

## Artículo original

# Alternativas para el control de hongos postcosecha en naranjas valencia (*Citrus sinensis*)

Clemencia Guédez<sup>a,\*</sup>, Luis Cañizalez<sup>a</sup>, Carmen Castillo<sup>a</sup>, Rafael Olivar<sup>c</sup>, Miguel Maffei<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Lab. Fitopatología y Control Biológico “Dr. Carlos Díaz Polanco”, <sup>b</sup>Lab. Postcosecha, Núcleo “Rafael Rangel”, Universidad de Los Andes. <sup>c</sup>ETAR “Adolfo Navas Coronado”, Ministerio del Poder Popular para la Educación. Venezuela.

Recibido 10 de febrero de 2010; aceptado 14 de junio de 2010

**Resumen:** La finalidad de este estudio fue conocer la efectividad del hongo *Trichoderma harzianum*, el quitosano y el bicarbonato de sodio en el control de hongos postcosecha en naranjas valencia. Se utilizaron 120 naranjas valencia, usando 24 naranjas por grupo. Cada uno de estos grupos fue sumergido en uno de los siguientes tratamientos: cultivo del hongo *T. harzianum* ( $1 \times 10^9$  esporas/mL), quitosano (2%), bicarbonato de sodio (1%) y agua común (testigo); las 24 naranjas restantes no recibieron tratamiento y fueron consideradas como grupo control. Las naranjas fueron posteriormente almacenadas en envases de plástico con papel absorbente durante 14 días, a 27°C, para determinar el crecimiento de hongos u otra alteración. Se desarrollaron 4 especies de hongos en el grupo control: *Penicillium digitatum* (80%), *Penicillium italicum* (10%), *Colletotrichum gloeosporioides* (5%) y *Cladosporium herbarum* (5%), con diferencias significativas entre hongos ( $p < 0,05$ ). En el testigo, sólo se encontró *P. digitatum* en un 29,1% y en los tratamientos con quitosano y bicarbonato de sodio sólo se presentaron pudriciones no fúngicas en un 20,8% y 41,6% respectivamente. Las tratadas con *T. harzianum* no presentaron hongos, ni ninguna alteración en 14 días de tratamiento, existiendo diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en cuanto a la presencia de hongo o alteración por tratamiento. Esto sugiere que es posible controlar hongos postcosecha de las naranjas con el hongo *T. harzianum*.

**Palabras clave:** *Trichoderma harzianum*, quitosano, bicarbonato de sodio, pudriciones, control natural

## Alternatives for postharvest fungi control of valencia oranges (*Citrus sinensis*)

**Abstract:** The purpose of this study was to establish the effectiveness of the fungus *Trichoderma harzianum*, chitosane and sodium bicarbonate for postharvest fungus control of valencia oranges. We used 120 valencia oranges using 24 oranges per group. Each of the groups was immersed in one of the following treatments: *T. harzianum* cultures ( $1 \times 10^9$  spores/mL), chitosane (2%), sodium bicarbonate (1%) and running water (witness); the remaining 24 oranges did not receive any treatment, and were considered as the control group. The oranges were later stored in plastic containers with absorbent paper during 14 days at 27°C to determine fungus growth or any other alteration. Four fungi species developed in the control group: *Penicillium digitatum* (80%), *Penicillium italicum* (10%), *Colletotrichum gloeosporioides* (5%) and *Cladosporium herbarum* (5%) with significant differences among fungi ( $p < 0.05$ ). In the witness group there was only *P. digitatum* (29.1%), and in the groups treated with chitosane and sodium bicarbonate there was only non-fungal rotting in 20.8% and 41.6%, respectively. The oranges treated with *T. harzianum* did not present fungi or any other alteration during the 14 treatment days, and there were significant differences ( $p < 0.05$ ) as to presence of fungi or alterations during treatment. This suggests that it is possible to perform a post harvest control of oranges with the *T. harzianum* fungus.

**Keywords:** *Trichoderma harzianum*, chitosane, sodium bicarbonate, rotting, natural control

\* Correspondencia:

E-mail: clemencia.guedez@gmail.com

## Introducción

La naranja valencia (*Citrus sinensis*) es la variedad que tiene mayor demanda a nivel mundial y una de las más cultivadas en el país. Produce frutos de tamaño mediano y jugo abundante. De todas las variedades comerciales, es la que posee el mayor rango de adaptación climática.

