

# **Cladosporium, un patógeno de relevancia en envíos lejanos. Identificación, control y situación actual**

Dra. Celia Murciano Camps

---

## **XI Seminario Internacional de Cítricos 2023**

18 y 19 de abril Lima - Perú



**CITROSOL**  
ADVANCED POSTHARVEST SOLUTIONS  
AUSPICIADOR PLATINO

## Campaña 2018

## En envíos refrigerados a EEUU y China



- ✓ Las lesiones no eran detectables en origen, cuando la fruta estaba siendo confeccionada, pero se desarrollaron durante los 15 a 45 días de transporte refrigerado y después de la descarga de los contenedores en el destino.
- ✓ La fruta afectada presentaba unas **manchas negras superficiales y firmes de forma circular en toda la piel de la fruta**, sin ningún patrón identificable.

Las variedades más afectadas:

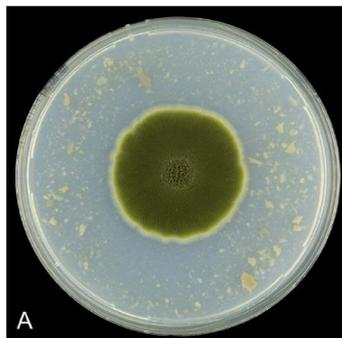
- ✓ **W. Murcott**
- ✓ Nadorcott
- ✓ Tango

Aunque no se observa maceración de la piel ni de la pulpa, la fruta no puede venderse debido al desagradable aspecto de la piel.



# 1. Aislamiento e identificación del patógeno

- ✓ La identificación a nivel de género se realizó basada en la **morfología** macroscópica de las colonias y la morfología microscópica de las colonias.



→ ***Cladosporium sp.***

- ✓ La identificación a nivel de especie se realizó por amplificación y **secuenciación** de Sanger y **análisis bioinformático**

→ ***Cladosporium ramotenellum***

**(*C. herbarum* complex)**



- ✓ **Origen de la infección:** Aislamos e identificamos genéticamente *C. ramotenellum* desde W. Murcott verde de campo, lo que indica que la infección muy probablemente comienza antes de la cosecha.



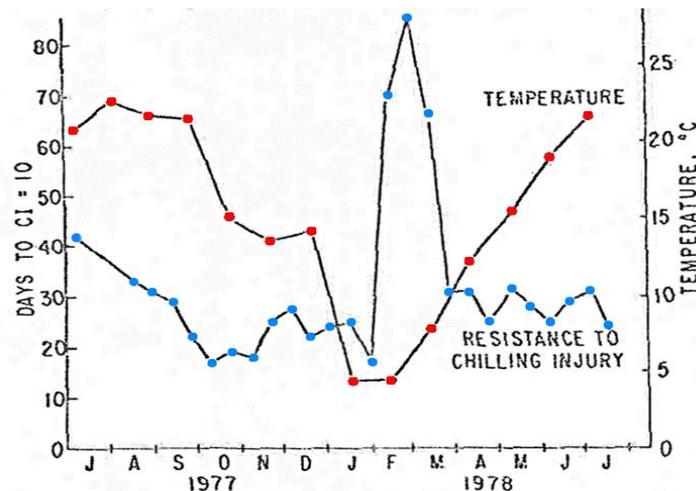
- ✓ **Cumplimiento de los postulados de Koch:** Fuimos capaces de infectar fruta sana con los aislados recuperados de fruta afectada, probando su carácter patogénico.

Estos resultados – aislamiento, identificación y cumplimiento de los postulados de Koch – establecen que este hongo es el agente causal de la enfermedad que tuvo lugar en los envíos de mandarinas peruanas en 2018.

Aunque es una especie muy ubicua, **esta es la primera descripción de *C. ramotenellum* como causante de podrido en cítricos.** Los síntomas son similares a los descritos previamente y causados por *C. cladosporioides* en Satsumas de Japón.

## ¿Cómo comienza la infección?

- ✓ Este patógeno necesita **heridas o áreas debilitadas en la corteza para penetrar y comenzar la infección**. El tiempo y la temperatura requeridos en las cuarentenas causarían daño por frío (Chilling Injury; CI) que sería la puerta de entrada para el patógeno. **Además, este hongo puede crecer a temperaturas muy bajas, cercanas a 0° C.**
- ✓ El CI es dependiente del binomio Tiempo/Temperatura; generalmente más tiempo a menos temperatura se traduce en más daño. Y está ampliamente descrito que la fruta cosechada a final de campaña es mucho más sensible a CI.



