

Chitosan: a versatile antimicrobial polysaccharide for fruit and vegetables in postharvest – a review

Quitosano: un polisacárido antimicrobiano versátil para frutas y hortalizas en poscosecha – una revisión

Silvia Bautista-Baños*, Rosa Isela Ventura-Aguilar;
Zormy Correa-Pacheco; María Luisa Corona-Rangel

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Desarrollo de Productos Bióticos. Carretera Yauatepec-Jojutla km 6. CEPROBI 8, San Isidro Yauatepec, Morelos, C. P. 62730. MÉXICO.

*Corresponding author: sbautis@ipn.mx, tel. 735 394 20 20 ext. 82571

Abstract

Chitosan has been proven to control numerous postharvest diseases in various horticultural commodities; in addition, its action mechanisms are well documented. To date, in a multifaceted approach, the integration of chitosan with other alternatives, including, among others, physical and chemical options to reduce the incidence of diseases during storage, has been proven in various fruit and vegetables. As of today, control of postharvest pathogenic microorganisms by applying chitosan nanomaterials remains an emerging technology. Despite that, overall results indicate that the integration of chitosan with other control methods extend the storage life of numerous important horticultural commodities largely by reducing microorganism incidence. The objective of this article was to gather, analyze and summarize relevant published information about the inclusion of chitosan with other preservation methods including heat, UV irradiation, modified atmosphere packaging (MAP), plant derivatives, inorganic acids, salts, antagonistic microorganisms, fungicides and other coatings. Recent advances in the evaluation of chitosan-based nanomaterials were also reviewed. In spite of its demonstrated positive effects, assays about its application to large-scale tests and its integration into postharvest commercial practices are still lacking.

Keywords:

microorganisms, postharvest, food preservation, synergistic effects, nanomaterials.

Resumen

Está documentado que el quitosano controla numerosas enfermedades poscosecha en diversos productos hortícolas. Hasta la fecha, y considerando un enfoque multifacético, se ha evaluado la integración del quitosano con otras alternativas (físicas y químicas, entre otras) para reducir la incidencia de enfermedades durante el almacenamiento de frutas y hortalizas. Actualmente, el control de microorganismos patógenos en poscosecha con nanomateriales de quitosano sigue siendo una tecnología emergente. En general, los resultados indican que la combinación de quitosano con otros métodos de control prolonga la vida de almacenamiento de diversos productos hortícolas importantes; en gran parte, debido a la disminución de la incidencia de microorganismos. El objetivo de este artículo fue recopilar, analizar y resumir información relevante acerca del uso de quitosano con otros métodos de conservación (incluyendo calor, radiación ultra violeta [UV], envasado en atmósfera modificada [MAP], derivados vegetales, ácidos inorgánicos, sales, microorganismos antagonistas, fungicidas y otros recubrimientos) sobre su actividad antimicrobiana en frutas y hortalizas. Adicionalmente, se revisaron avances recientes sobre nanomateriales basados en quitosano. A pesar de que se han demostrado los efectos positivos del quitosano, aún falta realizar evaluaciones a gran escala para su integración en prácticas poscosecha.

Palabras clave:

microorganismos, poscosecha, conservación de alimentos, efectos sinérgicos, nanomateriales.



Introducción

Fruit and vegetables are living organisms that after harvest obtain their energy through the respiration process. This postharvest metabolism causes the commodity to ripen and eventually senescence. The positive characteristics that make fruit suitable for consumption also make them susceptible to disease. During this ripening period, fruit is prone to develop rots caused by microorganisms that hasten commodity ripening, damage their internal and external appearance, cause off-odors, produce mycotoxins and contaminate adjacent commodities. Although the economic losses due to fungal infection in fruit and vegetables during the postharvest chain are variable and not well documented, they usually reach anywhere from 30 to 50 % and on some occasions rots can lead to total loss of the produce. Both fungi and bacteria cause rots; however, in general, fungal infections are reported to have a greater ability to infect a broader range of hosts throughout the whole postharvest chain (Bautista-Baños, Romanazzi, & Jiménez-Aparicio, 2016a).

To control these fungi, commercially-viable alternatives or possible future alternatives to the use of synthetic fungicides that either work in combination or alone have been put forward. They include substances such as chitosan (the deacetylated form of chitin) that can be extracted from diverse marine organisms, insects and fungi. It is considered as a biodegradable and biocompatible material with no toxicity or side effects (Rodríguez-Pedroso et al., 2009). Presently, the use of chitosan has been technologically justified in sustainable agriculture programs since it raises no public health and safety concerns. In the fresh produce industry, the regulation EU 2014/563 included chitosan chloride as the first member of a basic substance list of plant protection products (planned with Regulation EU 2009/1107, Romanazzi & Feliziani, 2016).

Over the last decade, chitosan polysaccharide has taken on enormous importance in the control of postharvest pathogenic microorganisms. The presence of amino groups (NH_2) in its chemical structure gives chitosan unique and ideal food conservation and security properties which are exploited through the development of biodegradable edible coatings and films containing natural antimicrobials; it also has elicitor properties that enhance the natural defenses of fruit, vegetables and grains. Control of pathogenic microorganisms by applying nanotechnology is an emerging technology, which is taking on considerable importance. Currently, chitosan is also being considered for use in microdevices to be integrated into 'intelligent' and active packaging for extending fruit and vegetable shelf life (Bautista-Baños et al., 2016a).

Introducción

Las frutas y hortalizas son organismos vivos que después de la cosecha obtienen su energía mediante el proceso de respiración, provocando su madurez y eventualmente la senescencia. Las características positivas que hacen que las frutas sean aptas para su consumo, también las hace susceptibles a enfermedades. Durante la maduración poscosecha, la fruta está propensa al ataque de microorganismos que pueden causarle mal olor, daños internos y externos, además, producen micotoxinas y contaminan los productos adyacentes. Aunque las pérdidas económicas causadas por hongos, durante la poscosecha, son variables y no están bien documentadas, se cree que alcanzan entre 30 y 50 %, pero en algunas ocasiones la pudrición puede conducir a la pérdida total del producto. Tanto los hongos como las bacterias producen pudrición; sin embargo, se ha reportado que los hongos infectan a más hospederos durante la poscosecha (Bautista-Baños, Romanazzi, & Jiménez-Aparicio, 2016a).

Para controlar la contaminación por hongos, se han presentado alternativas comercialmente viables al uso de fungicidas sintéticos. Dichas alternativas incluyen fungicidas con quitosano (forma desacetilada de la quitina); el cual puede extraerse de diversos organismos marinos, insectos y hongos, además, se considera biodegradable y biocompatible, sin toxicidad ni efectos secundarios (Rodríguez-Pedroso et al., 2009). En la actualidad, el uso del quitosano ha sido justificado tecnológicamente en programas de agricultura sostenible, ya que no causa problemas de salud ni de seguridad alimentaria. En el sector de productos frescos, el reglamento EU 2014/563 incluye, en primer lugar, al cloruro de quitosano como sustancia básica para productos fitosanitarios (reglamento EU 2009/1107, Romanazzi & Feliziani, 2016).

Durante la última década, el polisacárido quitosano ha adquirido gran importancia en el control de microorganismos patógenos poscosecha. La presencia de grupos amino (NH_2) en su estructura química le confieren propiedades únicas e ideales para la conservación y seguridad de los alimentos. Lo anterior, gracias al desarrollo de recubrimientos comestibles biodegradables y películas que contienen antimicrobianos naturales; adicionalmente, el quitosano tienen propiedades de inducción que activan las defensas naturales de frutas, hortalizas y granos. El control de microorganismos patógenos mediante el uso de nanotecnología es emergente, y ha adquirido gran importancia. Actualmente, se ha considerado usar el quitosano en microdispositivos para envases 'inteligentes' y activos para prolongar la vida útil de frutas y hortalizas (Bautista-Baños et al., 2016a).

El objetivo de este artículo de revisión fue recopilar, analizar y resumir información relevante acerca del

The objective of this review article was to gather, analyze and summarize recent published information about the inclusion of chitosan with other preservation methods, including heat, UV irradiation, modified atmosphere packaging (MAP), plant derivatives, inorganic acids, salts, antagonistic microorganisms, fungicides and other coatings.

Definition, sources and production of chitosan

Younes and Rinaudo (2015) define the term chitosan 'as a family of polymers obtained after chitin deacetylation to varying degrees'. Lizardi-Mendoza, Argüelles-Monal, and Goycoolea-Valencia (2016) highlight that 'a distinctive feature of the chemical structure of chitosan is the predominant presence of units with amino groups that can be ionized, becoming these groups cationic in acidic media, then promoting the chitosan dissolution and the polyelectrolyte behavior in solution'.

The acetylation degree, which reflects the balance between the two types of residues, differentiates chitin from chitosan. During deacetylation, acetyl groups are removed but also depolymerization reaction occurs, indicated by changes in molecular weight of chitosan (Younes & Rinaudo, 2015).

Chitosan can be found in the shells of marine crustaceans and is also an important component of the cell wall of certain fungi, particularly those belonging to the class Zygomycetes. Chitin can be converted into chitosan by enzymatic preparations or chemical processes. Chemical methods are used extensively for commercial purposes because of their low cost and suitability for mass production.

Antimicrobial properties of chitosan on postharvest fungi and overall mechanisms of action

A number of studies have confirmed the *in vitro* and *in situ* fungicidal effect of chitosan on various phytopathogenic fungal families including, among others, Mucoraceae, Pleosporaceae and Glomerellaceae. Commercially important fungi such as *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*, and various species of *Penicillium* can also be seriously affected by the application of this polymer. On the subject, a vast literature reports that the antimicrobial activity of this compound on pathogenic microorganisms depends on different factors, including the strain, molecular weight, concentration, degree of deacetylation, type of chitosan, etc. (Bautista-Baños et al., 2006; Li, Feng, Yang, Wang, & Su, 2008). However, according to Hernández-Téllez, Plascencia-Jatomea, and Cortez-Rocha (2016), the degree of deacetylation is the factor with the most influence on the antimicrobial activity of chitosan,

uso de quitosano con otros métodos de conservación (incluyendo calor, radiación ultra violeta [UV], envasado en atmósfera modificada [MAP], derivados vegetales, ácidos inorgánicos, sales, microorganismos antagonistas, fungicidas y otros recubrimientos) sobre su actividad antimicrobiana en frutas y hortalizas.

