	4 días	7 días
<b>Control</b>	20,92 a	128,8 x
<b>1 kJ/m<sup>2</sup></b>	27,75 b	140,8 xy
<b>3 kJ/m<sup>2</sup></b>	30,92 b	139,15 xy
<b>5 kJ/m<sup>2</sup></b>	33,05 ab	151,45 y
<b>10 kJ/m<sup>2</sup></b>	26,65 b	124,3 x
<b>15 kJ/m<sup>2</sup></b>	34,1 b	146,8 y
<b>20 kJ/m<sup>2</sup></b>	34,75 ab	148,77 y
<b>SEVERIDAD (mm)</b>	<b>P=0,2957</b>	<b>P=0,0073</b>

## CONCLUSIONES

•Las dosis de 5 y 10 kJ/m<sup>2</sup> son las que mejor se comportan tanto en tratamientos curativos como preventivos en cuanto a reducción de incidencia y severidad de la podredumbre verde en mandarina 'Clemenules'. Dosis superiores resultan fitotóxicas.

•Los tratamientos preventivos son más efectivos contra PD que los curativos en cuanto a reducción de incidencia y severidad de la podredumbre verde en mandarina 'Clemenules'. Se confirma que el modo de acción indirecto por inducción de resistencia en el fruto es más importante que el modo de acción directo sobre el patógeno.

•En tratamientos preventivos, las dosis de UV-C de 5 o 10 kJ/m<sup>2</sup> se muestran efectivas para reducir la incidencia de la podredumbre verde a los 3 días de incubación a 20°C en mandarinas 'Ortanique' tempranas, pero no en tardías. En cualquier caso, la inducción de resistencia no se mantiene tras 7 días de incubación a 20°C.

# VI CONGRESO IBÉRICO de AgroIngeniería

5 a 7 de Septiembre | 2011  
Universidade de Évora | Portugal



## EVALUACION DE UN PROTOTIPO PARA EL TRATAMIENTO ANTIFUNGICO CON LUZ UV-C EN POSCOSECHA DE CITRICOS

S. Ibiza<sup>1</sup>, C. Montesinos-Herrero<sup>2</sup>, L. Palou<sup>2</sup>, C.M. Adrados<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universitat Politècnica de València, Cno. Vera s/n, 46022 Valencia; E-mail: [salibmau@upvnet.upv.es](mailto:salibmau@upvnet.upv.es) ; [cadrados@agf.upv.es](mailto:cadrados@agf.upv.es)

<sup>2</sup> Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Ctra. Moncada-Náquera km 4,5, 46113 Moncada; E-mail: [montesinos\\_clahe@gva.es](mailto:montesinos_clahe@gva.es); [palou\\_llu@gva.es](mailto:palou_llu@gva.es)

### Resumen

El consumidor y por lo tanto el mercado, exige cada vez más alimentos no tratados con productos químicos como los que normalmente se emplean en la poscosecha de frutas y hortalizas para el control de enfermedades fúngicas. La radiación UV-C, en dosis adecuadas, es inocua, no deja residuos y puede atenuar el efecto de organismos causantes de podredumbres de las frutas en su precomercialización evitando o disminuyendo el uso de fungicidas.

El IVIA y la UPV llevan varias campañas trabajando en el desarrollo de un prototipo de reactor UV-C adecuado para el tratamiento poscosecha de los frutos cítricos. En la presente comunicación se describen ensayos encaminados a acotar las dosis UV-C más idóneas en mandarinas ‘Clemenules’ y ‘Ortanique’ inoculadas con *Penicillium digitatum*, hongo patógeno causante de la podredumbre verde, la enfermedad de poscosecha de mayor importancia económica en nuestras condiciones ambientales españolas. Asimismo, se evalúa el efecto de las dosis seleccionadas sobre infecciones establecidas (actividad curativa) y sobre la capacidad del fruto de inducir resistencia a la enfermedad (actividad preventiva).

De los resultados obtenidos se desprende que las dosis de radiación UV-C, no lesivas, más adecuadas para el tratamiento de estos cultivares son las de 5 o 10 kJ/m<sup>2</sup>. En general, los tratamientos preventivos se muestran más efectivos que los curativos. La actividad preventiva es temporal y depende del estado de madurez del fruto.

**Palabras clave:** Radiación UV-C. Prototipo. Poscosecha. Cítricos. *Penicillium digitatum*. Podredumbre verde.

### Abstract

Currently, consumers are increasingly demanding food free from chemical residues. Alternatives to the use of chemical fungicides for the postharvest treatment of fruits and vegetables are needed. UV-C radiation, at the right doses, is a clean and safe technology for the postharvest antifungal treatment of fresh produce that may substitute or reduce the use of chemicals.

The IVIA and the UPV have been working for the last few seasons on the development of a UV-C reactor prototype suitable for the postharvest treatment of citrus fruits. We are reporting here research to establish the most appropriate UV-C doses for ‘Clemenules’ and ‘Ortanique’ mandarins inoculated with *Penicillium digitatum*, the causal pathogen of green mold, the most important citrus postharvest disease in our Spanish environmental conditions. Furthermore, the effect of selected doses either on established infections (curative activity) or the fruit ability to induce disease resistance (preventive activity) is assessed.

Results show that 5 and 10 kJ/m<sup>2</sup> are the non-harmful UV-C doses more adequate for these cultivars. In general, preventive treatments are more effective than curative treatments. Preventive activity is temporary and influenced by fruit ripening stage.

**Key words:** UV-C radiation. Prototype. Postharvest. Citrus. *Penicillium digitatum*. Green mold.

## 1. INTRODUCCION Y OBJETIVOS

Las pérdidas económicas ocasionadas por las enfermedades de poscosecha constituyen uno de los principales problemas de nuestro sector cítrico. La gran mayoría de los podridos que se producen desde que los frutos cítricos son recolectados hasta que llegan al consumidor son debidos a los patógenos *Penicillium digitatum* (PD) y *Penicillium italicum*, causantes de las podredumbres verde y azul, respectivamente. Estos hongos infectan los cítricos a través de heridas en la piel y se combaten actualmente con fungicidas químicos.

La radiación ultravioleta lejana (UV-C;  $\lambda = 254$  nm) es un método físico que presenta un potencial para controlar podredumbres causadas por *Penicillium* en frutos cítricos (Ben-Yehoshua et al., 1992). Se trata de un método inocuo que no deja ningún tipo de residuo en los frutos. Las dosis a utilizar deben determinarse experimentalmente para cada caso concreto pues la luz UV-C mal aplicada puede resultar fitotóxica y dañar la piel del fruto. Se ha descrito tanto un modo de acción directo de la luz UV-C sobre las estructuras fúngicas como uno indirecto de inducción de resistencia a las enfermedades en el fruto tratado (D'hallewin et al., 1999).