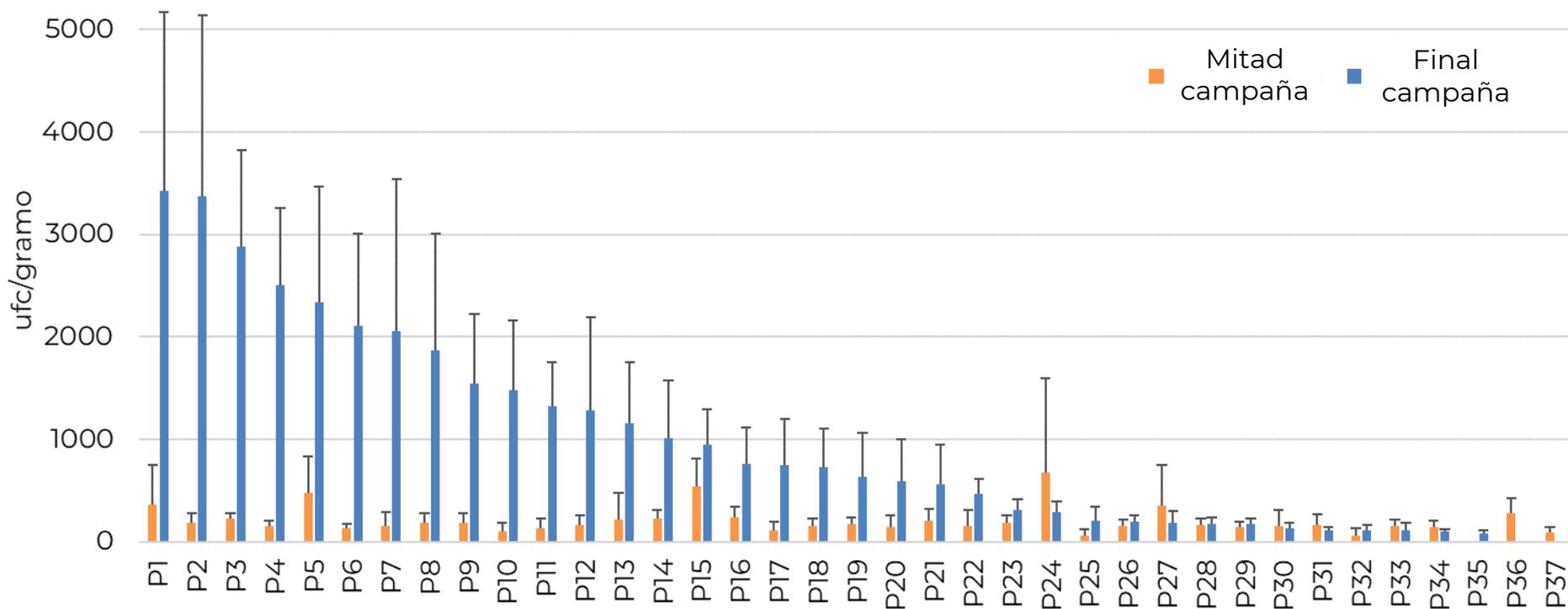
**Por tanto, es importante tener en cuenta que la fruta cosechada a final de campaña, y por tanto más susceptible a sufrir CI durante el transporte, tiene más riesgo de sufrir infección por *Cladosporium* sp.**

- ✓ Desde la campaña 2018, hemos estado haciendo un seguimiento y monitorización exhaustivos de la incidencia de *Cladosporium* sp.
- ✓ Además, desde la campaña 2020, estamos evaluando la **carga de *Cladosporium* sp. en la superficie de fruta de campo** en distintas áreas y productores para intentar establecer una correlación entre carga fúngica e incidencia de la enfermedad.
- ✓ Este análisis lo realizamos en paralelo a los **análisis de contaminación Ambiental y Superficial** en los almacenes de nuestros clientes, ya que buenos protocolos de Limpieza y Desinfección son clave para limitar la diseminación de *Cladosporium* sp. y otros patógenos fúngicos.

## 2. Monitorización de la enfermedad

En 2022 analizamos fruta de 37 productores distintos, a mitad y final de campaña. Estos productores prevenían de 7 áreas diferentes.