En Venezuela no existe información disponible sobre la naturaleza e impacto de las poblaciones de microorganismos patógenos de los cítricos cultivados. La infección por hongos en los cítricos puede ocurrir durante el cultivo, en el momento de la cosecha, durante el procesamiento o empaquetado, almacenamiento, transporte, mercado e incluso después de ser adquirido por el consumidor [1]

Las enfermedades postcosecha constituyen el factor limitante en el almacenamiento de frutas y vegetales, los estudios sobre éstas a nivel mundial sugieren que el problema se presenta diferente en cada región, tanto por el tipo de manejo, como condiciones de suelo, clima y hasta variedad del fruto [2]. Por lo tanto es necesario estudiar cada caso y no se debe generalizar sobre la incidencia de estas enfermedades ni de su control.

Los cítricos son atacados por una amplia gama de microorganismos en la fase de postcosecha, manifestando signos y síntomas de deterioro cuando el patógeno comienza a desarrollarse activamente. Estos microorganismos producen una depreciación del producto, que en muchos casos se debe desechar y no se puede comercializar. Los hongos que afectan a los cítricos por orden de importancia son: *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, *Alternaria citri*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Geotrichum candidum*, *Rhizopus stolonifer*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata*, *Phytophthora citrophthora*, *Trichoderma viride*, *Trichotecium roseum*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Sclerotinia sclerotinium*, *Diplodia mutila* y *Phomopsis citri* [1].

El grado de ataque de estos hongos está influido por una serie de factores: ambientales (humedad relativa, temperatura), tejido vegetal (estado fenológico, presencia de heridas), y los hongos (cantidad y calidad del inóculo). Además de estos factores interviene el factor humano, como por ejemplo en el momento de la recolección, método de conservación, la presencia de heridas debido al mal manejo del fruto, presencia de inóculo en el almacén de cosechas anteriores, entre otros [3].

Los hongos *Penicillium italicum* y *Penicillium digitatum*, causantes del moho azul y moho verde respectivamente, son los hongos postcosecha más comunes en cítricos y penetran a la fruta a través de heridas, por lo cual resulta muy importante minimizar los golpes durante y después de la cosecha. Esta medida, sin embargo no resulta suficiente, por lo que se somete a la fruta a tratamientos previos al empaque, de forma de minimizar las pérdidas durante el almacenamiento [4].

El uso de agentes químicos en el control de hongos y pudriciones en algunas frutas y hortalizas, mediante aplicaciones postcosecha de fungicidas, ha sido una práctica común en el control de hongos; sin embargo, el uso de estos compuestos químicos se ha restringido debido a sus efectos carcinógenos, teratogénicos, alta residualidad, período largo de degradación, contaminación ambiental y otros efectos negativos [5], así como a la resistencia de los microorganismos patógenos a estos productos sintéticos [6,7].

Esto ha generado la necesidad de encontrar alternativas al uso de productos químicos para solucionar los problemas de conservación de frutas y vegetales. En este sentido, resulta interesante el uso de tratamientos basados en productos de origen natural con eficacia antimicrobiana, para minimizar tanto las pérdidas en campo como las que se producen durante el almacenamiento [3].

Las alternativas de manejo de enfermedades postcosecha diferentes al control químico son múltiples, variadas y factibles de utilizarse desde el punto de vista práctico [8]. En los últimos años se han explorado opciones como el control biológico, uso de extractos vegetales y sales minerales [3]. El control biológico con microorganismos antagonistas como bacterias, levaduras y hongos filamentosos, ha sido utilizado para controlar pudriciones postcosecha de frutas cítricas, producidas por hongos como *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum* [4].