Definición, fuentes y producción del quitosano

Younes y Rinaudo (2015) definen al quitosano como una familia de polímeros obtenidos de diferentes grados de desacetilación de quitina. Lizardi-Mendoza, Argüelles-Monal, y Goycoolea-Valencia (2016) mencionan que una característica distintiva de la estructura química del quitosano es la presencia predominante de grupos amino que pueden ser ionizados, convirtiéndose en medios ácidos, promoviendo la disolución del quitosano y el comportamiento polielectrolítico en la solución.

El grado de acetilación, que refleja el equilibrio entre los dos tipos de residuos, diferencia la quitina del quitosano. Durante la desacetilación se eliminan los grupos acetilo, pero se produce una reacción de despolimerización indicada mediante cambios en el peso molecular del quitosano (Younes & Rinaudo, 2015).

El quitosano se puede encontrar en conchas de crustáceos marinos y es un componente importante de la pared celular de ciertos hongos, particularmente aquellos pertenecientes a la clase Zygomycetes. La quitina puede convertirse en quitosano mediante reacciones enzimáticas o procesos químicos. Los métodos químicos se utilizan ampliamente con fines comerciales debido a su bajo costo e idoneidad para la producción en masa.

Propiedades antimicrobianas del quitosano sobre hongos en poscosecha y mecanismos generales de acción

Varios estudios han confirmado el efecto fungicida *in vitro* e *in situ* del quitosano en diversas familias de hongos fitopatógenos: Mucoraceae, Pleosporaceae y Glomerellaceae. Además, *Alternaria alternata*, *Rhizopus stolonifer*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus* y varias especies de *Penicillium* también pueden ser afectados por este polímero. Al respecto, hay estudios que reportan que la actividad antimicrobiana de este compuesto depende de diferentes factores, incluyendo la cepa, el peso molecular, la concentración, el grado de desacetilación, el tipo de quitosano, entre otros (Bautista-Baños et al., 2006; Li, Feng, Yang, Wang, & Su, 2008). De acuerdo con Hernández-Téllez, Plascencia-Jatomea, y Cortez-Rocha (2016) el grado de desacetilación es el de mayor influencia en la actividad antimicrobiana del quitosano, ya que el número de grupos amino libres en esta molécula se ha relacionado con esta actividad.

since the number of free amino groups in the chitosan molecule has been related to this activity.

Today, there is clear evidence about the mechanisms by which chitosan acts on phytopathogenic fungi and bacteria. As indicated by numerous studies, changes in cell permeability of the microorganisms are due to the interaction between the polycationic nature of the chitosan amino group and the electronegative charges in the outer surface of the fungal or bacteria membrane, with this electrostatic interaction depending on the composition of the plasma membrane, having higher affinity in sensitive membranes containing a polyunsaturated fatty acid composition (Dutta, Tripathi, Mehrotra, & Dutta, 2009; Palma-Guerrero et al., 2010).

In other studies, Peña, Sánchez, and Calahorra (2013) concluded that the 'strong binding' of chitosan to the membrane of the microorganisms leads to serious cellular imbalances of ion homeostasis K^+ and Ca^{2+} , causing the efflux of small molecules, including phosphates, nucleotides and substrate of enzyme reactions that eventually affect fungal respiration and fermentation.

Chitosan also interferes with the synthesis of mRNA and proteins through its penetration into the fungal nuclei (Henics & Wheatley, 1999) and acts as a chelating agent of metals and essential nutrients, inducing starvation of fungi and therefore growth inhibition (Ren, Liu, Li, Dong, & Guo, 2012). The interference in protein synthesis as a consequence of the membrane damage caused by charge interaction with chitosan is a mechanism that involves the ability of chitosan to pass through the cell membrane of a microorganism, and subsequently bind to DNA and interfere with protein synthesis. In addition, Gutiérrez-Martínez et al. (2016) in preliminary data of transcriptomic analysis of the chitosan-*Colletotrichum*-avocado 'Hass' interaction, reported significant changes in the gene expression of the pathogen and host.

In addition, Bautista-Baños, Barrera-Necha, Hernández-López, and Rodríguez-González (2016b) mention that the electrostatic interaction between chitosan and the microorganism is noted by dramatic alterations observed from the damaged structure of the cell wall and plasma membrane of the treated fungi. The integrity of organelles including vacuoles is seriously affected leading in some cases to cell lysis. During the host-pathogen interaction, formation of structural barriers by the host, mainly through inter- and intracellular synthesis of phenolic-lignin-like material that stops fungal invasion was also observed (Table 1). In these studies, fungal growth was not beyond the outer cortical area of the infected tissues, while damage on fungi was similar to those observed in *in vitro* studies.

Hoy en día, existe evidencia acerca de los mecanismos por los cuales el quitosano actúa en contra de bacterias y hongos fitopatógenos. Como se indica en numerosos estudios, los cambios en la permeabilidad celular de los microorganismos se deben a la interacción entre la naturaleza policatiónica del grupo amino del quitosano y las cargas electronegativas en la superficie externa de la membrana fúngica o bacteriana. Con esta interacción electrostática, que depende de la composición de la membrana plasmática, puede haber afinidad elevada en membranas sensibles que contienen ácidos grasos poliinsaturados (Dutta, Tripathi, Mehrotra, & Dutta, 2009; Palma-Guerrero et al., 2010).

Por otra parte, Peña, Sánchez, y Calahorra (2013) concluyeron que la fuerte unión del quitosano con la membrana de los microorganismos conduce a graves desequilibrios celulares de homeostasia iónica de K^+ y Ca^{2+} causando la salida de pequeñas moléculas, incluyendo fosfatos, nucleótidos y sustrato de reacciones enzimáticas que eventualmente afectan la respiración fúngica y la fermentación.

El quitosano también interfiere en la síntesis de mRNA y proteínas penetrando en los núcleos de los hongos (Henics & Wheatley, 1999); además, actúa como agente quelante de metales y nutrientes esenciales, induciendo la inanición de hongos y, por lo tanto, la inhibición del crecimiento (Ren, Liu, Li, Dong, & Guo, 2012). Dicha interferencia es un mecanismo que involucra la capacidad del quitosano para pasar a través de la membrana celular de un microorganismo, posteriormente unirse al ADN e interferir con la síntesis de proteínas. Adicionalmente, Gutiérrez-Martínez et al. (2016) reportaron cambios significativos en la expresión génica del patógeno y del huésped en datos preliminares del análisis transcriptómico de la interacción quitosano-*Colletotrichum*-aguacate 'Hass'.

Bautista-Baños, Barrera-Necha, Hernández-López, y Rodríguez-González (2016b) mencionan que la interacción electrostática entre el quitosano y el microorganismo se observa mediante alteraciones dramáticas en la estructura de la pared celular y la membrana plasmática de los hongos tratados. La integridad de los organelos que incluyen a las vacuolas se ve afectada seriamente conduciendo en algunos casos a la muerte celular. Adicionalmente, durante la interacción hospedero-patógeno, observaron la formación de barreras estructurales por parte del hospedero; esto, principalmente, a través de la síntesis intercelular e intracelular de material similar al de lignina con fenol que detiene la invasión fúngica (Cuadro 1). En estos estudios, el crecimiento fúngico solo llega al área cortical externa de los tejidos infectados; mientras que, el daño en los hongos fue similar al observado en estudios *in vitro*.

Table 1. Morphological and cellular alterations of hyphae and conidia of various postharvest fungi after chitosan-treated.**Cuadro 1. Alteraciones morfológicas y celulares de hifas y conidios de diversos hongos poscosecha después del tratamiento con quitosano.**

Fungi/Hongos	Fungal structure/ Estructura fúngica	Structural changes ¹ /Cambios estructurales ¹	Morphological changes ² /Cambios morfológicos ²	Cellular changes ³ / Cambios celulares ³	References/Citas
<i>Alternaria alternata</i>	Hyphae and conidia /Hifas y conidios	–	Swelling, abnormal shape and disorganized mycelia./Hinchazón, forma anormal y micelio desorganizado.	Loosened, broken and uneven cell walls, intense and extended vacuolization, formation of fibrillar material, leakage of cytoplasm, cellular lysis./Paredes celulares sin consistencia, quebradas y desiguales. Vacuolización intensa y prolongada. Formación de material fibrilar, fuga de citoplasma y lisis célula.	Sánchez-Domínguez et al. (2011); de Oliveira, el Gueddari, Moershbacher, and Franco (2012a); López-Mora et al. (2013)
<i>Aspergillus niger</i>	Conidia/Conidios	–	Swelling, aggregates./ Hinchazón y agregados.	Alterations in outer cell and nucleus membrane./ Alteraciones en las paredes celulares externas y en la membrana del núcleo.	Plascencia-Jatomea, Viniestra, Olayo, Castillo-Ortega, and Shirai (2003); Liu, Tian, Meng, and Xu, (2008)
<i>Botrytis cinerea</i>	Hyphae/Hifas	Swelling, abnormal shapes and disorganized mycelia. / Hinchazón, formas anormales y micelios desorganizados.	Vesicle formation, excessive branching./ Formación de vesículas y ramificaciones excesivas.	Cells devoid of cytoplasm./Células sin citoplasma.	de Oliveira, de Melo, and Teixeira (2012b)
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Hyphae/Hifas	Shrunken, abnormal shapes, deformed and collapsed./ Atrofiadas, formas anormales, deformadas y colapsadas.	–	–	Jung et al. (2011)
<i>Penicillium expansum</i>	Hyphae/Hifas	–	Swelling, abnormal shape and disorganized mycelia./ Hinchazón, formas anormales y desorganización micelial.	–	de Oliveira et al. (2012b)
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Hyphae/Hifas	Excessive branching./ Ramificación excesiva.	Distorted mycelia./ Micelios distorsionados.	Intense dehydration, loosened, irregular and altered cell wall./ Deshidratación intensa y pared celular desprendida, irregular y alterada.	Ramos-García et al. (2012)

- not reported; ¹Optical microscopy; ²Scanning electron microscopy; ³Transmission electron microscopy

- no reportado; ¹Microscopía óptica; ²Microscopía electrónica de barrido; ³Microscopía electrónica de transmisión.