Contaminación superficial por *Cladosporium* sp. en fruta de campo de distintos productores

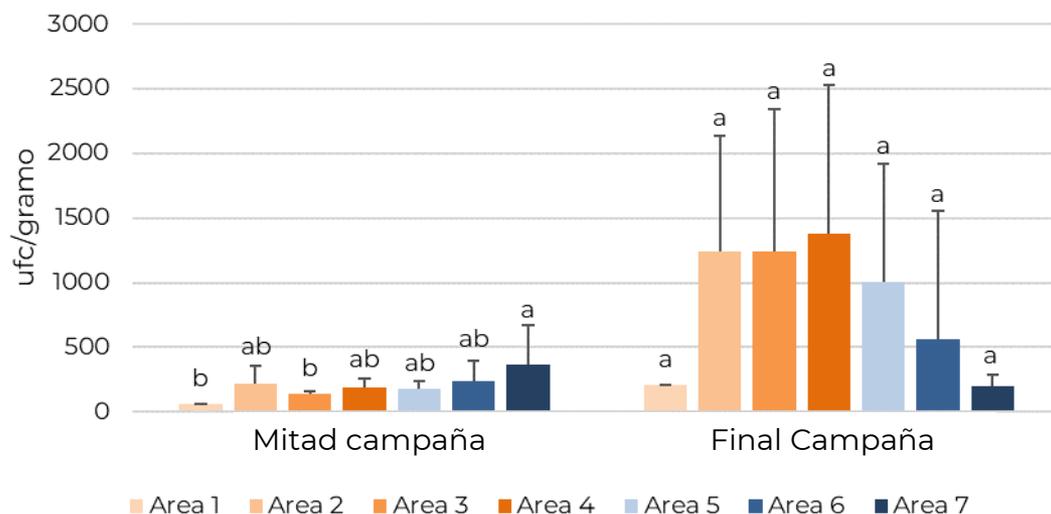


### Conclusiones del estudio

✓ Desde la campaña 2020, los niveles de *Cladosporium* sp. en fruta de campo han ido incrementando.

✓ Se encontraron mayores niveles de contaminación por *Cladosporium* sp. en las zonas del norte (barras naranjas), comparado con las zonas del sur (barras azules), aunque las diferencias no son significativas.

Contaminación superficial por *Cladosporium* sp. en fruta de campo de las áreas evaluadas



✓ En la campaña 2022, algunos productores con cargas fúngicas más altas reportaron incidencia de la enfermedad en destino, demostrando que estos análisis pueden usarse como un índice predictivo de riesgo.

## 2. Monitorización de la enfermedad

- ✓ En septiembre de 2022 volvimos a aislar *Cladosporium* sp. de fruta afectada por mancha negra.
- ✓ La fruta procedía de 2 productores distintos



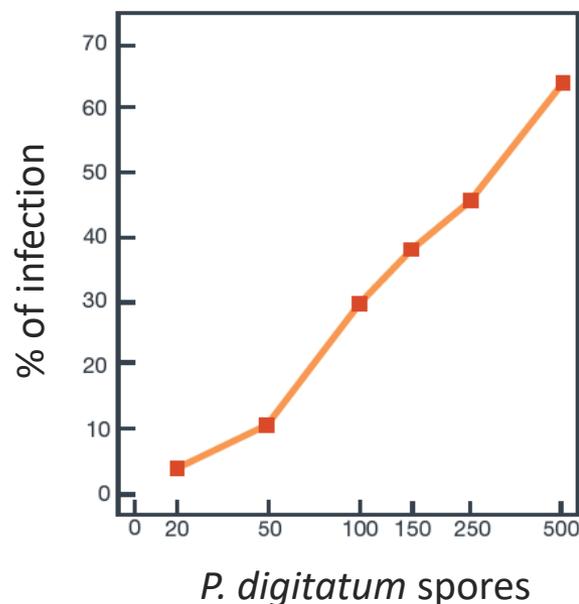
- ✓ La secuenciación genética de ambos aislados mostró que la especie causante del podrido es la misma que la aislada desde fruta afectada en 2018: ***C. ramotenellum***

Código muestra	Identificación taxonómica	% Identidad de Secuencia
Cladosporium Perú DF 2/2	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	100 %
Cladosporium Perú CP	<i>Cladosporium ramotenellum</i>	100 %

## ¿Que debemos hacer?



**Disminuir el inóculo de *Cladosporium* sp. y *C. ramotenellum* en la superficie de la fruta de campo**



Se ha demostrado que existe una relación directa entre el número de esporas de *P. digitatum* y *G. candidum* que llegan a la herida y la frecuencia de infección en cítricos (Eckert J. W., Eaks T.L. 1984.).