De ensayos anteriores (Adrados et al., 2009) se desprende que dosis elevadas de radiación UV-C del orden de  $20 \text{ kJ/m}^2$  causan daños no observables a simple vista que provocan que la severidad (diámetro de la podredumbre) y la incidencia (porcentaje de podridos) sean en general mayor en el material tratado que en el control.

En base a lo expuesto, los objetivos generales de las experiencias planteadas fueron, en primer lugar, determinar las dosis de radiación UV-C más adecuadas para mandarinas 'Clemenules' y 'Ortanique', y en segundo lugar determinar el efecto tanto curativo como preventivo de los tratamientos UV-C a las dosis de radiación seleccionadas contra la podredumbre verde, en función del tiempo entre tratamiento e infección y del estado de madurez del fruto.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

El tratamiento con radiación UV-C se ha realizado con dos prototipos: el primero (Fig.1) compuesto por lámpara de amalgama de indio de 180 W (50 W de UV-C a 254 nm), 110 cm de longitud, en funda de cuarzo puro, con reactancia electrónica de 200W/2A refrigerada con ventilador de 9 W y proyector cilindro-parabólico en aluminio sin pulir. La cámara de tratamientos de 150 x 15 x 13 cm presenta una bandeja extraíble con celdillas para depositar las frutas. Puede suministrar potencias UV-C de hasta  $30 \text{ mW s/cm}^2$ .



**Figura 1.** Prototipo UV-C de  $30 \text{ mW s/cm}^2$

El segundo (Fig. 2) compuesto por lámpara de 55 W de vapor de mercurio de baja presión, con encendido por medio de reactancia electrónica de 58 W. En el mismo, el eje longitudinal de la lámpara se sitúa en el foco del reflector cilindro-parabólico también en aluminio,

paralelo al plano de la bandeja de tratamientos. Proporcionando potencias UV-C de hasta 10 mW s/cm<sup>2</sup>.

En ambos prototipos se puede variar la dosis UV-C aplicada, bien variando la altura de la lámpara, o bien el tiempo de exposición. Se optó por variar el tiempo de exposición para la aplicación de las distintas dosis seleccionadas en cada ensayo.



**Figura 2.** Prototipo UV-C de 10 mW s/cm<sup>2</sup>

El calibrado previo a cada experiencia se realizó mediante un sensor tipo fotodiodo calibrado (Fig.3). Para la medida de los tiempos de exposición a las distintas dosis se utilizó un cronómetro.



**Figura 3.** Sensor UV-C y cronómetro

Con el fin de determinar las dosis, no lesivas, de radiación UV-C más adecuadas se inocularon mandarinas 'Clemenules' (*Citrus reticulata* Blanco) con PD a 10<sup>5</sup> esporas/mL en un punto de la zona ecuatorial. Para los ensayos curativos la inoculación fúngica se realizó 24 horas antes de la exposición a la radiación UV-C. Para los ensayos preventivos la inoculación se realizó 2 días tras la exposición a la radiación UV-C.

Las dosis aplicadas de radiación UV-C fueron en los dos casos de: 0, 1, 3, 5, 10, 15 y 20 kJ/m<sup>2</sup>. En cada tratamiento de los siete realizados se utilizaron 4 repeticiones de 10 frutos. Después de los tratamientos la fruta se introdujo en una cámara acondicionada a 20°C y 80-90% HR para la incubación de la fruta tratada hasta la lectura de resultados. La evaluación de la incidencia de la enfermedad (porcentaje de frutos podridos), severidad (diámetro de la lesión) y esporulación (porcentaje de frutos esporulados) se hizo a los 4 y 7 días de los tratamientos.

En función de los resultados obtenidos se optó por profundizar en la evaluación de tratamientos preventivos. Para ello se utilizaron mandarinas híbridas 'Ortanique' con dos estados de madurez: fruta temprana (recolección a principios de febrero), inoculada con 10<sup>5</sup> esporas/mL y tratada con 5 o 10 kJ/m<sup>2</sup> de radiación UV-C, y fruta tardía (recolección a mediados de marzo), inoculada con 10<sup>4</sup> esporas/mL y tratada con 5 kJ/m<sup>2</sup>. La inoculación se realizó a los 2 (T2) y 6 (T6) días tras el tratamiento con UV-C, ya que distintos estudios indican que la máxima resistencia a la podredumbre verde o la máxima inducción de

antifúngicos como la escoparona en cítricos pueden producirse después de estos períodos de tiempo en función de los factores como el cultivar o el estado de madurez del fruto (Rodov et al., 1992; Droby et al., 1993; Kuniga et al., 2006). Cada tratamiento se aplicó a 4 repeticiones de 10 frutos. La lectura de la incidencia y la severidad de la enfermedad se hizo a los 3 y 7 días de la inoculación fúngica.

En todos los ensayos, los datos se analizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) empleando el programa Statgraphics Plus 4.1 (Manugistics Inc.). Los datos de incidencia se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada del porcentaje de podridos antes del ANOVA. Para el análisis de severidad solamente se tuvieron en cuenta los valores distintos de cero, es decir se descartaron los valores correspondientes a frutos inoculados y no infectados. Cuando resultó apropiado se realizó la separación de medias según la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher con un nivel de significación del 95%.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los tratamientos realizados después de la inoculación fúngica (tratamientos curativos) no redujeron la incidencia (Tabla 1) ni la severidad (Tabla 2) de la podredumbre verde a ninguna de las dosis de UV-C probadas. De hecho, ambos parámetros de la enfermedad aumentaron con algunas dosis de UV-C, aparentemente debido a daños físicos inducidos en la piel de los frutos por el tratamiento. En ambos casos, la dosis que parece deteriorar menos la fruta es la de 10 kJ/m<sup>2</sup>.