Entre los hongos más usados como control biológico contra hongos fitopatógenos está *Trichoderma* spp., el cual es un hongo económicamente importante por su habilidad micoparasítica y capacidad para controlar hongos fitopatógenos del suelo [9]. La selección de microorganismos benéficos en el control de hongos postcosecha, se basa en la habilidad de los antagonistas para colonizar rápidamente la superficie de la fruta y heridas persistiendo en ellas a niveles efectivos; en su capacidad para superar al patógeno en la adquisición de nutrientes y en que sobreviva y se desarrolle bajo una amplia gama de condiciones ambientales [10].

Entre otras alternativas de control postcosecha se encuentra el uso de sales minerales, utilizadas con éxito en el control de patógenos postcosecha de *Citrus sinensis* y entre las cuales podemos mencionar el carbonato y bicarbonato de sodio. Existen varios trabajos que demuestran su utilidad, en donde algunos investigadores [11] demostraron que la inmersión de mandarina clementina en solución de carbonato de sodio al 3% a 50°C durante 150 segundos e inoculadas con *P. digitatum* y *P. italicum*, inhibía completamente la aparición de síntomas en heridas, luego de 7 días a 20°C.

Otro tipo de sustancias de origen natural que actúan en forma preventiva, por inducción de resistencia en el huésped, es el quitosano, un polímero de  $\beta$ -1,4-glucosamina, que se encuentra formando parte de la pared de hongos, en especial de los zigomicetos, y se puede producir por desacetilación de la quitina presente en el exoesqueleto de artrópodos. El quitosano tiene actividad antifúngica y a la vez se ha demostrado que induce la aparición de respuesta de resistencia en fruta cosechada [2]. Además forma una película permeable baja en oxígeno por lo cual retarda la maduración de ciertos frutos. Su acción controladora ha sido descrita en varios frutos tales como manzana [12], papaya [13] y duraznos [14]. El uso de quitosano junto con la levadura biocontroladora (*Candida saitoana*) ha sido efectivo en la protección de *Citrus sinensis* contra *P. digitatum* y *P. italicum* [15].

La aplicación de microorganismos biocontroladores o sustancias naturales en postcosecha sólo ha tenido resultados preventivos, por lo que el control de los patógenos postcosecha no puede basarse solamente en la aplicación de estas estrategias, sino en la combinación de prácticas apropiadas, tales como métodos de recolección y manejo de fruta que minimicen la contaminación y aparición de heridas, métodos de desinfección superficial que impidan la contaminación cruzada de la fruta en la línea de empaque y el uso de sustancias naturales que potencien la acción de

los microorganismos antagonistas y tengan acción curativa sobre infecciones ya establecidas.

El objetivo de este trabajo fue determinar la efectividad del hongo *Trichoderma harzianum*, el quitosano y el bicarbonato de sodio en el control de hongos postcosecha en naranjas valencia.

## Materiales y métodos

**Análisis fitopatológico e identificación de hongos en naranjas:** Primero, se tomaron cinco naranjas al azar y se sometieron a una evaluación de su superficie, para determinar los diferentes tipos de hongos presentes usando la técnica de “cinta adhesiva”, la cual consiste en colocar un trozo de la misma sobre la superficie del fruto y observar al microscopio óptico las estructuras fúngicas. Se cultivó una porción de la superficie de las naranjas y los hongos recuperados fueron inoculados en cajas de Petri con medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar) para su conservación. La identificación de los hongos encontrados se llevó a cabo colocando una gota de azul de algodón en un portaobjeto y allí se colocó con una aguja de disección una porción del hongo crecido en medio de cultivo PDA, se le colocó el cubreobjeto y se observaron sus estructuras en el microscopio, para posteriormente ser identificados a través de las claves taxonómicas internacionales [16].

**Tratamientos efectuados:** Las naranjas fueron sometidas a cinco diferentes tratamientos, usándose para ello 6 naranjas por cada tratamiento.

**Tratamiento con *T. harzianum*:** Las naranjas sin lavar, fueron colocadas en una suspensión de esporas preparada con agua destilada y el hongo *T. harzianum* a una concentración de  $1 \times 10^9$  esporas/mL por 1 min., la cual se preparó usando cultivos del hongo en PDA de 8 días de edad, los cuales se cubrieron con agua destilada estéril, se raspó la superficie del medio con una varilla de vidrio estéril pasando la suspensión a frascos Erlenmeyer de 1000 mL de capacidad, adicionando agua hasta conseguir la concentración deseada.