About the elicitation properties of chitosan, several studies have reported that chitosan can induce a series of enzyme activities and the production of various compounds on fruit and vegetables that are correlated

Referente a las propiedades de elicitación del quitosano, varios estudios han reportado que este compuesto puede inducir una serie de actividades enzimáticas y la producción de diversos compuestos en frutas y hortalizas

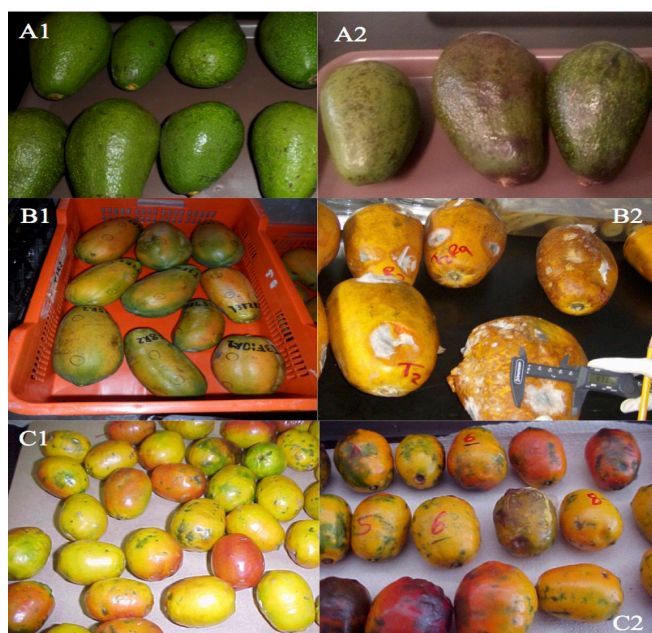


Figure 1. Tropical fruit chitosan-treated and untreated.
Treated: A1) avocado, B1) papaya and C1) red-mombin. Untreated: A2, B2 and C2.

Figura 1. Frutos tropicales tratados con quitosano y testigo. Tratados: A1) aguacate, B1) papaya y C1) ciruela mexicana. Testigos: A2, B2 y C2.

with plant defense reactions to pathogen attack. On this, among others, Berúmen-Varela, Coronado-Partida, Ochoa-Jiménez, Chacón-López, and Gutiérrez-Martínez (2015), Romanazzi and Feliziani (2016) and Sivakumar, Malick, Korsten, and Thompson (2016) reported that pre- and postharvest applications of chitosan increases phenyl ammonia lyase, chitinase (endo and exochitinases) and β -1,3-glucanase activities in numerous treated tropical and temperate fruit including various cvs. of tomatoes, litchi, grapes, pears, peaches and mangoes. They also found that chitosan application induces fruit disease resistance during fungal infection through regulation of reactive oxygen species (ROS) levels, antioxidant enzymes, and the ascorbate–glutathione cycle.

Chitosan coatings to reduce postharvest decay in horticultural commodities

Chitosan forms a semipermeable film that regulates gas exchange and reduces transpiration loss, thus slowing down fruit ripening. Generally, respiration rate and hence water loss is reduced. As mentioned previously, chitosan coatings have the ability to retard or avoid the development of numerous fungi during storage of various horticultural commodities. Numerous fruit including red-mombin, avocado, papaya and dragon fruit have benefited from chitosan application.

The average efficacy of chitosan applied alone for controlling major diseases (anthracnose, brown rot,

que se correlacionan con las reacciones de defensa de las plantas frente al ataque de patógenos. Sobre esto, Berúmen-Varela, Coronado-Partida, Ochoa-Jiménez, Chacón-López, y Gutiérrez-Martínez (2015), Romanazzi y Feliziani (2016) y Sivakumar, Malick, Korsten, y Thompson (2016) mostraron que las aplicaciones pre y poscosecha del quitosano aumentaron la actividad de la fenilalanina amonio liasa, quitinasa (endo y exocitinasas) y de la β -1,3-glucanasa en varias frutas tropicales y caducifolias, incluyendo varios cultivares de tomate, lichi, uva de mesa, pera, durazno y mango. También encontraron que el uso del quitosano provoca resistencia a las enfermedades de los frutos durante la infección por hongos a través de la regulación de niveles de las especies reactivas derivadas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés), enzimas antioxidantes y ciclo ascorbato-glutatión.

Recubrimientos del quitosano para reducir la pudrición poscosecha en productos hortícolas

El quitosano forma una película semipermeable que regula el intercambio gaseoso y reduce la pérdida de transpiración, frenando así la maduración de los frutos. En general, la tasa de respiración y, por tanto, la pérdida de agua se reducen. Como se ha mencionado, los recubrimientos de quitosano tienen la capacidad de retardar o evitar el desarrollo de hongos en diversos productos hortícolas durante el almacenamiento. Muchos frutos, incluyendo la ciruela mexicana, el aguacate, la papaya y la pitaya, se han beneficiado con el uso del quitosano.

La eficacia promedio del quitosano aplicado solo para controlar enfermedades importantes (antracnosis, pudrición parda, pudrición por rhizopus, moho gris y moho azul) osciló entre 45 y 100 % (Figura 1, Cuadro 2). Asimismo, en muchos estudios se menciona que el control también puede estar sujeto al tipo de interacción hospedero-patógeno, tipo de quitosano y concentración, y condiciones de almacenamiento. Por ejemplo, estudios sobre el control con quitosano de dos enfermedades poscosecha resultaron infructuosos con *A. alternata* en mango ‘Tommy Atkins’ (Bautista-Baños, Hernández-López, & Bosquez-Molina, 2004; López-Mora, Gutiérrez-Martínez, Bautista-Baños, Jiménez-García, & Zavaleta-Mancera, 2013), pero se obtuvo control completo de *C. gloeosporioides* en ese mismo cultivar (Berúmen-Varela et al., 2015). El recubrimiento de quitosano con peso molecular más alto resultó mejor para controlar *Botrytis cinerea* durante el almacenamiento de jitomates a 2 y 25 °C (Badawy & Rabea, 2009). En la mayoría de los estudios, la concentración de este polímero fue un factor clave en la reducción de la enfermedad poscosecha y, como se reportó en estudios *in vitro*, a medida que la concentración aumentó, la infección por hongos disminuyó considerablemente.

Table 2. Chitosan coating and its effect on postharvest rot development on some horticultural commodities.**Cuadro 2. Recubrimiento de quitosano y su efecto en el desarrollo de pudriciones en poscosecha en algunos productos hortícolas.**

Commodity/ Producto hortícola	Chitosan/Quitosano	Disease/ Enfermedad	Level of control/ Nivel de control	Reference/Cita
Dragon fruit/Pitaya	Conventional chitosan 2 %.	Anthracnose/ Antracnosis	80 %	Ali et al. (2013)
	Modified chitosan 0.5 - 2.0 %./ 2 % de quitosano convencional. 0.5 a 2.0 % de quitosano modificado.		93 %	
Mango	1.0 and 1.5 %/ 1.0 y 1.5 %	Anthracnose/ Antracnosis	100 %	Berúmen-Varela et al. (2015)
Papaya	1.5 %	Anthracnose/ Antracnosis	70 %	Bautista-Baños, Hernández-López, Bosquez-Molina, and Wilson (2003)
Peaches/ Durazno	10 mg·mL ⁻¹	Brown rot/ Pudrición café	60 %	Li and Yu (2000)
Strawberries/ Fresa	2 %	Rhizopus rot/ Pudrición blanda	45 %	Park et al. (2005)
	1 %	Gray mold/ Moho gris	70 %	Romanazzi, Nigro, and Ippolito (2001)
Sweet cherries/ Cereza	1 %	Gray mold/ Moho gris	100 %	Romanazzi, Nigro, and Ippolito (2001)
		Brown rot/ Pudrición café	100 %	Romanazzi, Nigro, and Ippolito (2001)
Tomato/ Jitomate	Molecular weight of 5.7 x 10 ⁴ and 2.9 x 10 ⁵ g·mol ⁻¹ / Peso molecular de 5.7 x 10 ⁴ y 2.9 x 10 ⁵ g·mol ⁻¹	Gray mold/ Moho gris	100 %	Badawy and Rabea (2009)
		Blue mold/ Moho azul	45 %	Liu, Tian, Meng, and Xu (2007)
Table grapes/ Uva de mesa	1 %	Gray mold/ Moho gris	70 %	Romanazzi, Nigro, and Ippolito (2001)

rhizopus rot, gray mold and blue mold) ranged from 45 to 100 % (Figure 1, Table 2). In addition, studies mention that control may also be subject to the type of host-pathogen interaction, type of chitosan and concentration, and storage conditions. For example, studies about the control of two postharvest diseases with chitosan applications reported unsuccessful control of *A. alternata* on mango

1. Quitosano combinado con otros métodos alternativos

Varios trabajos indican que el quitosano puede interactuar con otros tratamientos poscosecha; lo que a su vez puede mejorar la capacidad para prevenir la pudrición por hongos en productos hortícolas

'Tommy Atkins' (Bautista-Baños, Hernández-López, & Bosquez-Molina, 2004; López-Mora, Gutiérrez-Martínez, Bautista-Baños, Jiménez-García, & Zavaleta-Mancera, 2013), but complete control of *C. gloeosporioides* on this same cultivar (Berúmen-Varela et al., 2015). Additionally, chitosan coating with the highest molecular weight gave the best control of *Botrytis cinerea* during storage of tomatoes at 2 and 25 °C (Badawy & Rabea, 2009). For most studies, the concentration of this polymer was a key factor in reducing postharvest disease and, as reported in *in vitro* studies, as the concentration increased the fungal infection decreased considerably.

1. Chitosan integrated with other alternative methods

A large amount of data indicates that chitosan may interact with other postharvest treatments, which in turn can improve the overall ability to prevent fungal decay of horticultural commodities during storage. The synergistic effects between chitosan formulations combined with physical means, including heat, UV irradiation exposures, modified atmosphere packaging (MAP) and hypobaric storage, are undeniable. In addition, chitosan integrated with natural products such as plant derivatives like plant extracts and essential oils, organic salts and acids, and antagonistic microorganisms, including yeast and bacteria, can be very effective for reducing postharvest fungal rots. Chitosan, synthetic fungicides and other polymers may also potentiate the synergistic effects (Bautista-Baños et al., 2006, 2016a).

a) Chitosan integrated with physical methods

Heat and UV irradiation technologies, MAP and hypobaric storage integrated with chitosan immersions have proven to be effective in controlling important postharvest pathogens.