Dosis	4 días	7 días	Dosis	4 días	7 días
Control	72,2 ab	100 x	Control	20,92 a	128,8 x
1 kJ/m <sup>2</sup>	70 ab	100 x	1 kJ/m <sup>2</sup>	27,75 b	140,8 xy
3 kJ/m <sup>2</sup>	80 abc	97,5 x	3 kJ/m <sup>2</sup>	30,92 b	139,15 xy
5 kJ/m <sup>2</sup>	92,5 c	100 x	5 kJ/m <sup>2</sup>	33,05 ab	151,45 y
10 kJ/m <sup>2</sup>	67,5 a	92,5 x	10 kJ/m <sup>2</sup>	26,65 b	124,3 x
15 kJ/m <sup>2</sup>	87,5 bc	95 x	15 kJ/m <sup>2</sup>	34,1 b	146,8 y
20 kJ/m <sup>2</sup>	92,5 c	97,5 x	20 kJ/m <sup>2</sup>	34,75 ab	148,77 y
INCIDENCIA (%)	P=0,0463	P=0,3025	SEVERIDAD (mm)	P=0,2957	P=0,0073

**Tabla 1** Incidencia y **Tabla 2** severidad de la podredumbre verde en mandarinas 'Clemenules' inoculadas con *Penicillium digitatum* (10<sup>5</sup> esporas/mL) 24 horas antes del tratamiento con distintas dosis de radiación UV-C e incubadas a 20°C y 85% HR durante 4 y 7 días. En cada columna, las medias seguidas por letras diferentes son significativamente distintas según la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher (P<0,05).

Los tratamientos con UV-C realizados de forma preventiva 2 días antes de la inoculación, no indujeron aparentemente ninguna resistencia a la infección, siendo la incidencia en la fruta tratada similar a la de la fruta control (Tabla 3). Sin embargo, sí se detectó una menor severidad de la podredumbre en la fruta tratada con 5 o 10 kJ/m<sup>2</sup>, aunque este efecto no persistió tras 7 días de incubación (Tabla 4). En ningún caso se observó que la radiación UV-C indujera fitotoxicidades visibles en la piel de las mandarinas tratadas a estas dosis, mientras que con dosis superiores de 15 o 20 kJ/m<sup>2</sup> se observaron pardeamientos irregulares en la corteza.

Dosis	4 días	7 días	Dosis	4 días	7 días
Control	75 ab	92,5 xy	Control	33,02 b	109,62 xyz
1 kJ/m <sup>2</sup>	90 b	100 y	1 kJ/m <sup>2</sup>	33,23 ab	130,47 z
3 kJ/m <sup>2</sup>	90 ab	100 y	3 kJ/m <sup>2</sup>	30,65 ab	123,8 yz
5 kJ/m <sup>2</sup>	65 a	90 x	5 kJ/m <sup>2</sup>	19,45 a	98,1 x
10 kJ/m <sup>2</sup>	65 ab	97,5 xy	10 kJ/m <sup>2</sup>	19,52 a	113,32 xy
15 kJ/m <sup>2</sup>	75 ab	100 y	15 kJ/m <sup>2</sup>	27,15 ab	120,02 yz
20 kJ/m <sup>2</sup>	90 b	100 y	20 kJ/m <sup>2</sup>	34,17 ab	126,4 yz
INCIDENCIA (%)	P=0,1928	P=0,1600	SEVERIDAD (mm)	P=0,2332	P=0,0091

**Tabla 3** Incidencia y **Tabla 4** severidad de la podredumbre verde en mandarinas 'Clemenules' inoculadas con *Penicillium digitatum* ( $10^5$  esporas/mL) 2 días tras el tratamiento con distintas dosis de radiación UV-C e incubadas a 20°C y 85% HR durante 4 y 7 días tras la inoculación. En cada columna, las medias seguidas por letras diferentes son significativamente distintas según la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher ( $P<0,05$ ).

Estos resultados indican que las dosis de 5 y 10 kJ/m<sup>2</sup> son las que mejor se comportan tanto en tratamientos curativos como preventivos, siendo estos últimos los que se perfilan como de mayor efectividad frente a PD. Esto confirma la hipótesis enunciada por otros autores (Rodov et al., 1992; Kuniga et al., 2006) de que el principal modo de acción de la radiación UV-C en la reducción de enfermedades de poscosecha de frutos cítricos es la inducción de resistencia en la piel por la biosíntesis de compuestos antifúngicos (fitoalexinas) como respuesta al estrés provocado por el tratamiento.

En ensayos posteriores con mandarinas 'Ortanique' de dos estados de madurez, temprano y tardío, se evaluó la capacidad de las dosis elegidas en los ensayos anteriores (5 y 10 kJ/m<sup>2</sup>) de inducir resistencia (actividad preventiva) a dos tiempos distintos entre exposición e inoculación fúngica (2 y 6 días).

Tratamiento	3 días	7 días	Tratamiento	3 días	7 días
T2 Control	65 c	97,5 x	T2 Control	9,21 a	125,81 x
T2 5 kJ/m <sup>2</sup>	40 ab	100 x	T2 5 kJ/m <sup>2</sup>	9,62 a	121,57 x
T2 10 kJ/m <sup>2</sup>	27,5 a	100 x	T2 10 kJ/m <sup>2</sup>	9,95 a	121,20 x
T6 Control	55 bc	100 x	T6 Control	10,13 a	131,95 x
T6 5 kJ/m <sup>2</sup>	27,5 a	100 x	T6 5 kJ/m <sup>2</sup>	8,91 a	131,25 x
T6 10 kJ/m <sup>2</sup>	52,5 bc	100 x	T6 10 kJ/m <sup>2</sup>	9,14 a	155,95 y
INCIDENCIA (%)	P=0,0167	P=0,4457	SEVERIDAD (mm)	P=0,8291	P=0,0000

**Tabla 5** Incidencia y **Tabla 6** severidad de la podredumbre verde en mandarinas 'Ortanique' tempranas inoculadas con *Penicillium digitatum* ( $10^5$  esporas/mL) a los 2 (T2) y 6 días (T6) tras el tratamiento con dos dosis de radiación UV-C (5 y 10 kJ/m<sup>2</sup>) e incubadas a 20°C y 85% HR durante 3 y 7 días tras la inoculación. En cada columna, las medias seguidas por letras diferentes son significativamente distintas según la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher ( $P<0,05$ ).

En cuanto a la incidencia de la podredumbre verde, se puede observar (Tabla 5) que a los 3 días de la inoculación fúngica, cuando ésta se realizó a los 2 días del tratamiento, existieron diferencias significativas en mandarinas tempranas tratadas tanto con 5 como con 10 kJ/m<sup>2</sup>, reduciendo más la incidencia esta última dosis. Con la inoculación a los 6 días del tratamiento y lectura a los 3 días a 20°C se obtuvieron resultados similares a los anteriores pero en este

caso se observó una inducción mayor de resistencia por parte de la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup>. A los 7 días de la inoculación, por el contrario, la incidencia de la podredumbre verde fue prácticamente del 100% para todos los tratamientos ensayados, indicando que la respuesta del fruto y su efecto antifúngico es temporal. Tal y como se discute en investigaciones anteriores (Ben-Yehoshua et al., 1992; Droby et al., 1993), la síntesis de fitoalexinas inducida por la luz UV-C aumenta hasta alcanzar un máximo y luego disminuye. El momento temporal de mayor inducción y que ese valor máximo sea o no suficiente para detener el crecimiento del patógeno depende de factores asociados al propio tratamiento (dosis, duración, ...), al patógeno (especie, cepa, densidad de inóculo, ...) y por supuesto al fruto huésped (especie, cultivar, estado físico y fisiológico, ...). Esta variabilidad explica la importancia de ensayar la efectividad de estos tratamientos para cada cultivar en particular de cara a la evaluación de su potencialidad a nivel comercial.