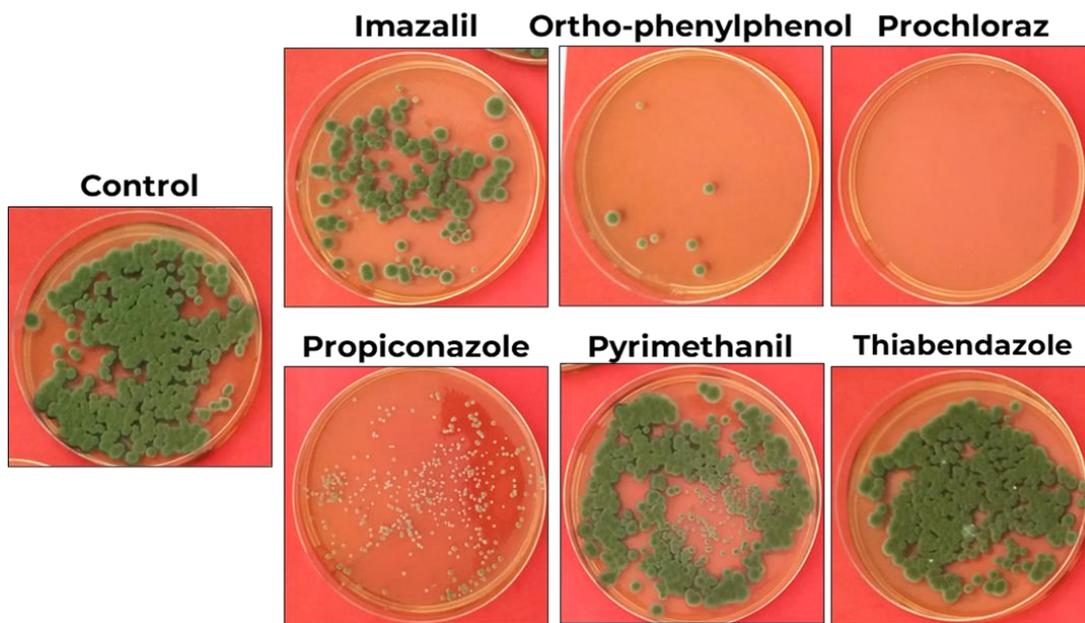
Parece que esta correlación es también válida en el caso del podrido por *Cladosporium* sp.



**Proteger a la corteza de la fruta del Daño por Frío**

Desde 2018 hemos trabajado con nuestros clientes y exportadores para diseñar tratamientos postcosecha que controlen de manera eficaz la incidencia y severidad de este patógeno emergente.

#### Trabajos iniciales en 2018



El  
Ortofenilfenol  
es eficaz in vitro  
frente a esta  
especie de  
*Cladosporium*

### 3. Tratamientos para el control de la mancha negra

Testamos una combinación de Tratamientos, basados en **Ortofenilfenol** y **Citroicide**, para disminuir el inóculo de *Cladosporium* sp. en el fruto:

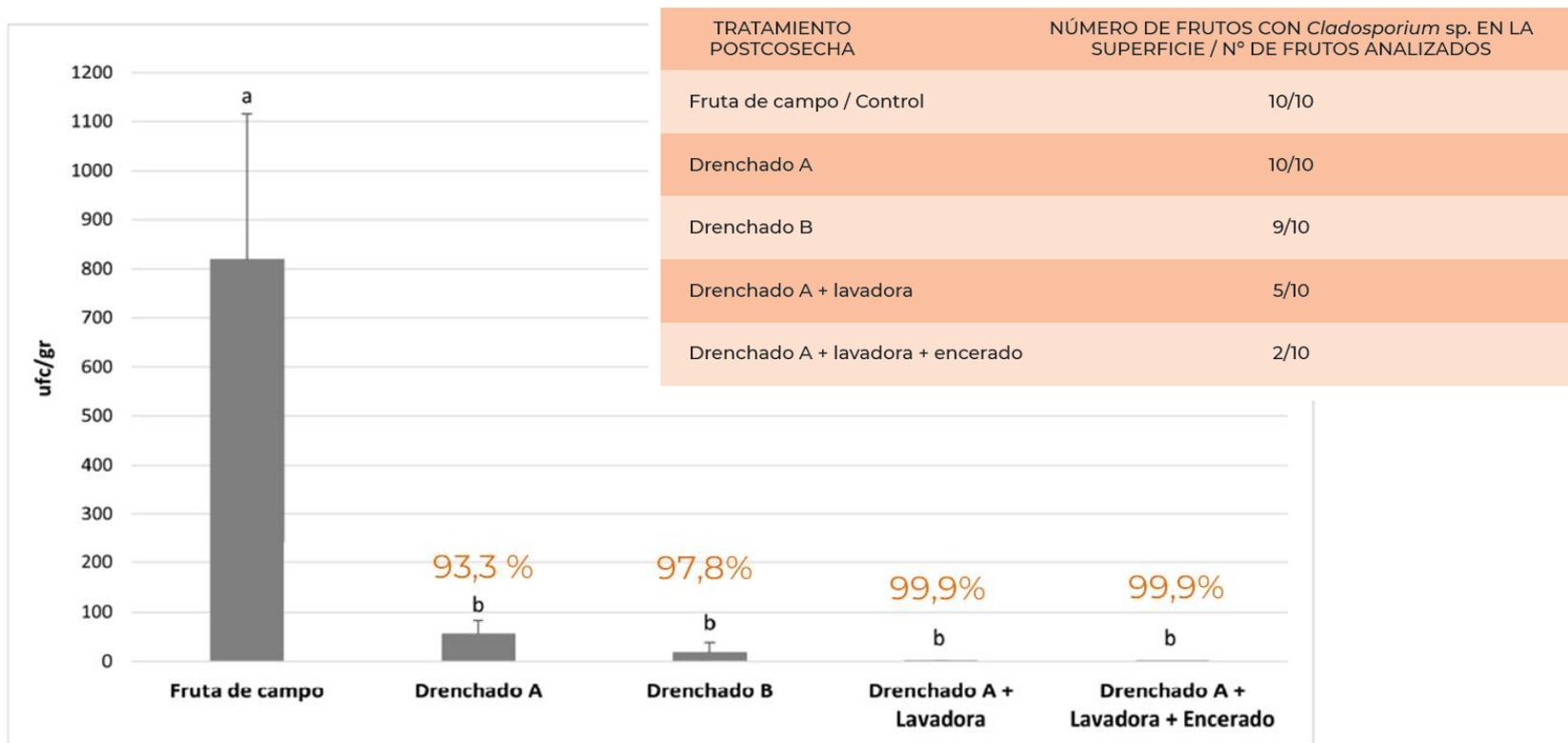
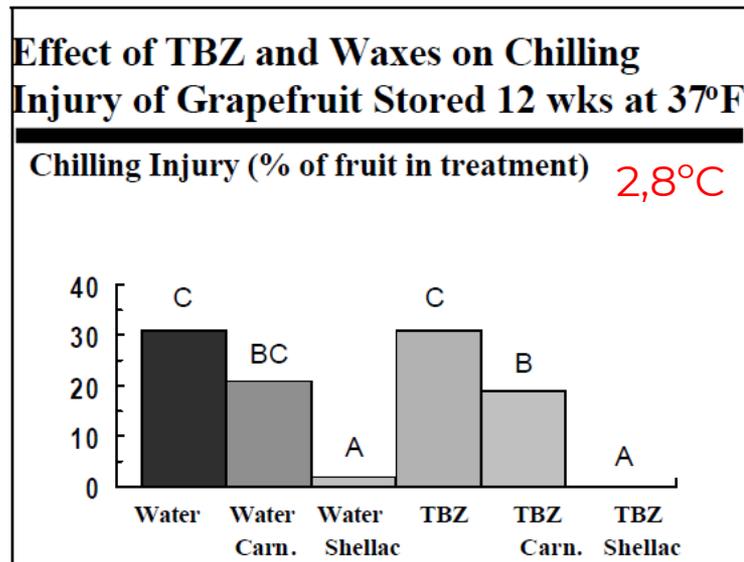
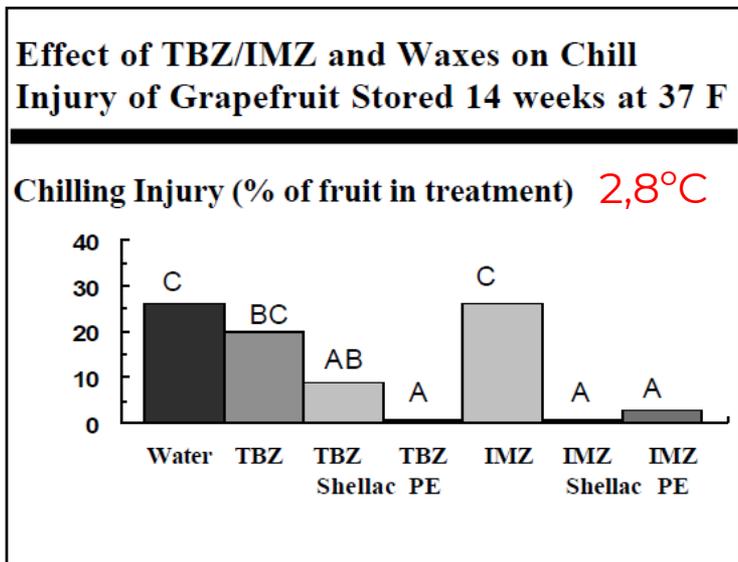


Figura 3. Efecto de los tratamientos poscosecha sobre la carga de *Cladosporium* sp. en la superficie de la fruta. Las ufc/gr fueron cuantificadas en 10 frutos seleccionados aleatoriamente tras cada tratamiento poscosecha, y se expresa como la media de la ufc/gr  $\pm$  desviación estándar. Letras diferentes implican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos poscosecha.