Generally, heat treatments have been applied either as vapor heat or hot water in many fruit and vegetables to control superficial fungal diseases but when combined with chitosan formulations, reduction of rot development increased. For example, a combined treatment with 0.5 % chitosan and hot water at 50 °C for 10 min resulted in a significantly higher reduction of overall decay on sweet cherry 'Napolyon' during storage compared to chitosan alone and control treatments (Chailoo & Asghari, 2011). Brown rot (*Monilinia fructicola*) development on peach cv Andros was reduced by 90 % with 1 % chitosan and a curing temperature of 20 °C for 1 min (Casals et al., 2012), with the combination acting more as a preventive treatment than a curative one.

The technology of irradiation has been used for the preservation and production of foods that are free of pathogenic microorganisms and is therefore an

durante su almacenamiento. Los efectos sinérgicos entre formulaciones de quitosano con medios físicos, incluyendo el calor, la exposición a radiación UV, el envasado en atmósfera modificada (MAP, por sus siglas en inglés) y el almacenamiento hipobárico, son innegables. Además, el quitosano, junto con productos naturales (extractos de plantas, aceites esenciales, sales, ácidos orgánicos y microorganismos antagonistas, que incluyen levaduras y bacterias), puede ser muy eficaz para reducir las pudriciones fúngicas poscosecha. El quitosano, los fungicidas sintéticos y otros polímeros también pueden potenciar los efectos sinérgicos (Bautista-Baños et al., 2006, 2016a).

a) Quitosano en combinación con métodos físicos

La irradiación de calor y UV, el MAP y el almacenamiento hipobárico integrado con inmersiones de quitosano han demostrado ser eficaces en el control de patógenos importantes poscosecha.

Los tratamientos térmicos se han aplicado en forma de vapor o agua caliente en muchas frutas y hortalizas para controlar enfermedades fúngicas superficiales. Sin embargo, cuando se combina este tratamiento con quitosano, se observa una reducción significativa en la pudrición. Por ejemplo, un tratamiento con 0.5 % de quitosano más agua a 50 °C durante 10 min redujo en mayor medida la pudrición en frutos de cerezo 'Napolyon' durante el almacenamiento, en comparación con el quitosano solo y los testigo (Chailoo & Asghari, 2011). El desarrollo de pudrición café (*Monilinia fructicola*) en durazno cv Andros se redujo 90 % con 1 % de quitosano más secado a 20 °C durante 1 min (Casals et al., 2012), actuando más como un tratamiento preventivo que como curativo.

La irradiación se ha usado en la conservación y producción de alimentos que están libres de microorganismos patógenos; por lo que es una herramienta importante para el control de microorganismos. Además, esta tecnología combinada con el quitosano se ha utilizado para reducir la pudrición causada por hongos en productos hortícolas almacenados. En poscosecha, la aplicación de UV-C combinada con quitosano redujo *B. cinerea* en uvas de mesa rojas de distintos cultivares (Freitas, López-Gálvez, Tudela, Gil, & Allende, 2015; Romanazzi, Gabler, & Smilanick, 2006); mientras que en plátano, mango y papaya, el desarrollo de antracnosis disminuyó considerablemente con quitosano irradiado. La formulación de 1 % de quitosano irradiado con 5 kGy controló completamente a *C. musae* en plátano, aunque los autores señalaron que el quitosano solo al 1.5 % dio resultados similares (Jinasena, Pathirathna, Wickramarachchi, & Marasinghe, 2011). Para el caso del mango, con quitosano al 1.5 % irradiado (100 y 200 kGy), los síntomas de la enfermedad se retrasaron hasta cinco semanas y la infección fue notablemente

important tool for the control of food-contaminating microorganisms. In addition, this technology combined with chitosan has been used to reduce fungal decay of stored horticultural products. In postharvest, application of UV-C combined with chitosan reduced fungal decay by *B. cinerea* on red table grapes of various cultivars (Freitas, López-Gálvez, Tudela, Gil, & Allende, 2015; Romanazzi, Gabler, & Smilanick, 2006), while for other tropical fruit such as banana, mango and papaya, development of anthracnose disease was considerably reduced with irradiated chitosan. Formulations of irradiated chitosan at 1 % with 5 kGy completely controlled *C. musae* in banana fruit, although the authors pointed out that chitosan alone at 1.5 % gave similar results (Jinasena, Pathirathna, Wickramarachchi, & Marasinghe, 2011). For mango fruit, disease symptoms were delayed for up to 5 weeks with an irradiated 1.5 % chitosan (100 and 200 kGy) coating, and infection was notably lower (25 %) compared to the control fruit (100 %) (Abbasi, Iqbal, Maqbool, & Hafiz, 2009). As for papaya fruit, Hewajulige, Sultanbawa, Wijeratnam, and Wijesundara (2009) reported that irradiated and non-irradiated chitosan solutions gave good control of anthracnose in both cultivars tested during five days storage.

MAP integrated with chitosan dip treatments provide an alternative decay control method. On this, Sivakumar et al. (2016) highlighted the positive effects of integrated MAP and chitosan on litchi fruit inoculated by several *Penicillium* species. Fruit decay incidence due to *P. chrysogenum* and *P. glabrum* was completely controlled with MAP and chitosan at 0.1 and 1.0 g·L⁻¹ concentrations during low temperature storage for 21 days at 2 °C. On the other hand, combination treatment with MAP and chitosan at a 1 g·L⁻¹ concentration effectively controlled fruit decay incidence by *P. crustosum* and *P. expansum* under the same storage conditions.

Hypobaric storage involves the cold storage of a horticultural commodity under partial vacuum. On the subject, Romanazzi, Nigro, and Ippolito (2003) reported significant reduction of various postharvest rots of sweet cherries caused by *Alternaria*, *Rhizopus* and *Penicillium* in a two-year experiment. For the first year of trials, the best synergistic effect was obtained by 1 % chitosan combined with 0.50 atm. since the overall average percentage of sweet cherries affected by total rots ranged from 5.7 to 28 % and in the second year, it ranged from 3.6 to 15.5 % compared to 58 % for the untreated fruit.

b) Chitosan integrated with natural products obtained from plants

Plant extracts and essential oils

Antimicrobial compounds can be present in different plant extracts obtained from leaves, flowers, seeds,

menor (25 %) en comparación con el testigo (100 %, Abbasi, Iqbal, Maqbool, & Hafiz, 2009). En cuanto a la papaya, Hewajulige, Sultanbawa, Wijeratnam, y Wijesundara (2009) mencionan que las soluciones de quitosano irradiadas y no irradiadas controlaron la antracnosis en los cultivares estudiados durante cinco días de almacenamiento.

El MAP en combinación con el quitosano han proporcionado un método alternativo de control de pudriciones. Al respecto, Sivakumar et al. (2016) destacaron los efectos positivos del MAP con quitosano en lichi inoculado con varias especies de *Penicillium*. La pudrición del lichi debida a *P. chrysogenum* y *P. glabrum* se controló completamente con MAP y quitosano en concentraciones de 0.1 y 1.0 g·L⁻¹ durante 21 días de almacenamiento a 2 °C. Por otro lado, el MAP más quitosano (1 g·L⁻¹) controló de manera efectiva la pudrición del fruto causada por *P. crustosum* y *P. expansum*, en las mismas condiciones de almacenamiento.

El almacenamiento hipobárico involucra la refrigeración de un producto hortícola parcialmente al vacío. Con este tratamiento, Romanazzi, Nigro, e Ippolito (2003) reportaron en cerezas una reducción significativa de diversas pudriciones poscosecha causadas por *Alternaria*, *Rhizopus* y *Penicillium* en un experimento de dos años. Para el primer año, el mejor efecto sinérgico se obtuvo con 1 % de quitosano en combinación con 0.50 atm, reportando en promedio 5.7 y 28 % de cerezas afectadas. En el segundo año, el resultado osciló entre 3.6 y 15.5 %, en comparación con 58 % en frutos no tratados.

b) Quitosano en combinación con productos naturales provenientes de plantas

Extracto vegetal y aceites esenciales

Los compuestos antimicrobianos pueden estar presentes en diferentes extractos de plantas provenientes de hojas, flores, semillas, raíces y tallos. En varios reportes se ha demostrado su efecto positivo frente a una gran diversidad de fitopatógenos, como bacterias y hongos; que a su vez, han sido estudiados junto con el quitosano para efectos sinérgicos contra los hongos en poscosecha (Cuadro 3). En nueces, la incidencia de microorganismos se controló con la mayor concentración de quitosano incorporando extractos de té verde (Sabaghi, Maghsoudlou, Khomeiri, & Ziaifar, 2015). Mientras que, en uvas de mesa, con cuatro semanas de almacenamiento a 1 °C, la incidencia de la pudrición se controló por encima de 90 % con inmersión previa de la fruta en una solución con 0.1 % de extracto de las semillas de uvas y 1 % de quitosano (Xu et al., 2007). En arándanos, la pudrición fue moderadamente controlada con extracto acuoso de hoja de arándano y quitosano

Table 3. Effect of the combination of chitosan with plant extracts and essential oils on fungal incidence, during storage of some fruit and vegetables.**Cuadro 3. Efecto de la combinación de quitosano con extractos de plantas y aceites esenciales sobre la incidencia de hongos, durante el almacenamiento de algunas frutas y hortalizas.**