En cuanto a la severidad de la podredumbre (Tabla 6), no se observaron diferencias significativas a los 3 días de incubación tras la inoculación, pero a los 7 días se obtuvieron valores mayores en mandarinas tratadas con 10 kJ/m<sup>2</sup> inoculadas a los 6 días del tratamiento. Aunque no se observaron fitotoxicidades aparentes, esto podría indicar un posible daño no visible en la piel que favoreció el crecimiento de PD en estos frutos.

Ante la hipótesis de que la fruta tardía es más susceptible de manera natural a las pudriciones de poscosecha por *Penicillium*, en la experiencia con mandarina ‘Ortanique’ tardía, se ensayó únicamente la dosis de 5 kJ/m<sup>2</sup> y se inoculó el hongo PD a una concentración de 10<sup>4</sup> esporas/mL.

Tratamiento	3 días	7 días	Tratamiento	7 días
T2 Control	0 a	81,94 x	T2 Control	40,62 x
T2 5 kJ/m <sup>2</sup>	5 a	79,98 x	T2 5 kJ/m <sup>2</sup>	50,90 xy
T6 Control	0 a	99,97 x	T6 Control	63,92 yz
T6 5 kJ/m <sup>2</sup>	0 a	94,98 x	T6 5 kJ/m <sup>2</sup>	74,32 z
INCIDENCIA (%)	P=0,0728	P=0,0768	SEVERIDAD (mm)	P=0,0000

**Tabla 7** Incidencia y **Tabla 8** severidad de la podredumbre verde en mandarinas ‘Ortanique’ tardías inoculadas con *Penicillium digitatum* (10<sup>4</sup> esporas/mL) a los 2 (T2) y 6 días (T6) tras el tratamiento con una dosis de radiación UV-C de 5 kJ/m<sup>2</sup> e incubadas a 20°C y 85% HR durante 3 y 7 días tras la inoculación. En cada columna, las medias seguidas por letras diferentes son significativamente distintas según la prueba de la mínima diferencia significativa de Fisher (P<0,05).

En las condiciones de este ensayo con fruta tardía, PD no se desarrolló tras 3 días a 20°C después de la inoculación (Tabla 7). La incidencia a los 7 días fue algo inferior en fruta inoculada a los 2 días del tratamiento con UV-C que en fruta inoculada a los 6 días, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas, como tampoco lo fueron las observadas entre los controles y los frutos irradiados. Teniendo en cuenta que estas diferencias sí fueron significativas en el caso de las mandarinas ‘Ortanique’ tempranas, puede concluirse que, como apuntan algunos autores (D’hallewin et al., 1999; Kuniga et al., 2006), el estado de madurez influencia la respuesta fisiológica del fruto a la radiación UV-C, siendo ésta superior en estados más inmaduros.

En cuanto a la severidad (Tabla 8) sí se observaron diferencias significativas a los 7 días de incubación a 20°C, de forma que el hongo creció menos en las mandarinas inoculadas a los 2

días del tratamiento. No obstante, no hubo un efecto claro de la radiación con UV-C para ninguno de los dos tiempos entre tratamiento e inoculación fúngica.

#### 4. CONCLUSIONES

Las dosis de 5 y 10 kJ/m<sup>2</sup> son las que mejor se comportan tanto en tratamientos curativos como preventivos en cuanto a reducción de incidencia y severidad de la podredumbre verde en mandarina 'Clemenules'. Dosis superiores resultan fitotóxicas.

Los tratamientos preventivos son más efectivos contra PD que los curativos en cuanto a reducción de incidencia y severidad de la podredumbre verde en mandarina 'Clemenules'. Se confirma que el modo de acción indirecto por inducción de resistencia en el fruto es más importante que el modo de acción directo sobre el patógeno.

En tratamientos preventivos, las dosis de UV-C de 5 o 10 kJ/m<sup>2</sup> se muestran efectivas para reducir la incidencia de la podredumbre verde a los 3 días de incubación a 20°C en mandarinas 'Ortanique' tempranas, pero no en tardías. En cualquier caso, la inducción de resistencia no se mantiene tras 7 días de incubación a 20°C.

#### 5. BIBLIOGRAFIA

Adrados C, Palou L, Ibiza S, García E, Gutiérrez P (2009) Ensayo de un prototipo experimental de reactor de UV-C para tratamiento poscosecha de cítricos. Actas V Congreso Nacional y II Congreso Ibérico Agroingeniería 2009, Lugo - 28 al 30 de Septiembre del 2009

Ben-Yehoshua S, Rodov V, Kim JJ, Carmeli S (1992) Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40, 1217-1221

D'hallewin G, Schirra M, Manueddu E, Piga A, Ben-Yehoshua S (1999) Scoparone and scopoletin accumulation and ultraviolet-C induced resistance to postharvest decay in oranges as influenced by harvest date. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 124, 702-707

Droby S, Chalutz E, Horev B, Cohen L, Gaba V, Wilson CL, Wisniewski M (1993) Factors affecting UV-induced resistance in grapefruit against the green mould decay caused by *Penicillium digitatum*. *Plant Pathology* 42, 418-424

Kuniga T, Tsumura T, Matsuo Y, Matsumoto R (2006) Changes in scoparone concentration in citrus cultivars after ultraviolet radiation. *Journal of the Japanese Society of Horticultural Science* 75, 328-330

Rodov V, Ben-Yehoshua S, Kim JJ, Saphiro B, Ittah Y (1992) Ultraviolet illumination induces scaparone production in kumquat and orange fruit and improve decay resistance. *Journal of American Society of Horticultural Science* 117, 788-792

# On-line prototype for postharvest antifungal treatment of citrus fruits

Ibiza, S.; Montesinos, Cl.; Palou, Ll.; Adrados, C.