Desde los ensayos iniciales, hemos seguido trabajando en la optimización y validación de tratamientos postcosecha más eficaces:

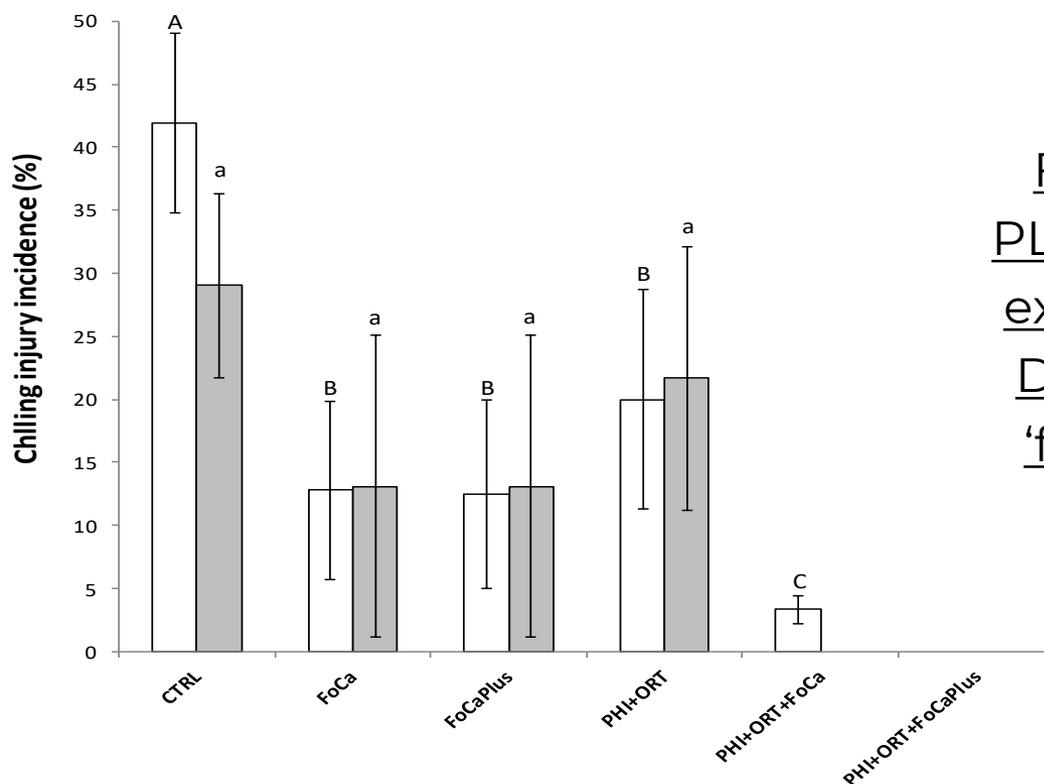
## 1. Fungicidas:

- El OPP es el fungicida más eficaz frente a *C. ramotenellum* (Murciano et al, 2021)
- IMZ y TBZ tienen un efecto beneficioso en el control de daño por frío:



(De Dou et al, Packinghouse Day 2000).

## 2. Fortisol: Se recomienda incluir Fortisol Ca al 1-1,5% en el tratamiento drencher



Fortisol Ca y Fortisol Ca PLUS muestran resultados excelentes controlando el Daño por frío en limones 'fino' tras 33 días a 7 °C + 5 días a 22 °C

Daño por frío en limos 'fino' tratados en precosecha con Fortisol Ca (1%) (barras grises) o no (barras blancas), y los tratamientos postcosecha indicados en la gráfica a las siguientes concentraciones: Fortisol Ca 1%, Fortisol Ca Plus 1,5%, Philabuster 0,2%, Ortocil 1%. (G. Martínez-Hernández, et al., 2017, Food Packaging and Shelf Life)

## 3. Ceras para el control de Daño por frío

IMITANDO A LA NATURALEZA



**NUEVOS RECUBRIMIENTOS**  
**CI-CONTROL®**

### CONTROLAN LOS MANCHADOS POR DAÑO POR FRÍO

Los manchados por Daño por Frío en cítricos aparecen posteriormente al almacenamiento y/o transporte frigorífico. Se manifiestan con mayor intensidad en la cara externa del fruto, mientras que la cara interna es la menos afectada porque conserva su cera epicuticular intacta.