**Tratamiento con quitosano:** Las naranjas fueron sumergidas por 1 min. en una solución de quitosano al 2% (P/V).

**Tratamiento con bicarbonato de sodio:** En este caso, las naranjas fueron sumergidas por 1 min. en una solución preparada con bicarbonato al 1% en agua destilada (P/V) y pH 8.3.

**Tratamiento con agua común (testigo):** Las naranjas fueron sumergidas por 1 min. en agua común.

**Tratamiento control:** Las naranjas se colocaron directamente en un envase de plástico con papel absorbente. Este tratamiento se realizó con la finalidad de conocer los hongos postcosecha en las naranjas objeto de estudio.

Después que las naranjas fueron sometidas a todos los tratamientos, se colocaron en un envase de plástico con papel absorbente a 27°C y 90% de humedad durante los 14 días que duró el experimento; luego de este tiempo,

se determinó la presencia de enfermedades postcosecha producidas por hongos pre-identificados en el análisis fitopatológico y/o la presencia de cualquier otra alteración. Para ello, los tratamientos fueron evaluados diariamente y al observar la presencia de micelio, mancha o pudriciones, éstas se pasaban a medio de cultivo PDA para su posterior identificación.

**Diseño experimental:** Se realizó un diseño completamente al azar, con 5 tratamientos y 4 repeticiones por tratamiento. Cada repetición contó con 6 frutos de naranjas. Se utilizaron un total de 120 frutos de naranjas, divididas en 24 unidades por tratamiento.

**Análisis estadístico:** Los resultados fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA) entre tratamientos, en cuanto a la cantidad y tipo de hongos encontrados, utilizando el programa SPSS 17 para Windows.

## Resultados y discusión

**Análisis fitopatológico e identificación de hongos en naranjas valencia:** En el análisis fitopatológico previo de las naranjas a través de la técnica de la “cinta adhesiva” se observó la presencia de diversos hongos postcosecha, que fueron identificados como: *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Cladosporium herbarum* (Tabla 1).

Tabla 1. Hongos encontrados en naranjas valencia y enfermedades producidas después de 14 días de almacenamiento a 27°C.

Hongo postcosecha	Enfermedad
<i>Penicillium digitatum</i>	Podredumbre verde
<i>Penicillium italicum</i>	Podredumbre azul
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Antracnosis
<i>Cladosporium herbarum</i>	Podredumbre verde-gris

**Tratamientos efectuados:** Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la presencia de hongos en naranjas de los diferentes tratamientos, observando el crecimiento de cuatro especies de hongos en la muestra sin tratamiento: *P. digitatum* (80%), *P. italicum* (10%), *C. gloeosporioides* (5%) y *C. herbarum* (5%), encontrándose diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre ellos. En el tratamiento testigo solo se encontró *P. digitatum* en un 29,1% de las naranjas (Tabla 2).

En cambio, en los tratamientos donde se aplicó *T. harzianum*, quitosano y bicarbonato de sodio, no se presentaron hongos postcosecha a 27°C durante los 14 días que duró el ensayo. Sin embargo, en estos dos últimos se presentaron naranjas con pudriciones posiblemente por otros patógenos como bacterias, en un 20,8% y 41,6% de las naranjas respectivamente. Mientras que en las naranjas tratadas con *T. harzianum* no se presentó ningún tipo de

Tabla 2. Porcentaje de naranjas valencia con presencia de hongos postcosecha según el tratamiento aplicado.

Tratamiento aplicado	Hongos postcosecha	Naranjas enfermas (%)
Tratamiento control	<i>Penicillium digitatum</i>	80
	<i>Penicillium italicum</i>	10
	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	5
	<i>Cladosporium herbarum</i>	5
Tratamiento testigo	<i>Penicillium digitatum</i>	29,1
<i>T. harzianum</i>	Sin hongos	0
Quitosano (2%)	Sin hongos	0
Bicarbonato de sodio (1%)	Sin hongos	0

hongo o alteración del fruto, manteniéndose sanas, esto sugiere que esta estrategia de control proporciona protección al fruto contra otros patógenos, y las otras dos alternativas de control sólo funcionaron para hongos postcosecha. Estos resultados concuerdan con otros trabajos publicados [16], quienes sostienen que el hongo *T. harzianum*, una vez aplicado, coloniza la superficie de los tejidos compitiendo con otros hongos. *Trichoderma* spp. está entre los hongos que más se ha utilizado en el control de hongos patógenos de plantas, el cual es un hongo económicamente importante por su habilidad micoparasítica [2].