International Conference of Agricultural Engineering.  
CIGR-AgEng. 2.012 Valencia, Julio de 2012

*Paginas 1-5*

# ON-LINE UV-C PROTOTYPE FOR POSTHARVEST ANTIFUNGAL TREATMENT OF CITRUS FRUITS

Salvador Ibiza<sup>1\*</sup>, Clara Montesinos<sup>2</sup>, Lluís Palou<sup>2</sup>, Carlos M. Adrados<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitat Politècnica de València, Cno. Vera s/n, 46022 València, Spain.

<sup>2</sup> Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA), Ctra. Montcada-Nàquera km 4,5, 46113 Montcada, València, Spain.

\*Corresponding author. e-mail: [salvador@iuvotnet.upv.es](mailto:salvador@iuvotnet.upv.es)

Synthetic fungicides used for postharvest treatment of citrus fruits are considered by consumers as a risk to human health and environment. Alternatives to these chemicals that leave no residue on fruit are increasingly demanded.

The objective of the present work was to establish the most appropriate UV-C doses to control green mould, the most important citrus postharvest disease in our Spanish environmental conditions, on 'Lanelate' oranges and 'Ortanique' mandarins.

## MATERIALS AND METHODS

Fruit was puncture-wounded  
(rod with 2 mm long x 1 mm wide tip)



Treated with UV-C light

2.5 or 5 kJ/m<sup>2</sup> (Ortanique mandarins)  
5 kJ/m<sup>2</sup> (Lanelate oranges)  
Control fruit non-treated  
4 replicates of 10 fruit per treatment



**Figure 1:** UV-C prototype images showing the gear motor, speed setting device and position of the lamps (three low pressure 55W mercury-vapour lamps, supplying 5 mW/cm<sup>2</sup> average power). Speed set to provide 25 s to 2 min treatment time, yielding 1.25 to 6.0 kJ/m<sup>2</sup> UV-C light dose.

Stored for 6 days  
At 20°C and 80% RH

Inoculated on same wounds  
with aqueous suspension of  
*Penicillium digitatum*  
10<sup>4</sup> spores/ml on Ortanique mandarins  
10<sup>3</sup> spores/ml on Lanelate oranges



Statistical analysis

ANOVA (Statgraphics Plus4.1)  
Fisher's Protected LSD test

Disease evaluated

Number of decayed fruit (incidence, %)  
Sporulated fruit (sporulation, %)  
Disease lesion diameter (severity, mm)

Stored for 3 and 7 days

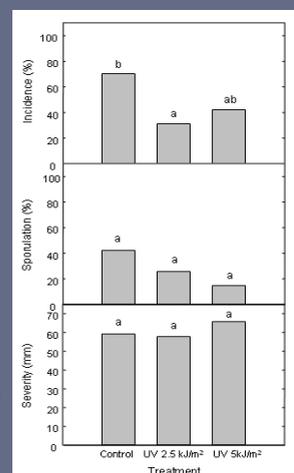
At 20°C and 80% RH

## RESULTS

**Table 1.** Incidence, sporulation and severity of green mould on Lanelate oranges treated with 5 kJ/m<sup>2</sup> UV-C irradiation, artificially inoculated 6 days later with *Penicillium digitatum* (10<sup>3</sup> spores/ml), and incubated for 3 and 7 days at 20°C after inoculation. Different letters denote significant differences among means within each column according to LSD test ( $P < 0.005$ ).

Treatment	Incidence (%)		Sporulation (%)		Severity (mm)	
	3 days	7 days (%)	3 days	7 days	3 days	7 days
Control	82,5 a	95 a	67,5 a	82,5 a	94,9 a	115,8 a
UV-C 5 kJ/m <sup>2</sup>	30 b	55 b	20 b	45 b	96,6 a	110,2 a

**Figure 2.** Incidence, sporulation and severity of green mould on 'Ortanique' hybrid mandarins treated with 2.5 or 5 kJ/m<sup>2</sup> UV-C irradiation, artificially inoculated 6 days later with *Penicillium digitatum* (10<sup>4</sup> spores/ml), and incubated for 7 days at 20°C after inoculation. Different letters denote significant differences among means within each group of columns according to LSD test ( $P < 0.05$ ).



## CONCLUSION

In this study, UV-C light at 2.5 and 5 kJ/m<sup>2</sup> applied to Ortanique and Lanelate citrus fruit, respectively, prevented green mould sufficiently to be considered as part of a strategy to substitute or reduce the use of conventional synthetic fungicides for the control of postharvest diseases.

# ON-LINE UV-C PROTOTYPE FOR POSTHARVEST ANTIFUNGAL TREATMENT OF CITRUS FRUITS

Salvador Ibiza<sup>1</sup>, Clara Montesinos-Herrero<sup>2</sup>, Lluís Palou<sup>2</sup>, Carlos M. Adrados<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitat Politècnica de València, Departament d'Enginyeria Rural i Agroalimentària (DIRA), Cno. Vera s/n, 46022 València, Spain.

<sup>2</sup> Institut Valencià d'Investigacions Agràries (IVIA), Ctra. Montcada-Nàquera km 4,5, 46113 Montcada, València, Spain.

\*Corresponding author. e-mail: [salibmau@upvnet.upv.es](mailto:salibmau@upvnet.upv.es)

## Abstract

Synthetic fungicides used for postharvest treatment of citrus fruits are considered by consumers as a risk to human health and environment and alternatives to these chemicals that leave no residue on fruit are increasingly demanded. UV-C light irradiation is a clean and safe technology that when applied at the right doses may induce fruit resistance to postharvest diseases, reducing the need for chemical treatments.

The objective of present study was to evaluate the preventive effect of UV-C light treatments against citrus postharvest green mould caused by the pathogen *Penicillium digitatum*. For this purpose, 'Lanelate' oranges and 'Ortanique' mandarins were puncture-injured in one side of the equatorial zone, treated with UV-C light at doses of 2.5 or 5 kJ/m<sup>2</sup> and held at 20°C and 90% RH for 6 days before inoculation with *P. digitatum* at 10<sup>3</sup> or 10<sup>4</sup> spores/ml. Control fruit was inoculated but not treated. Four replicates of 10 fruit each were used for each treatment.

A new UV-C reactor prototype was used for postharvest treatment of citrus fruits. This prototype was able to treat the fruit while rolling, therefore exposing the surface of the fruit more homogeneously to UV-C light. The reactor, assembled on a commercial 3-m long roller conveyor, consisted of three low pressure 55-W mercury-vapour lamps, mounted on an aluminium frame placed 16 cm above the conveyor belt. UV-C average power supplied by the lamps at 6 cm above the conveyor belt was 5 mW/cm<sup>2</sup>. In order to regulate the flow rate and thus the UV-C exposure dose, the speed of the conveyor belt was set to provide a treatment time from 25 s to 2 min, which yielded a UV-C light dose from 2.25 to 5 kJ/m<sup>2</sup>, respectively.