Commodity / Producto hortícola	Fungal microorganism / Microorganismo fúngico	Chitosan / plant / derivative / Quitosano / derivado vegetal	Average effect / Efecto promedio	Reference / Cita
Chitosan + plant extracts / Quitosano + extractos de plantas				
Walnut / Nuez	Molds and yeasts / Moho y levadura	Chitosan + tea tree (10-5; 10-10 g·L ⁻¹) / Quitosano + té verde (10 a 5, 10 a 10 g·L ⁻¹)	Inhibition according to concentration. / Inhibición según la concentración.	Sabaghi et al. (2015)
Blueberry 'Redglobe' / Arándano 'Redglobe'	Overall fungi / Hongos en general	2 % chitosan + 4, 8, 12 % blueberry leaf / 2 % quitosano + 4, 8, 12 % de hoja de arándano	Control not too significant. / Control poco significativo.	Yang et al. (2014)
Table grapes / Uva de mesa	<i>Botrytis cinerea</i>	1.0 % chitosan + 0.1 % grapeseed / 1.0 % quitosano + 0.1 % de semillas de uvas	Significant control up to 90 % / Control significativo hasta en 90 %.	Xu et al. (2007)
Papaya cv. 'Maradol' / Papaya 'Maradol'	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	1.5 % chitosan + papaya seed (2:10 w/v) / 1.5 % quitosano + semillas de papaya (2:10 p/v)	Only fungistatic effect. / Solo efecto fungistático.	Bautista-Baños, Hernández- López, Bosquez- Molina, and Wilson (2003)
Chitosan + essential oils / Quitosano + aceites esenciales				
Tomato / Jitomate	<i>Rhizopus stolonifer</i>	Chitosan 1 % + beeswax 0.1 % + thyme and lime essential oils 0.1 % / 1 % quitosano + 0.1 % cera de abejas + 0.1 % aceites esenciales de tomillo o limón	No positive effect on the control of <i>R. stolonifer</i> . / Ningún efecto positivo en el control de <i>R. stolonifer</i> .	Ramos-García et al. (2012)
Satsuma mandarin 'Miyagawa' / Mandarina Satsuma 'Miyagawa'	<i>Penicillium digitatum</i>	Chitosan 1 % + clove essential oil (0.5, 1.0, and 2.0 mL·L ⁻¹) / 1 % quitosano + aceite esencial de clavo (0.5, 1.0 y 2.0 mL·L ⁻¹)	No positive effect on the control of <i>P. digitatum</i> . / Ningún efecto positivo en el control de <i>P. digitatum</i> .	Shao et al. (2015)
Grape 'Muscatel' / Uva 'Muscatel'	Yeasts and molds / Levadura y mohos	Chitosan 1% + bergamot essential oil 2% / 1 % quitosano + 2 % aceite esencial de bergamota	The combination of chitosan + bergamot essential oil showed the highest antimicrobial activity. / La combinación de quitosano + aceite esencial de bergamota mostró actividad antimicrobiana más alta.	Sánchez- González et al. (2011)
Strawberry 'Camarosa' / Fresa 'Camarosa'	<i>Botrytis cinerea</i>	Chitosan 1 % + lemon essential oil 3 % / 1 % quitosano + 3 % aceite esencial de limón	Delay in symptoms appearance and lower gray mold incidence. / Retraso en la aparición de síntomas y menor incidencia del moho gris.	Perdones et al. (2012)
Avocado 'Hass' / Aguacate 'Hass'	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Chitosan 1 % + thyme essential oil 1 % / 1 % quitosano + 1 % aceite esencial de tomillo	Significant incidence and severity reduction of anthracnose. / Menor incidencia y reducción del daño.	Bill et al. (2014)
Cucumber / Pepino	<i>Phytophthora drehleri</i>	Chitosan nanoparticles 0.3 % + cinnamon essential oil 1.6 g·L ⁻¹ / 0.3 % nanopartículas de quitosano + 1.6 g·L ⁻¹ de aceite esencial de canela	Severity and decay significantly lower than controls. / Daño y pudrición significativamente menor en comparación con los testigos.	Mohammadi et al. (2015)
Peach 'Kakawa' / Durazno 'Kakawa'	<i>Monilinia fructicola</i>	Chitosan / bohemit alumina nanocomposites lidding films + thyme essential oil sachets 75 µl / Quitosano / láminas de nanopartículas de alúmina de bohemita + 'sachets' con aceite esencial de tomillo 75 µl	Severity and decay significantly lower than control. / Daño y pudrición significativamente menor en comparación con el testigo.	Cindi, Shittu, Sivakumar, and Bautista- Baños (2015)

roots and stems. About this, numerous reports have demonstrated their positive effect against a great diversity of phytopathogens such as bacteria and fungi, which in turn have been explored together with chitosan for synergistic effects against postharvest fungi (Table 3). On this, there are various studies confirming this effect; for example, on walnuts, overall yeast and molds were controlled with the highest concentration of chitosan incorporating green tea extracts (Sabaghi, Maghsoudlou, Khomeiri, & Ziaifar, 2015), while for table grapes, during four weeks storage at 1 °C, decay incidence was controlled above 90 % with a previous fruit immersion in 0.1 % grapefruit seed extracts and 1 % chitosan formulation (Xu et al., 2007). For blueberry fruit, decay was mildly controlled with chitosan and blueberry aqueous leaf extracts at any concentration given, and for inoculated and treated papaya, anthracnose disease was reduced by 50 % with 1.5 % chitosan integrated with papaya seed extracts (Bautista-Baños, Hernández-López, Bosquez-Molina, & Wilson, 2003).

Fungicidal activity by essential oil application has been demonstrated on a wide range of major postharvest fungi. Studies under controlled laboratory conditions have found a marked inhibition of fungal development by applying essential oils either by direct contact or in vapor phase. In relation to chitosan, numerous studies have also confirmed the synergistic effect between this natural polymer and essential oils, particularly lime, thyme, bergamont, clove and cinnamon. Important fungi such as *B. cinerea*, *C. gloeosporioides*, *P. digitatum* and *Phytophthora drehsleri*, and yeasts and molds on strawberries, figs, avocado (Bill, Sivakumar, Korsten, & Thompson, 2014), cucumber, mandarin and grapes were notably reduced and in some cases symptom appearance was delayed after application (Bill et al., 2014; Mohammadi, Hashemi, & Hosseini, 2015; Muñoz, Moret, & Garcés, 2009; Perdonés, Sánchez-González, Chiralt, & Vargas, 2012; Sánchez-González, Cháfer, Chiralt, & González-Martínez, 2010; Shao et al., 2015; Timóteo-dos Santos et al., 2012).

c) Chitosan integrated with organic compounds

Ethanol

Ethanol, also called ethyl alcohol, is considered a common food additive. It can be obtained from, among other horticulture commodities, sugarcane, potato, corn, table grapes and cassava. Romanazzi, Karabulut, and Smilanick (2007) evaluated its effectiveness on table grapes by integrating 0.5 % chitosan and 20 % ethanol. This combination gave the best control of gray mold during 3 months storage at 1 °C, followed by three days at ambient temperature to simulate commercial marketing.

en cualquier concentración aplicada. En papaya inoculada y tratada, la antracnosis se redujo 50 % con quitosano al 1.5 % en combinación con extracto de semilla de papaya (Bautista-Baños, Hernández-López, Bosquez-Molina, & Wilson, 2003).

Mediante la aplicación de aceite esencial se ha demostrado su actividad fungicida en una importante gama de hongos en poscosecha. En condiciones controladas de laboratorio se inhibió el crecimiento de hongos con aceites esenciales, ya sea por contacto directo o vapor. En relación con el quitosano, se ha confirmado el efecto sinérgico entre este polímero natural y los aceites esenciales; especialmente con limón, tomillo, bergamota, clavo de olor y canela. Los hongos como *B. cinerea*, *C. gloeosporioides*, *P. digitatum* y *Phytophthora drehsleri*, levaduras y mohos, en fresas, higos, aguacates (Bill, Sivakumar, Korsten & Thompson, 2014), pepinos, mandarinas y uvas de mesa, se redujeron y en algunos casos se retrasó la aparición de los síntomas después de aplicar aceite esencial y quitosano (Bill et al., 2014; Mohammadi, Hashemi, & Hosseini, 2015; Muñoz, Moret, & Garcés, 2009; Perdonés, Sánchez-González, Chiralt, & Vargas, 2012; Sánchez-González, Cháfer, Chiralt, & González-Martínez, 2010; Shao et al., 2015; Timóteo-dos Santos et al., 2012).

c) Quitosano en combinación con compuestos orgánicos

Ethanol

El etanol, también llamado alcohol etílico, se considera un aditivo alimentario común. Puede obtenerse de, entre otros productos hortícolas, la caña de azúcar, la papa, el maíz, la uva y la yuca. Romanazzi, Karabulut, y Smilanick (2007) evaluaron su eficacia en uvas de mesa combinando 0.5 % de quitosano y 20 % de etanol. Esta mezcla controló mejor el ataque del moho gris durante tres meses de almacenamiento a 1 °C, seguido de tres días a temperatura ambiente para simular la comercialización.

Ácido oleico y acético

Se ha reportado buena conservación de fresa y tuna, con recubrimientos de quitosano en combinación con ácidos orgánicos como el ácido oleico y acético (Ochoa-Velasco & Guerrero-Beltrán, 2014; Vargas, Albors, Chiralt, & González-Martínez, 2006). Los resultados demostraron que la incidencia en la pudrición causada por hongos y bacterias se redujo notablemente. En el caso de la fresa, los síntomas de la enfermedad se retrasaron por 10 días, y el porcentaje de infección al final del período de almacenamiento de 14 días

Oleic and acetic acid

Studies have reported good preservation of strawberry fruit and prickly pear, based on coatings with chitosan combined with organic acids such as oleic and acetic acid (Ochoa-Velasco & Guerrero-Beltrán, 2014; Vargas, Albors, Chiralt, & González-Martínez, 2006). The overall results demonstrated that decay caused by fungi and bacteria was notably reduced. In strawberry, disease symptoms were delayed for 10 days and percentage infection at the end of the 14-day storage period was reduced by more than 70 %. In this study, fungal decay of untreated fruit was 100 %. For white and red prickly pears, bacteria and mold levels were maintained within the accepted levels reported by the Mexican Official Standard, after immersion in 1 % chitosan combined with 2.5 % acetic acid; however, treated fruit was not well-accepted by the sensory panel.

d) Chitosan integrated with inorganic and organic salts

For postharvest disease control, application of inorganic salts combined with chitosan is also reported to reduce fungal infections. On this, in experiments carried out to evaluate the effect of anthracnose on papaya fruit, it was concluded that 1 % chitosan combined with 3 % ammonium carbonate solutions was the best treatment to reduce severity and incidence during 14 days storage; the best combination to significantly inhibit anthracnose was that of 0.75 % chitosan and 2.5 % calcium (Al-Eryani-Raqeeb, Muda-Mohamed, Syed-Omar, Mohamed-Zaki, & Al-Eryani, 2009; Sivakumar, Sultanbawa, Ranasingh, Kumara, & Wijesundera, 2005).