Por ejemplo, el efecto antagónico de *Trichoderma viride* sobre patógenos postcosecha en yuca (*Manihot esculenta*) como *Rhizopus orizae*, *Aspergillus flavus*, *Botryodiplodia theobromae* y *Fusarium solani* fue de 98% en la primera semana [9] y *T. harzianum* a una concentración de  $6,0 \times 10^7$  esporas/mL redujo el diámetro de la lesión producida por *Penicillium expansum* en frutos de manzana y protegió el fruto hasta dos meses cuando las manzanas fueron sumergidas previamente por 30 seg. [17].

Con respecto al bicarbonato, algunos investigadores [18] señalan que su acción se debe a la inhibición de la expresión y secreción de las poligalacturonasas que provocan la maceración de los tejidos del fruto. Se han realizado ensayos utilizando soluciones al 3% de bicarbonato de sodio para prevenir la aparición de alteraciones en naranjas washington navel que previamente fueron inoculadas con *P. digitatum* y *P. italicum*. La inmersión de los frutos durante 3 minutos en dicha solución a temperatura ambiente, demostró un efecto curativo en el 80% de las heridas inoculadas con *P. digitatum* y en el 94 % en el caso de *P. italicum* [11].

Caso contrario sucedió con aplicaciones de quitosano en naranjas washington navel, estudiando la eficiencia del recubrimiento en el control del desarrollo de alteraciones en heridas inoculadas con *P. digitatum* y *P. italicum*. El resultado no fue satisfactorio, lográndose solamente la protección del 40% de heridas inoculadas con *P. digitatum* cuando el quitosano se usó como medida preventiva, o sea cuando se aplicó previo a la entrada del patógeno [15]. En un estudio para evaluar dos concentraciones de

quitosano (0,75% y 1%) y cloruro de calcio (1% y 4%) en la germinación de las esporas y crecimiento radial de *C. gloeosporioides* en lechosa, el quitosano inhibió entre un 52 y 82% el crecimiento radial, causando bifurcación anormal de las hifas; por otro lado el cloruro de calcio inhibió un 26% la germinación de las esporas [19]. Asimismo, evaluando el efecto del calcio y el quitosano para controlar *C. gloeosporioides* en lechosa, en concentraciones de 3.5% y 0,75% de quitosano, estos inhibieron la germinación de esporas y crecimiento micelial, presentando la lechosa buena calidad en almacenamiento por 33 días [20]; en otros estudios [21] encontraron un buen control del quitosano sobre *Botrytis cinerea* y *P. expansum* en condiciones *in vitro* a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , en frutos de tomate, inhibiendo el tubo germinativo y la germinación de esporas.

## Conclusiones

El hongo *T. harzianum* colonizó la superficie de los frutos de naranjas, lo que impidió el desarrollo de hongos postcosecha, ofreciendo protección contra otros microorganismos, lo que sugiere que se comportó como la mejor alternativa de control comparándola con otras alternativas como quitosano al 2% y bicarbonato de sodio al 1%, las cuales fueron efectivas para el control de hongos postcosecha pero no para otros patógenos que causan pudriciones al fruto.

Estas estrategias de control son preventivas y deben aplicarse al momento de la cosecha de las naranjas, lo cual evita pérdidas en el transporte y en los lugares donde se comercializan.

Los hongos postcosecha atacan a todas las frutas y verduras, por lo tanto debe considerarse el control biológico como una medida preventiva prioritaria.

## Recomendaciones

Se recomienda seguir realizando estudios relacionados con otras alternativas de control diferentes al control químico, tales como la combinación de las aquí estudiadas y otras como el uso de extractos vegetales.