CITROSOL ha conseguido mejorar las formulaciones de algunos recubrimientos con la protección extra **CI-CONTROL®** que reduce, incluso elimina, estos manchados.

Una **gran ventaja competitiva** en los mercados que exigen una reducción de materias activas

#### 4. Recomendaciones de Tratamiento\*:

\* Para variedades tardías, más susceptibles a la infección por *Cladosporium* sp.

#### DRENCHER

PRODUCTO	% Materia Activa	DOSIS (L de producto / 1000 L de agua)	Concentration de materia activa (ppm)
<b>IMACIDE 7.5 LS</b>	IMZ 7,5%	6	450 ppm IMZ
<b>ORTOCIL</b>	OPP 10%	20	2000 ppm OPP
<b>FORTISOL Ca PLUS</b>	Sales solubles de Ca, P y Na	15	(Este product no tiene LMR)
<b>CITROCIDE PLUS</b>	PAA 15%	1,0	150 ppm PAA

**LAVADORA: Sistema CITROCIDÉ® ONLINE:** Disminuye la cantidad de inóculo sobre la fruta y desinfecta la lavadora evitando contaminaciones cruzadas

PRODUCTO	DOSIS
Citrocidé® PC	0,6 %
Essasol / Negrol	0,5 – 2%

### CERA

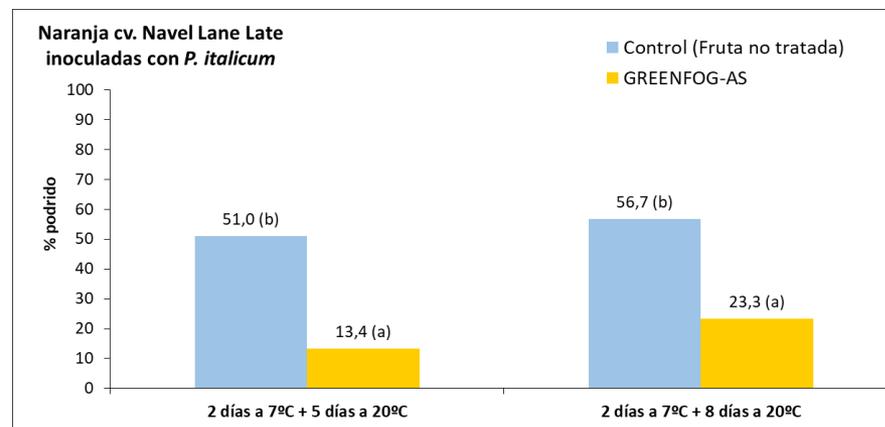
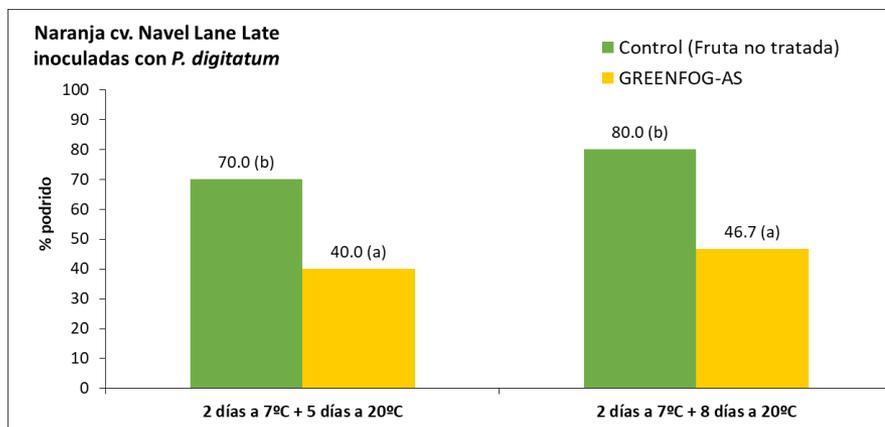
PRODUCTO	DOSIS	Concentración de fungicida (ppm)
<b>PLANTSEAL CI-CONTROL</b>	Cera de Carnauba 20% La dosis de cera es de 1 a 1.2 L/Ton.	-
<b>CITROSOL 500</b>	0,8 L / 200 L de cera	2 000 ppm de IMZ
<b>CITROTEC 45 SC</b>	2,2 L / 200 L de cera	5 000 ppm de TBZ
<b>ORTOSOL 6500</b>	2,5 L / 200 L de cera	3 575 ppm de OPP

## TRATAMIENTO FUMÍGENO PARA CÁMARAS Y CONTENEDORES



✓ Preparado a base de **aditivos alimentarios (E-200)**

- ✓ **Bote fumígeno** anti-fúngico a base de **ácido sórbico** para tratamiento postcosecha de cítricos en cámaras de expedición y/o contenedor.
- ✓ Eficacia sobre los principales hongos causantes de podredumbres en frutos cítricos.