For strawberry fruit coated with 2 % chitosan and 5 % Gluconal® (calcium lactate and calcium gluconate), an important reduction in molds occurred during cold storage. In 'Driscoll's' and 'Pugent Reliance' disease inhibition was approximately 50 and 80 %, respectively, while for red raspberry 'Tullmeen', there were no disease symptoms after 21 days storage. In line with these results, Hernández-Muñoz, Almenar, del Valle, Velez, and Gavara (2008) reported that strawberry 'Camarosa' coated with 1.5 % chitosan and 0.5 % calcium gluconate showed no visible symptoms of disease during the whole storage period at 10 °C.

However, in further experiments, the incidence of gray mold disease was not significantly reduced with preharvest applications of chitosan combined with potassium silicate (Lopes, Zambolim, Costa, Pereira, & Finger, 2014). Likewise, the incorporation of 2 and 3 % potassium sorbate in 2 % chitosan solution slightly controlled *R. stolonifer* and

se redujo en más de 70 %; mientras que los frutos testigo se pudrieron completamente. Por su parte, en las tunas blancas y rojas, los niveles de bacterias y hongos se mantuvieron dentro de los aceptados por la Norma Oficial Mexicana, después de la inmersión en 1 % de quitosano más 2.5 % de ácido acético; sin embargo, la fruta tratada no fue bien aceptada por el panel sensorial.

d) Quitosano en combinación con sales orgánicas e inorgánicas

Para el control de enfermedades poscosecha, también se reporta el uso de sales inorgánicas en combinación con quitosano para reducir la infección por hongos. En este sentido, en frutos de papaya se evaluó el efecto de la antracnosis aplicando 1 % de quitosano combinado con 3 % de soluciones de carbonato de amonio. Este tratamiento, redujo la incidencia y el grado del daño durante 14 días de almacenamiento; sin embargo, la mejor combinación para inhibir significativamente la antracnosis fue 0.75 % de quitosano y 2.5 % de calcio (Al-Eryani-Raqeeb, Muda-Mohamed, Syed-Omar, Mohamed-Zaki, & Al-Eryani, 2009; Sivakumar, Sultanbawa, Ranasingh, Kumara, & Wijesundera, 2005).

En fresas con recubrimiento de 2 % de quitosano más 5 % de Gluconal® (lactato de calcio y gluconato de calcio), se redujo de manera importante el ataque de hongos durante el almacenamiento en frío. En 'Driscoll's' y 'Pugent Reliance', la inhibición de la enfermedad fue, aproximadamente, de 50 y 80 %, respectivamente; mientras que en la frambuesa roja 'Tullmeen', no se observaron síntomas después de 21 días de almacenamiento. Hernández-Muñoz, Almenar, del Valle, Velez, y Gavara (2008) reportaron que la fresa 'Camarosa', recubierta con 1.5 % de quitosano y 0.5 % de gluconato de calcio, no presentó síntomas visibles de enfermedad durante todo el período de almacenamiento a 10 °C.

En experimentos adicionales, la incidencia de moho gris no se redujo significativamente con aplicaciones de quitosano precosecha en combinación con silicato de potasio (Lopes, Zambolim, Costa, Pereira, & Finger, 2014). La incorporación de 2 y 3 % de sorbato de potasio en una solución de 2 % de quitosano controló ligeramente el desarrollo de *R. stolonifer* y *Cladosporium* en frutos de fresa, después de 20 días de almacenamiento (Park, Stan, Daeschel, & Zhao, 2005).

Por otro lado, frutos de pera 'Shuijing' almacenados a 20 °C mostraron inhibición de 100 % del moho azul después de cinco días de inoculación; esto debido a la aplicación previa de 0.5 % de quitosano combinado con 1 % de cloruro de calcio y el antagonista *Cryptococcus laurentii* (10^8 células·mL⁻¹, Yu et al., 2012). En el caso de uvas, la

Cladosporium development on strawberries, after 20 days storage (Park, Stan, Daeschel, & Zhao, 2005).

In other studies, the pear 'Shuijing' stored at 20 °C showed 100 % inhibition of blue mold disease after 5 days of inoculation, due to previous application of 0.5 % chitosan coating combined with 1 % calcium chloride and the antagonist *Cryptococcus laurentii* (10^8 cell·mL⁻¹) (Yu et al., 2012). For grapefruit, 2 % chitosan solution combined with either 2 % sodium benzoate or 2 % potassium sorbate exceeded the effect of the fungicide sodium o-phenylphenate fungicidal effect, against major postharvest fungi such as *Geotrichum candidum* var. *citri-aurantii*, *P. expansum* and *P. digitatum* (Abdel-Kader, El-Mougy, & Lashin, 2011).

e) Chitosan integrated with microorganisms

Biological control of postharvest decay of fruit and vegetables using antagonistic yeasts, bacteria and fungi has been explored as another of the promising alternatives to chemical fungicides.

On the issue, studies mention that a significant suppression (80 %) of blue mold development was achieved on green lemon 'Eureka' inoculated with the combination of 0.2 % glycolchitosan and *Candida saitoana* (El-Ghaouth, Smilanick, & Wilson, 2000); authors highlighted that a previous application of sodium carbonate to the chitosan solution with the antagonist gave 95 % disease control. The synergistic effect of the combination of 0.5 % chitosan and the yeast *Candida* was also confirmed on two cvs. of mango fruit. Anthracnose levels of treated mangoes were 6.7 and 13.3 %, compared to 93.3 and 100 % for the control (Chantrasri, Sardud, Sangchote, & Sardud, 2007). For table grape bunches, postharvest application of the combination of 0.1 % chitosan with the antagonist *Cryptococcus laurentii* reduced decay by 0.15 (based on a 0.1 empirical scale) compared to 0.30 in the untreated fruit (Meng & Tian, 2009). In further research, grape bunches treated with 1 % chitosan and the above-mentioned antagonist showed a decay index of 0.15 compared to 0.35 in the control fruit (Meng, Qin, & Tian, 2010).

f) Chitosan integrated with fungicides

The use of synthetic fungicides is the most common procedure to control postharvest pathogens of fruit and vegetables. However, its integration with chitosan has been little studied. About this, preharvest assays under greenhouse conditions, carried out on strawberry flower 'Corona' with a mixture of chitosan (400 µg·L⁻¹) and different fungicides such as Teldor®, Switch®, Amistar® and Signum®, gave almost the same

solución de 2 % de quitosano más 2 % de benzoato sódico, o 2 % de sorbato potásico, superó el efecto fungicida ortofenilfenato sódico frente a los hongos poscosecha como *Geotrichum candidum* var. *citri-aurantii*, *P. expansum* y *P. digitatum* (Abdel-Kader, El-Mougy, & Lashin, 2011).

e) Quitosano en combinación con antagonistas

El control biológico, con levaduras, bacterias y hongos antagonistas, de la pudrición poscosecha de frutas y hortalizas, se ha explorado como otra alternativa prometedora ante los fungicidas sintéticos.

El-Ghaouth, Smilanick, y Wilson (2000) mencionan una disminución significativa (80 %) en el crecimiento del moho azul en el cv Eureka, en combinación con 0.2 % de glicolquitosano y *Candida saitoana*. Además, destacaron que una aplicación previa de carbonato de sodio, quitosano y el antagonista controló en 95 % la enfermedad. El efecto sinérgico de 0.5 % de quitosano más levadura *Candida*, también se confirmó en dos cultivares de mango. Los niveles de antracnosis en mangos tratados fueron 6.7 y 13.3 %, y en testigos fueron 93.3 y 100 % (Chantrasri, Sardud, Sangchote, & Sardud, 2007). En racimos de uva de mesa, la aplicación poscosecha de 0.1 % de quitosano más el antagonista *Cryptococcus laurentii* redujo la pudrición en 0.15 (con base en una escala empírica de 0.1), en comparación con 0.30 en frutos no tratados (Meng & Tian, 2009). En investigaciones posteriores, los racimos de uva tratados con 1 % de quitosano y el antagonista mencionado anteriormente mostraron un índice de pudrición de 0.15 frente a 0.35 en frutos testigo (Meng, Qin, & Tian, 2010).

f) Quitosano en combinación con fungicidas

El uso de fungicidas sintéticos es el procedimiento más común para controlar patógenos poscosecha en frutas y hortalizas. No obstante, su integración con el quitosano ha sido poco estudiada. En la flor de fresa 'Corona', Rahman et al. (2014) realizaron en condiciones de invernadero pruebas poscosecha con una mezcla de quitosano (400 µg·L⁻¹) y distintos fungicidas (Teldor®, Switch®, Amistar® y Signum®), y encontraron casi el mismo nivel de control del moho gris que los fungicidas sintéticos con 1 % de la dosis recomendada. En general, los resultados indicaron efectos sinérgicos notables en el control de enfermedades con tratamientos combinados, pero usando concentraciones más bajas que las aplicadas individualmente. En otros estudios realizados en frutos de naranja 'Pera Rio', la combinación de 2 % de quitosano con Tiabendazol e Imazalil provocó menor número de lesiones en comparación con la fruta no tratada (Rappussi, Benato, Cia, & Pascholati, 2011), pero la mezcla de quitosano con fungicida no superó el efecto de ambos aplicados individualmente.

level of control of gray mold disease as the synthetic fungicides applied alone at 1 % of the recommended dose (Rahman et al., 2014). Overall, results indicated remarkable synergistic effects on disease control with the treatments combined, but by applying lower concentrations than those applied individually. In other studies in orange 'Pera Rio', the combination of 2 % chitosan with Thiabendazole and Imazalil resulted in fewer black spot lesions than on the untreated fruit (Rappussi, Benato, Cia, & Pascholati, 2011), but the chitosan-fungicide mixture did not surpass the effect of fungicides or chitosan applied individually.

g) Chitosan integrated with other coating materials

Surface coating and films can also provide an alternative for extending the postharvest life of fresh fruit and vegetables. For example, the combination of 1 % chitosan, polyethylene wax microemulsion and the antibiotic natamycin (20 mg·L⁻¹) improved the storage life of 'Hami' melon by decreasing disease incidence (Cong, Zhang, & Dong, 2007). In the study, the applied mixture significantly delayed rot appearance by three days, and at the end of 20 days storage, rot development reached only 17.1 cm², compared with 313 cm² on the surface of uncoated melons. In another study, mango fruit 'Ataulfo' coated with 1 % chitosan integrated with 1 % starch or 1 % pectin had better storage life in terms of lower percentage weight and firmness loss, and higher TSS content only at a controlled temperature of 10 °C (Bello-Lara et al., 2016).