## Referencias

- Dennis C. Postharvest pathology of fruits and vegetables. London U.K.: Academic Press; 1983.
- El Ghaouth A, Wilson C. Biologically-based technologies for the control of postharvest diseases. Postharvest News Inform. 1995; 6:5-11.
- Hernández-Luzardo A, Bautista-Baños S, Velázquez-del Valle M, Hernández-Rodríguez A. Uso de microorganismos antagonistas en el control de enfermedades postcosecha en frutos. Rev Mex Fitopatol. 2007; 25:66-74.
- Sánchez-González L, González-Martínez C, Cháfer M, Chiralt A. Nuevos recubrimientos antibacterianos para el control postcosecha de la podredumbre azul de los cítricos. Memorias VIII Congreso SEAE. Bullas; 2008.
- Tripathi P, Dubey N. Exploitation of natural products as

- an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables. *Postharvest Citol Technol.* 2004; 32:235-45.
6. Fogliata, G, Torres L, Ploper L. Detection of imazalil-resistant strains of *Penicillium digitatum* Sacc. in *citrus* packing houses off Tucuman Province and their behavior against current employed alternative fungicides. *Rev Ind Agric Tucuman.* 2001; 77:71-5.
  7. Holmes G, Eckert J. Sensitivity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* to postharvest citrus fungicides in California. *Phytopathol.* 1999; 89:716-21.
  8. Zavaleta-Mejía E. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *Terra.* 1999; 17: 201-7.
  9. Ubalua A, Oti E. Antagonistic properties of *Trichoderma viride* on postharvest cassava root rot pathogens. *Afr J Biotechnol.* 2007; 6:2447-50.
  10. Wisniewski M, Wilson C. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables. *Rec Adv Hort Sci.* 1992; 27:94-8.
  11. Palou L, Smilanick J, Usall J, Viñas J. Control of postharvest blue and green molds of oranges by hot water, sodium carbonate and sodium bicarbonate. *Plant Dis.* 2001; 85:371-6.
  12. Hu I, Zou D. Effect of chitosan on storage of apple common plant. *Physiol.* 1998; 34:17-9.
  13. Bautista-Baños S, Hernández M, Bosquez E, Wilson C. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruits. *Crop Protect.* 2003; 22:1087-92.
  14. Li H, Yu T. Effect of chitosan on incidence ion brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *J Sci Food Agric.* 2000; 81:269-74.
  15. El Ghaouth A, Smilanick J, Wisniewski M, Wilson C. Improved control of apple and *citrus* fruits decay with a combination of *Candida saitoana* and 2-deoxy-D-glucose. *Plant Dis.* 2000; 84: 249-53.
  16. Barnett H, Hunter B. *Illustrated genera of imperfect fungi.* St. Paul, Minnesota, APS PRES, 1998.
  17. Esterio M, Auger J. Control integrado de *Botrytis cinerea* Pers. en vid (*Vitis vinifera* L.) En: *Botrytis: Nuevas estrategias de control cultural, biológico y químico en uva de mesa.* Universidad de Chile. Ciencias Agrarias. 1997; pp.14-24.
  18. Batta, Y. Effect of treatment with *Trichoderma harzianum* Rifai. formulated in invert emulsion on postharvest decay of apple blue mold. *Int J Food Microbiol.* 2004; 96:281-8.
  19. Prusky D, McEvoy J, Saftner R, Conway W, Jones R. Relationship between host acidification and virulence of *Penicillium* sp. on apple and *citrus* fruit. *Phytopathol.* 2004; 94:44-51.
  20. Rahman M, Mahmud T, Kadir J, Abdul R, Begum M. Antimicrobial activities of chitosan and calcium chloride on in vitro growth of *Colletotrichum gloeosporioides* from papaya. *Pertanika J Trop Agric Sci.* 2008; 31:223-32.
  21. Eryani-Rageeb A, Mahmud T, Syed S, Mohamed A, Al Eryani A. Effects of calcium and chitosan treatments on controlling anthracnose and postharvest quality of papaya (*Carica papaya* L.). *Int J Agr Res.* 2009; 4:53-68.
  22. Liu J, Shiping T, Xianghong M, Yong X. Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biol Technol.* 2007; 44:300-6.