- ✓ Dosis de utilización es de 2 botes fumígenos de 600 g por cada 20 toneladas de cítricos recolectados contenidos en cámara o contenedor.

## Cumple con las exigencias del mercado de utilización de formulados más saludables a la vez que eficaces y es conforme a la legislación vigente

El ácido sórbico (E-200) está admitido en la UE para el tratamiento superficial de cítricos recolectados, según la legislación de aditivos alimentarios de la UE:

Reglamento (UE) 1129/2011 y Directiva 2010/69/UE. LMR = 20ppm

[Regulation \(EU\) No 1129/2011 of 11 November 2011 amending Annex II to Regulation \(EC\) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council by establishing a Union list of food additives](#)

El ácido sórbico está considerado como “GRAS” por la FDA y listado (mediante su forma de sal potásica: sorbato potásico) como “*minimum risk pesticide*” por la US EPA y como exento de requerimientos de tolerancia de residuo

[US Food & Drug Administration](#)

[US CFR, Title 40, Chapter I, Subchapter E, Part 152, Subpart B, Section 152.25 \(f\) Minimum risk pesticides, \(1\) Exempted products](#)



**GREENFOG®-AS**

- Aplicación rápida, fácil y sencilla
- Aplicación homogénea y versátil
- Tratamiento para cámara y/o contenedor frigorífico
- No necesita de instalación previa de equipos
- Sin necesidad de mojar la fruta
- Sin manipulación de la fruta
- Sin generación de aguas residuales
- Eficacia probada como tratamiento alternativo y/o complementario

Estamos trabajando en la eficacia de **GREENFOG-AS** para **reducir la carga superficial de *Cladosporium* y otros hongos**  
→ Resultados preliminares indican eficacia

### 3. Tratamientos para el control de la mancha negra



### 3. Tratamientos para el control de la mancha negra

#### Tratamiento complementario en contenedores



Muchas gracias por su  
atención

**¿Preguntas?**



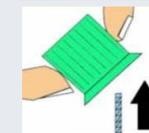
## CÁMARAS – CUARTOS FRÍOS

1. Cerrar herméticamente todas las fugas de aire del recinto. Detener los ventiladores, sensores y analizadores
2. Retirar el tapón del bote
3. Colocar el bote en el suelo lejos de materiales inflamables y encender la mecha
4. Comprobar el correcto funcionamiento del bote (ver humo)
5. Salir de la cámara y cerrarla herméticamente
6. Señalizar la cámara tratada prohibiendo la entrada a personas en la zona tratada
7. Esperar 5 minutos y después, con la renovación de aire desconectada (ventilación al exterior), remover internamente el aire para distribuir correctamente el humo (15 minutos).
8. En 3-4 horas, el aire de la cámara se puede renovar con normalidad

1



2



3



4



5



6



7



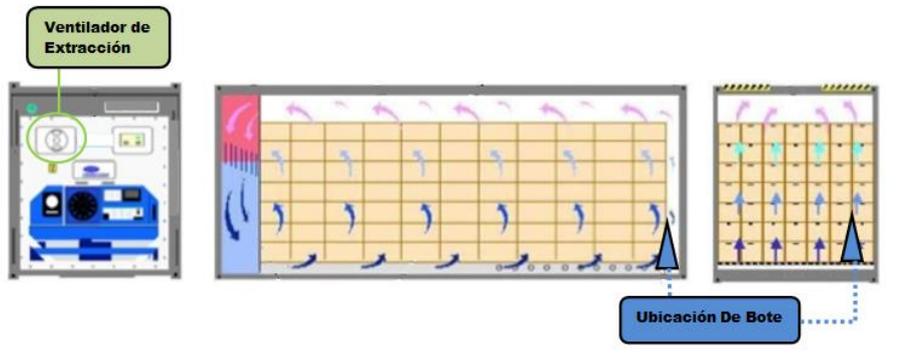
8





## CONTENEDORES FRIGORÍFICOS

1. Sellar herméticamente todas las fugas de aire. Desconectar ventiladores y analizadores
2. Retirar el tapón del bote
3. Colocar el bote en el interior del soporte metálico y encender →
4. Comprobar el correcto funcionamiento del bote (ver humo)
5. Cerrar la Puerta herméticamente
6. Esperar 5 minutos y remover el aire internamente para distribuir correctamente el humo durante 5 minutos



aire