2. Chitosan nanoparticles in the control of phytopathogenic fungi

Control of postharvest pathogenic microorganisms by applying nanotechnology is an emerging technology; therefore, there is limited published information on this area. In addition, the literature reports are mainly about *in vitro* studies (Sotelo-Boyás, Bautista-Baños, Correa-Pacheco, Jiménez-Aparicio, & Sivakumar, 2016). For example, Chookhongkga, Sopondilok, and Photchanachai (2013) evaluated the effect of chitosan nanoparticles on mycelial growth of *Rhizopus* sp., *C. capsici*, *C. gloeosporioides* and *A. niger*, finding lower mycelial growth of 2.8, 2.2, 2.4 and 5.5 mm, respectively, at 0.6 % concentration. Other studies showed that applying chitosan nanoparticles at 0.1 % inhibited mycelia of *A. alternata*, *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani* (Saharan et al. 2013). Zahid, Alderson, Ali, Maqbool, y Manickam (2013) reported that low molecular weight chitosan nanoparticles at a 1 % concentration had the best inhibitory effect on conidial germination of *C. gloeosporioides*.

g) Quitosano en combinación con otros materiales de recubrimiento

Las películas y recubrimientos también pueden proporcionar una alternativa para prolongar la vida en anaquel de frutas y hortalizas frescas. La formulación de 1 % de quitosano, microemulsión de cera de polietileno y antibiótico natamicina (20 mg·L⁻¹) mejoró la vida de almacenamiento del melón 'Hami' al disminuir la incidencia de la enfermedad (Cong, Zhang, & Dong, 2007). En este estudio, la mezcla aplicada retardó significativamente la aparición de la pudrición por tres días, y al final de los 20 días de almacenamiento el desarrollo de la pudrición alcanzó sólo 17.1 cm² de la superficie del fruto, en comparación con 313 cm² en los melones sin recubrimiento. En otro estudio, el mango 'Ataulfo' tratado con 1 % de quitosano en combinación con 1 % de almidón, o 1 % de pectina, tuvo mejor vida útil en términos de menor pérdida de peso porcentual y pérdida de firmeza, y mayor contenido de sólidos solubles totales, aunque solo a 10 °C (Bello-Lara et al., 2016).

2. Nanopartículas de quitosano en el control de hongos fitopatógenos

El control poscosecha de microorganismos patógenos mediante la aplicación de nanotecnología es una tecnología emergente; por lo tanto, existe poca información publicada sobre esta área. Los reportes encontrados se refieren principalmente a estudios *in vitro* (Sotelo-Boyás, Bautista-Baños, Correa-Pacheco, Jiménez-Aparicio, & Sivakumar, 2016). En este sentido, Chookhongkga, Sopondilok, y Photchanachai (2013) evaluaron el efecto de nanopartículas de quitosano al 0.6 % en el crecimiento micelial de *Rhizopus* sp., *C. capsici*, *C. gloeosporioides* y *A. niger*, y encontraron menor crecimiento micelial: 2.8, 2.2, 2.4 y 5.5 mm, respectivamente. Otros estudios mostraron que el uso de 0.1 % de nanopartículas de quitosano inhibió el crecimiento micelial de *A. alternata*, *Macrophomina phaseolina* y *Rhizoctonia solani* (Saharan et al., 2013); mientras que, Zahid, Alderson, Ali, Maqbool, y Manickam (2013) informaron que nanopartículas de quitosano al 1 % de bajo peso molecular tuvieron el mejor efecto inhibitorio en la germinación de conidios de *C. gloeosporioides*.

Por otra parte, Chowdappa, Gowda, Chethana, y Madhura (2014) reportaron que en el caso del mango, la aplicación de nanopartículas de quitosano al 0.5 y 1 %, redujo la antracnosis en 45.7 y 71.3 %, respectivamente; mientras que, la combinación de quitosano-Ag disminuyó el ataque de la enfermedad en 75.8 y 84.6 % con las concentraciones de 0.5 y 1 %, respectivamente.

In further studies, Chowdappa, Gowda, Chethana, and Madhura (2014) reported on mango fruit that chitosan nanoparticles at 0.5 and 1 % reduced anthracnose disease by 45.7 and 71.3 %, respectively, while the combination of chitosan-Ag decreased the disease by 75.8 and 84.6 % at concentrations of 0.5 and 1 %, respectively.

Conclusions

Chitosan, the deacetylated form of chitin, can be extracted from diverse marine organisms, insects and some fungi. As previously stated, it has been considered as a biodegradable and biocompatible material with no toxicity or side effects. Presently, the use of chitosan has been technologically justified in sustainable agriculture programs since it raises no public health and safety concerns. The presence of amino groups (NH₂) in its chemical structure gives chitosan unique and ideal properties in different agricultural systems, including food conservation and food security through development of biodegradable edible coatings and films.

As described above, this biodegradable, bioactive and biosafety product may also be integrated with other methods in the control of postharvest decay of fruit and vegetables; nevertheless, in spite of its demonstrated positive effects, assays about its application to large-scale tests and its integration into postharvest commercial practices are still lacking; therefore, more studies on this subject are required. In addition, the integrated application of chitosan nanoemulsions with other safe non-polluting treatments offers a novel approach to preserve the overall quality of fresh produce during storage. Prior to commercialization, the

Conclusiones

El quitosano, forma desacetilada de la quitina, puede extraerse de diversos organismos marinos, insectos y algunos hongos. Como se mencionó, es considerado un material biodegradable y biocompatible, sin toxicidad o efectos secundarios. En la actualidad, el uso del quitosano ha sido justificado tecnológicamente en programas de agricultura sostenible, ya que no genera problemas ni de salud, ni de seguridad alimentaria. La presencia de grupos amino (NH₂) en su estructura química proporciona al quitosano propiedades únicas e ideales para diferentes sistemas agrícolas; incluyendo la conservación de alimentos mediante el desarrollo de recubrimientos y películas comestibles biodegradables.

Como se describió anteriormente, este producto también puede combinarse con otros métodos con la finalidad de controlar pudriciones poscosecha de frutas y hortalizas; sin embargo, a pesar de sus efectos positivos demostrados, aún falta información sobre su aplicación a gran escala y su integración en prácticas comerciales poscosecha. Por lo anterior, se requieren más estudios sobre este tema. Asimismo, el uso integrado de nanoemulsiones de quitosano con otros tratamientos seguros y no contaminantes ofrece una alternativa para preservar la calidad de los productos frescos durante el almacenamiento. Antes de la comercialización, deben evaluarse las alternativas integradas con quitosano en determinadas frutas y hortalizas, incluyendo especies caducifolias y tropicales.

End of English version

Fin de la version en español

References / Referencias

- Abbasi, N. A., Iqbal, Z., Maqbool, M., & Hafiz, I. A. (2009). Postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L.) fruit as affected by chitosan coating. *Pakistan Journal of Botany*, 41(1), 343-357. Retrieved from [http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/41\(1\)/PJB41\(1\)343.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/41(1)/PJB41(1)343.pdf)
- Abdel-Kader, M., El-Mougy, N., & Lashin, S. (2011). Evaluation of grapefruit coating with chemical preservatives as control measure against postharvest decay. *Phytopathologia*, 59, 25-38. Retrieved from http://www.up.poznan.pl/~ptfit1/pdf/P59/P59_03.pdf
- Al-Eryani-Raqeeb, A., Muda-Mohamed, M. T., Syed-Omar, S. R., Mohamed-Zaki, A. R., & Al-Eryani, A. R. (2009). Effects of calcium and chitosan treatments on controlling anthracnose and postharvest quality of papaya (*Carica papaya* L.). *International Journal of Agricultural Research*, 4(2), 53-68. doi: 10.3923/ijar.2009.53.68
- Ali, A., Zahid, N., Manickam, S., Siddiqui, Y., Alderson, P. G., & Maqbool, M. (2013). Effectiveness of submicron chitosan dispersions in controlling anthracnose and maintaining quality of dragon fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 86, 147-153. doi: 10.1016/j.postharvbio.2013.06.027
- Badawy, M. E. I., & Rabea, E. I. (2009). Potential of the biopolymer chitosan with different molecular weights to control postharvest gray mold of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 51(1), 110-117. doi: 10.1016/j.postharvbio.2008.05.018
- Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., & Bosquez-Molina, E. (2004). Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. *Mexican Journal*