The number of infected fruit (disease incidence) as well as the diameter of the lesion (disease severity) and the percentage of fruit showing sporulated lesions (pathogen sporulation) were assessed after 3 and 7 days of incubation at 20°C. Green mould incidence on 'Lanelate' oranges treated with a UV-C dose of 5 kJ/m<sup>2</sup> was 64 and 42% lower than on control fruit after 3 and 7 days of incubation, respectively. Pathogen sporulation was 70 and 45% lower than on control fruit after these incubation periods. Disease severity was not significantly affected by UV-C treatments. On 'Ortanique' mandarins, treatments with UV-C light at 2.5 kJ/m<sup>2</sup> reduced green mould incidence by 56% compared to non-treated fruit after 7 days of incubation. However, disease incidence and pathogen sporulation on 'Ortanique' mandarins treated with UV-C light at 5 kJ/m<sup>2</sup> were similar to those on control fruit. In this case, although no rind damage was observed at the naked eye, UV-C light application probably resulted on slight phytotoxicity that counteracted the resistance induction. It can be concluded from these experiments that the election of the right UV-C dose was essential for the suitability of the treatments.

**Key words:** UV-C radiation. Prototype. Postharvest Citrus. *Penicillium digitatum*. Green mould

## 1. Introduction

### 1.1 Background

Currently, consumers are increasingly demanding food free from chemical residues. Alternatives to the use of chemical fungicides for postharvest treatment of fruits and vegetables are needed (Palou et al., 2008). Far-ultraviolet radiation (UV-C;  $\lambda = 254 \text{ nm}$ ) is a physical method potentially useful for the control of diseases caused by *Penicillium* spp. in citrus fruit (Ben-Yehoshua et al., 1992). UV-C light may show a direct effect by the destruction of fungal structures and an indirect effect by the induction of fruit resistance to disease (D'hallewin et al., 1999). At the right doses, UV-C is a clean, safe, and residue-free technology for the postharvest antifungal treatment of fresh produce that may substitute or reduce the use of chemicals. However, overdose of UV-C may result in phytotoxicity and therefore proper doses must be assessed experimentally.

The IVIA and the UPV have been working for the last few years on the development of a UV-C reactor prototype suitable for the postharvest treatment of citrus fruits. Our previous results (Adrados et al., 2009) showed that high UV-C radiation doses of up to  $20 \text{ kJ/m}^2$  caused damages in fruit skin which, although invisible to the naked eye, increased the susceptibility of fruit to postharvest green mould, caused by *Penicillium digitatum*.

### 1.2. Objectives

The objective of the present work was to establish the most appropriate UV-C doses to control green mould, the most important citrus postharvest disease in our Spanish environmental conditions, on 'Lanelate' oranges and 'Ortanique' mandarins.

## 2. Materials and methods

### 2.1 Prototype

The prototype used in these experiments (Figure 1) was designed to be integrated into packinglines in citrus packinghouses. This prototype was able to treat the fruit while rolling, therefore exposing the surface of the fruit more homogeneously to UV-C light. The reactor, assembled on a commercial 3-m long roller conveyor, consisted of three low pressure 55-W mercury-vapour lamps, mounted on an aluminium frame placed 16 cm above the conveyor belt. Lamps were 5-cm overlapping each other to overcome the loss of power at their ends. UV-C average power supplied by the lamps at 6 cm above the conveyor belt was  $5 \text{ mW/cm}^2$ . In order to regulate the flow rate and thus the UV-C exposure dose, the speed of the conveyor belt was set to provide a treatment time from 25 s to 2 min, which yielded a UV-C light dose from  $1.25$  to  $6.0 \text{ kJ/m}^2$ , respectively. Before every experiment, doses were calibrated using a photodiode-type sensor, and the speed was set to yield the right dose by measuring the exposure time with a chronometer.



FIGURE 1: UV-C prototype images showing the gear motor, speed setting device and position of the lamps.

## 2.2 Fruit and Treatments

Fruit used in this study were oranges cv. Lanelate (*Citrus sinensis* L. Osbeck) and hybrid mandarins cv. Ortanique [*C. reticulata* Blanco × (*C. sinensis* × *C. reticulata*); synonym: 'Topaz']. Fruit were collected from commercial orchards in Valencia (Spain) and received no fungicide treatments or coatings. Prior to each assay, fruit were selected, randomised, rinsed with fresh water, and allowed to air dry at room temperature.

In order to test the preventive effect of UV-C irradiation against green mould, fruit were wounded at two opposite sites on the equatorial zone with a sterilised stainless steel rod with a probe tip 1-mm wide and 2-mm long. Thereafter, 'Lanelate' oranges were treated with 5 kJ/m<sup>2</sup> UV-C and 'Ortanique' mandarins with 2.5 or 5 kJ/m<sup>2</sup> and then stored at 20°C and 80% RH for 6 days. According to previous preliminary tests and other workers (Kuniga et al, 2006), this is the time when the maximum induction of antifungal scoparone occurs in citrus fruit after being UV-C stimulated. *P. digitatum* isolate NAV-7, obtained from a decayed orange from the Valencia area, was grown on PDA in petri dishes at 25°C for 7 to 14 days. A conidial suspension was prepared in Tween 80 (0.05% w/v) in sterile distilled water, the concentration determined with a hemacytometer and diluted to a concentration of 10<sup>3</sup> and 10<sup>4</sup> spores/ml for 'Lanelate' oranges and 'Ortanique' mandarins, respectively. Fruit were inoculated by immersing the above described rod in the spore suspension and then introducing the tip in the same wound. Fruit were then stored at 20°C and 80% RH, and after 3 and 7 days the number of decayed fruit (incidence, %), sporulated fruit (sporulation, %), and disease lesion diameter (severity, mm) were assessed. In every experiment, four replicates of ten fruit each were used for each treatment.

## 2.3 Statistical Analysis

Data on incidence and sporulation was arcsine transformed. Only symptomatic infected fruit were considered for disease severity assessment. One-way analyses of variance (ANOVA) were performed using Statgraphics Plus 4.1 (Manugistics, Inc., Rockville, MD, USA) with disease incidence, sporulation, or severity data as dependent variables and treatment as factor. Where appropriate, means were separated by Fisher's Protected LSD test ( $P=0.05$ ).

## 3. Results

Results of the experiments with 'Lanelate' oranges and 'Ortanique' mandarins are shown on Table 1 and Figure 2, respectively.

TABLE 1: Incidence, sporulation and severity of green mould on 'Lanelate' oranges treated with 5 kJ/m<sup>2</sup> UV-C irradiation, artificially inoculated 6 days later with *Penicillium digitatum* (10<sup>3</sup> spores/ml), and incubated for 3 and 7 days at 20°C after inoculation. Different letters denote significant differences among means within each column according to LSD test ( $P < 0.05$ ).

Treatment	Incidence (%)		Sporulation (%)		Severity (mm)	
	3 days	7 days	3 days	7 days	3 days	7 days
Control	82,5 a	95 a	67,5 a	82,5 a	94,9 a	115,8 a
UV-C 5 kJ/m <sup>2</sup>	30 b	55 b	20 b	45 b	96,6 a	110,2 a

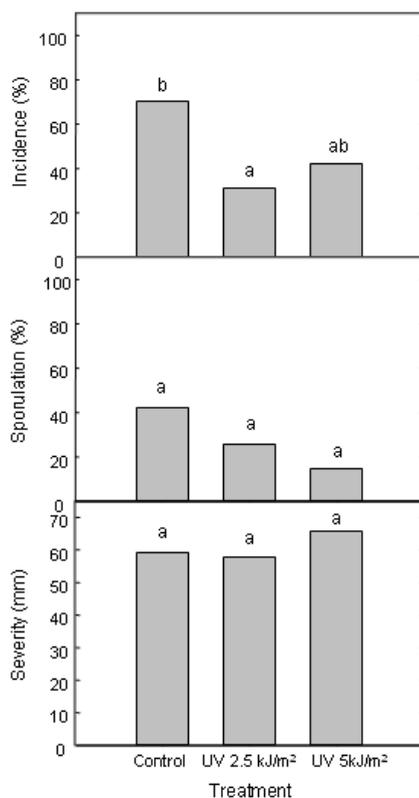


FIGURE 2: Incidence, sporulation and severity of green mould on 'Ortanique' hybrid mandarins treated with 2.5 or 5 kJ/m<sup>2</sup> UV-C irradiation, artificially inoculated 6 days later with *Penicillium digitatum* (10<sup>4</sup> spores/ml), and incubated for 7 days at 20°C after inoculation. Different letters denote significant differences among means within each group of columns according to LSD test ( $P < 0.05$ ).

#### 4. Discussion

The experimental design in this study was based on results from previous unpublished and published research (Adrados et al, 2009). It was observed that for 'Lanelate' oranges and 'Ortanique' mandarins, UV-C irradiation doses over 5 kJ/m<sup>2</sup> were harmful and increased fruit susceptibility to green mould. On 'Lanelate' oranges, UV-C irradiation at 5 kJ/m<sup>2</sup> applied 6 days before inoculation was effective to prevent green mould, since this treatment significantly reduced the incidence and sporulation rates on treated fruit compared to control fruit. Nevertheless, disease severity was not significantly affected by the treatments. On the other hand, green mould prevention was higher on 'Ortanique' mandarins treated with 2.5 kJ/m<sup>2</sup> than on mandarins treated with 5 kJ/m<sup>2</sup>. In this case, although no significant differences were found between doses, only the lower irradiation dose significantly reduced the incidence of green mould compared to control fruit. UV-C irradiation at 5 kJ/m<sup>2</sup> might cause some unnoticeable damage to fruit skin that can counteract the potential protective effects of UV-C treatment against green mould.

As described by other authors (Ben-Yehoshua et al., 1992; Droby et al., 1993), the synthesis of phytoalexins such as scoparone induced by UV-C light increases up to certain threshold and then decreases. The time elapsed until a maximum induction level is achieved, the amount of phytoalexins, and whether this amount is high enough to prevent disease development depend on treatment conditions (dose, time between treatment and fungal infection), pathogen (species, strain, inoculum density) and host fruit (species, cultivar, fruit physical and physiological condition). This variability explains the importance of testing the performance of UV-C treatments for every particular case in order to establish the optimum commercial treatment conditions.

In this study, UV-C light at 2.5 and 5 kJ/m<sup>2</sup> applied to 'Ortanique' and 'Lanelate' citrus fruit, respectively, prevented green mould sufficiently to be considered as part of a strategy to substitute or reduce the use of conventional synthetic fungicides for the control of postharvest diseases.

#### 5. Reference list

- Adrados, C., Palou L, Ibiza S., García, E., & Gutiérrez, P. (2009). Ensayo de un prototipo experimental de reactor de UV-C para tratamiento poscosecha de cítricos. Actas V Congreso Nacional y II Congreso Ibérico Agroingeniería 2009, Lugo - 28 al 30 de Septiembre del 2009.
- Ben-Yehoshua, S., Rodov, V., Kim, JJ., & Carmeli, S. (1992). Preformed and induced antifungal materials of citrus fruits in relation to the enhancement of decay resistance by heat and ultraviolet treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 1217-1221.
- D'hallewin, G., Schirra, M., Manueddu, E., Piga, A., & Ben-Yehoshua, S. (1999). Scoparone and scopoletin accumulation and ultraviolet-C induced resistance to postharvest decay in oranges as influenced by harvest date. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 124, 702-707.
- Droby, S., Chalutz, E., Horev, B., Cohen, L., Gaba, V., Wilson, CL., & Wisniewski, M. (1993). Factors affecting UV-induced resistance in grapefruit against the green mould decay caused by *Penicillium digitatum*. *Plant Pathology*, 42, 418-424.
- Kuniga, T., Tsumura, T., Matsuo, Y., & Matsumoto, R. (2006) Changes in scoparone concentration in citrus cultivars after ultraviolet radiation. *Journal of the Japanese Society of Horticultural Science*, 75, 328-330.
- Palou, L., Smilanick, J. L., & Droby, S. (2008). Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. *Stewart Postharvest Review* 2 (2):1-16.

---

# Evaluación de varios prototipos para el tratamiento con luz UV-C en poscosecha de cítricos

Ibiza, S.; Montesinos, Cl.; Palou, Ll.; Adrados, C.

I Encuentro estudiantes de Doctorado.  
Valencia, 12 de Junio de 2.014

# EVALUACION DE VARIOS PROTOTIPOS PARA EL TRATAMIENTO CON LUZ UV-C EN POSCOSECHA DE CITRICOS



UNIVERSITAT  
POLITÈCNICA  
DE VALÈNCIA

Autor: Salvador Ibiza. Programa Agro-ingeniería  
Colaborador: Clara Montesinos,  
Directores: Lluís Palou, Carlos M. Adrados

Correspondencia autor. e-mail: [sallbmau@upvnet.upv.es](mailto:sallbmau@upvnet.upv.es)

Los fungicidas utilizados para el tratamiento poscosecha de cítricos, son considerados a menudo un riesgo para los consumidores y para el medio ambiente. Las alternativas simples y combinadas, que no dejan residuo en la fruta; son cada vez mas demandadas.

El objetivo de este trabajo, ha sido determinar en varios prototipos, la dosis más adecuada de UV-C para el control del moho verde; la enfermedad más importante en la poscosecha de cítricos. Se han realizado ensayos en varias variedades de naranjas y mandarinas, como la 'Lanelate' y 'Ortanique', en varias campañas (2.008-11)

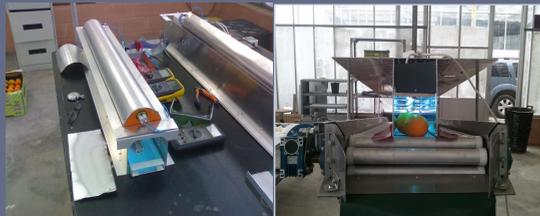
## MATERIALES Y METODOS

Se realiza una herida a la fruta, utilizando un punzón (de 2 mm long x 1 mm ancho)



**Tratamiento preventivo con luz UV-C**

2.5 o 5 kJ/m<sup>2</sup> (Mandarinas Ortanique)  
5 kJ/m<sup>2</sup> (Naranjas Lanelate)  
Testigo, 4 repeticiones de 10 frutos por tratamiento



**Figura 1:** Imágenes de los tres prototipos utilizados. En los dos primeros, la fruta permanece fija. En el último la fruta gira y se desplaza a través de una rulada; con tiempos de aplicación de entre 30 segundos y 2 minutos. El primer prototipo suministra potencias UV-C de hasta 30 mW s/cm<sup>2</sup>, y los dos restantes potencias UV-C de hasta 10 mW s/cm<sup>2</sup>.

**Almacenada durante 6 días**  
A 20°C y 80% HR

**Inoculación de *Penicillium digitatum* sobre las heridas existentes.**

10<sup>4</sup> esporas/ml en M. Ortanique  
10<sup>3</sup> esporas/ml en N. Lanelate



**Análisis estadístico**  
ANOVA (Statgraphics Plus4.1)  
Nivel de significación LSD.

**Evaluación de la enfermedad:**

Cantidad de podrido (incidencia, %)  
Frutos esporulados (esporulación, %)  
Diámetro podredumbre (severidad, mm)

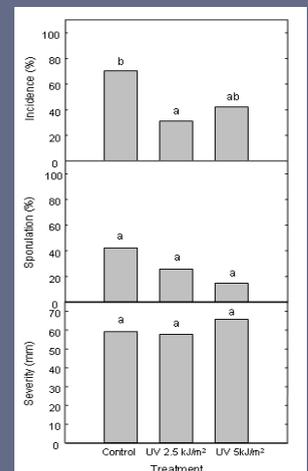
**Almacenada entre 3 y 7 días**

A 20°C y 80% HR

## RESULTADOS

**Table 1. Prototipo 3** Incidencia, esporulación y severidad de moho verde en N. Lanelate, tratadas con irradiación de 5 kJ/m<sup>2</sup> UV-C, inoculadas 6 días después con *Penicillium digitatum* (10<sup>3</sup> esporas/ml), e incubadas entre 3 y 7 días a 20°C después de la inoculación. Diferentes letras, indican diferencias significativas entre medias en cada columna, según LSD test (P < 0. 05)

Treatment	Incidence (%)		Sporulation (%)		Severity (mm)	
	3 days	7 days (%)	3 days	7 days	3 days	7 days
Control	82,5 a	95 a	67,5 a	82,5 a	94,9 a	115,8 a
UV-C 5 kJ/m <sup>2</sup>	30 b	55 b	20 b	45 b	96,6 a	110,2 a



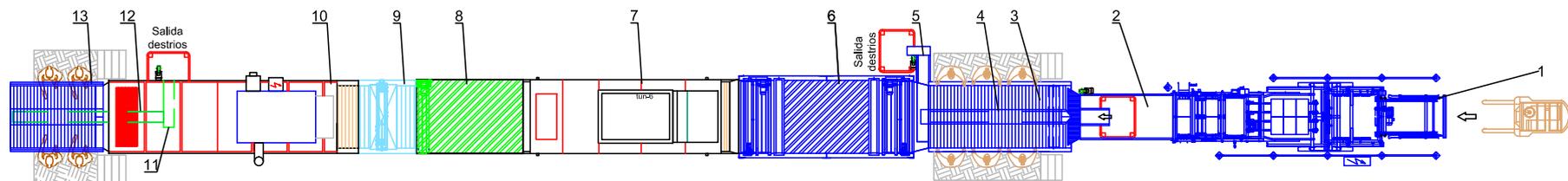
**Figure 2.** Prototipo 3 Incidencia, esporulación y severidad del moho verde en M. Ortanique tratada con irradiación UV-C de 2.5 o 5 kJ/m<sup>2</sup>, inoculadas artificialmente con *Penicillium digitatum* (10<sup>4</sup> esporas/ml), 6 días después, y incubadas durante 7 días a 20°C. Diferentes letras, indican diferencias significativas entre medias en cada columna, según LSD test (P < 0.05).

## CONCLUSIONES

Se han realizado tanto tratamientos preventivos como curativos con los distintos prototipos y a lo largo de las campañas (2008-11). Mediante irradiación con distintas dosis de UV-C. En este estudio con el prototipo 3, mostramos el mejor tratamiento preventivo obtenido. Dosis de UV-C a 2.5 o 5 kJ/m<sup>2</sup> aplicadas respectivamente a M. Ortanique y N. Lanelate, inhiben suficientemente el desarrollo del moho verde y pueden ser considerados como parte de la estrategia de sustituir o reducir el uso de fungicidas para su control en la poscosecha de cítricos.

## Anejo 2

Línea comercial de confección de cítricos con el aplicador para el tratamiento UV-C



1	Despaleizador, volcador y enfundadora
2	Transportador alimentación fruta
3	Previa tria cn autolimpieza
4	Transportador salida podrido
5	Transportador salida destríos
6	Lavadora de fruta con deposito y filtro
7	Túnel de presecado
8	Aplicador UV-C
9	Aplicador de cera
10	Túnel de secado
11	Transportador salida destríos
12	Transportador salida destríos
13	Mesa de selección