- Phytopathology*, 22(2), 178-186. Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/612/61222204.pdf>
- Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., Bosquez-Molina, E., & Wilson, C. L. (2003). Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop protection*, 22(9), 1087-1092. doi: 10.1016/S0261-2194(03)00117-0
- Bautista-Baños, S., Hernandez-Lauzardo, A. N., Velazquez-del Valle, M. G., Hernández-López, M., Barka, E. A., Bosquez-Molina, E., & Wilson, C. L. (2006). Chitosan as a potential natural compound to control pre and postharvest diseases of horticultural commodities. *Crop Protection*, 25(2), 108-118. doi: 10.1016/j.cropro.2005.03.010
- Bautista-Baños, S., Romanazzi, G., & Jiménez-Aparicio, A. (2016a). *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities*. USA: Academic Press/Elsevier. Retrieved from <http://store.elsevier.com/Chitosan-in-the-Preservation-of-Agricultural-Commodities/isbn-9780128027356/>
- Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. L., Hernández-López, M., & Rodríguez-González, F. (2016b). Morphological and ultrastructural modifications of chitosan-treated fungal phytopathogens. In: Bautista-Baños, S., Romanazzi, G., & Jiménez-Aparicio, A. (Eds.), *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities* (pp. 251-271). USA: Academic Press/Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-802735-6.00009-4
- Bello-Lara, J. E., Balois-Morales, R., Juárez-López, P., Alia-Tejacal, I., Peña-Valdivia, C. B., Jiménez-Zurita, J. O., Sumaya-Martínez, M. T., & Jiménez-Ruiz, E. I. (2016). Coatings based on starch and pectin from 'Pear' banana (*Musa ABB*), and chitosan applied to postharvest 'Ataulfo' mango fruit. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 22(3), 209-218. doi: 10.5154/r.rchsh.2015.09.037
- Berúmen-Varela, G., Coronado-Partida, L. D., Ochoa-Jiménez, V. A., Chacón-López, M. A., & Gutiérrez-Martínez, P. (2015). Efecto del quitosano en la inducción de resistencia contra *Colletotrichum* sp. en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Tommy Atkins. *Investigación y Ciencia*, 23(66), 16-21. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67446014003>
- Bill, M., Sivakumar, D., Korsten, L., & Thompson, A. K. (2014). The efficacy of combined application of edible coatings and thyme oil in inducing resistance components in avocado (*Persea americana* Mill.) against anthracnose during post-harvest storage. *Crop Protection*, 64, 159-167. doi: 10.1016/j.cropro.2014.06.015
- Casals, C., Elmer, P. A. G., Viñas, I., Teixidó, N., Sisquella, M., & Usall, J. (2012). The combination of curing with either chitosan or *Bacillus subtilis* CPA-8 to control brown rot infections caused by *Monilinia fructicola*. *Postharvest Biology and Technology*, 64(1), 126-132. doi: 10.1016/j.postharvbio.2011.06.004
- Chailoo, M. J., & Asghari, M. R. (2011). Hot water and chitosan treatment for the control of postharvest decay in sweet cherry (*Prunus avium* L.) cv. Napoleon (Napolyon). *Journal of Stored Products and Postharvest Research*, 2(7), 135-138. Retrieved from <http://www.academicjournals.org/journal/JSPPR/article-full-text-pdf/EFA386E8909>
- Chantrasri, P., Sardsud, V., Sangchote, S., & Sardsud, U. (2007). Combining yeasts and chitosan treatment to reduce anthracnose fruit rot in mangoes. *Asian Journal of Biology Education*, 3, 40-46.
- Chookhongka, N., Sopondilok, T., & Photchanachai, S. (2013). Effect of chitosan and chitosan nanoparticles on fungal growth and chilli seed quality. *International Conference on Postharvest Pest and Disease Management in Exporting Horticultural Crops-PPDM2012*, 973, 231-237. doi: 10.17660/ActaHortic.2013.973.32
- Chowdappa, P., Gowda, S., Chethana, C. S., & Madhura, S. (2014). Antifungal activity of chitosan-silver nanoparticle composite against *Colletotrichum gloeosporioides* associated with mango anthracnose. *African Journal of Microbiology Research*, 8(17), 1803-1812. doi: 10.5897/AJMR2013.6584
- Cindi, M. D., Shittu, T., Sivakumar, D., & Bautista-Baños, S. (2015). Chitosan boehmite-alumina nanocomposite films and thyme oil vapour control brown rot in peaches (*Prunus persica* L.) during postharvest storage. *Crop Protection*, 72, 127-131. doi: 10.1016/j.cropro.2015.03.011
- Cong, F., Zhang, Y., & Dong, W. (2007). Use of surface coatings with natamycin to improve the storability of Hami melon at ambient temperature. *Postharvest Biology and Technology*, 46(1), 71-75. doi: 10.1016/j.postharvbio.2007.04.005
- de Oliveira, E. N., el Gueddari, N. E., Moershbacher, B. M., & Franco, T. T. (2012a). Growth rate inhibition of phytopathogenic fungi by characterized chitosans. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(2), 800-809. doi: 10.1590/S1517-83822012000200046
- de Oliveira, E. N., de Melo, S. I., & Teixeira, F. T. (2012b). Changes in hyphal morphology due to chitosan treatment in some fungal species. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(5), 637-646. doi: 10.1590/S1516-89132012000500001
- Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114(4), 1173-1182. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.11.047
- El-Ghaouth, A., Smilanick, J. L., & Wilson, C. L. (2000). Enhancement of the performance of *Candida saitoana* by the addition of glycolchitosan for the control of postharvest decay of apple and citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 19(1), 103-110. doi: 10.1016/S0925-5214(00)00076-4
- Freitas, P. M., López-Gálvez, F., Tudela, J. A., Gil, M. I., & Allende, A. (2015). Postharvest treatment of table grapes with ultraviolet-C and chitosan coating preserves quality and increases stilbene content. *Postharvest Biology and Technology*, 105, 51-57. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.03.011

- Gutiérrez-Martínez, P., Chacón-López, M., Xoca-Orozco, L., Ramos-Guerrero, A., Velázquez-Estrada, R., & Aguilera-Aguirre, S. (2016). Chitosan and changes in gene expression during fruit-pathogen interaction at postharvest stage. In: Bautista-Baños, S., Romanazzi, G., & Jiménez-Aparicio, A. (Eds.), *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities 11*, (pp. 299-311). USA: Academic Press/Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-802735-6.00011-2
- Henics, T., & Wheatley, D. (1999). Cytoplasmic vacuolation, adaptation and cell wall. A view of new perspectives and features. *Biology of the Cell*, 91(7), 485-98. doi: 10.1016/S0248-4900(00)88205-2
- Hernández-Muñoz, P., Almenar, E., del Valle, V., Velez, D., & Gavara, R. (2008). Effect of chitosan coating combined with postharvest calcium treatment on strawberry (*Fragaria × ananassa*) quality during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 110(2), 428-435. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.02.020
- Hernández-Téllez, C. N., Plascencia-Jatomea, M., & Cortez-Rocha, M. O. (2016). Chitosan-based bionanocomposites: development and perspectives in food and agricultural applications. In: Bautista-Baños, S., Romanazzi, G., & Jiménez-Aparicio, A. (Eds.), *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities 12*, (pp. 315-338). USA: Academic Press/Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-802735-6.00012-4
- Hewajulige, I. G. N., Sultanbawa, Y., Wijeratnam, R. S., & Wijesundara, R. L. C. (2009). Effect of irradiated chitosan treatment on storage life of fruits of two commercially grown papaya (*Carica papaya* L.) varieties. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 37(1), 61-66. doi: 10.4038/jnsfsr.v37i1.458
- Jinasena, D., Pathirathna, P., Wickramarachchi, S., & Marasinghe, E. (2011). Effect of chitosan (unirradiated and irradiated) treatment on anthracnose disease and its potential to increase the shelf life of "Embul" banana. *International Journal of Environmental Science and Development*, 2(4), 248. Retrieved from <http://www.ijesd.org/papers/132-A10017.pdf>
- Jung, J. H., Kim, S. W., Lamsal, K., Kim, Y. S., Park, H. J., & Lee, Y. S. (2011). Effect of chitosan coated fungicide against *Colletotrichum gloeosporioides* and powdery mildew. *Journal of Agricultural Life and Environmental Sciences*, 23(2), 14-22.
- Li, H., & Yu, T. (2000). Effect of chitosan on incidence of brown rot, quality and physiological attributes of postharvest peach fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(2), 269-274. doi: 10.1002/1097-0010(20010115)81:2<269::AID-JSFA806>3.0.CO;2-F
- Li, X. F., Feng, X. Q., Yang, S., Wang, T. P., & Su, Z. X. (2008). Effects of molecular weight and concentration of chitosan on antifungal activity against *Aspergillus niger*. *Iranian Polymer Journal*, 17(11), 843-852. Retrieved from http://www.sid.ir/en/VEWSSID/J_pdf/81320081104.pdf
- Lizardi-Mendoza, J., Argüelles-Monal, W. M., & Goycoolea-Valencia, F. M. (2016). Chemical characteristics and functional properties of chitosan. In: Bautista-Baños, S., Romanazzi G., & Jiménez-Aparicio, A. (Eds.), *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities 1*, (pp. 3-31). USA: Academic Press/Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-802735-6.00001-X
- Liu, J., Tian, S., Meng, X., & Xu, Y. (2007). Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 44(3), 300-306. doi: 10.1016/j.postharvbio.2006.12.019
- López-Mora, L. I., Gutiérrez-Martínez, P., Bautista-Baños, S., Jiménez-García, L. F., & Zavaleta-Mancera, H. A. (2013). Evaluación de la actividad antifúngica del quitosano en *Alternaria alternata* y en la calidad del mango 'Tommy Atkins' durante el almacenamiento. *Revista Chapingo Serie horticultura*, 19(3), 315-331. doi: 10.5154/r.rchsh.2012.07.038
- Lopes, U. P., Zambolim, L., Costa, H., Pereira, O. L., & Finger, F. L. (2014). Potassium silicate and chitosan application for gray mold management in strawberry during storage. *Crop Protection*, 63, 103-106. doi: 10.1016/j.cropro.2014.05.013
- Meng, X. H., Qin, G. Z., & Tian, S. P. (2010). Influences of preharvest spraying *Cryptococcus laurentii* combined with postharvest chitosan coating on postharvest diseases and quality of table grapes in storage. *LWT-Food Science and Technology*, 43(4), 596-601. doi: 10.1016/j.lwt.2009.10.007
- Meng, X. H., & Tian, S. (2009). Effects of preharvest application of antagonistic yeast combined with chitosan on decay and quality of harvested table grape fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(11), 1838-1842. doi: 10.1002/jsfa.3659
- Mohammadi, A., Hashemi, M., & Hosseini, S. M. (2015). Chitosan nanoparticles loaded with *Cinnamomum zeylanicum* essential oil enhance the shelf life of cucumber during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 203-213. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.08.019
- Muñoz, Z., Moret, A., & Garcés, S. (2009). Assessment of chitosan for inhibition of *Colletotrichum* sp. on tomatoes and grapes. *Crop Protection*, 28(1), 36-40. doi: 10.1016/j.cropro.2008.08.015
- Ochoa-Velasco, C. E., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2014). Postharvest quality of peeled prickly pear fruit treated with acetic acid and chitosan. *Postharvest Biology and Technology*, 92, 139-145. doi: 10.1016/j.postharvbio.2014.01.023
- Palma-Guerrero, J., Lopez-Jimenez, J. A., Pérez-Berná, A. J., Huang, I. C., Jansson, H. B., Salinas, J., Villalain, J., Read, N. D., & Lopez-Llorca, L. V. (2010). Membrane fluidity determines sensitivity of filamentous fungi to chitosan. *Molecular microbiology*, 75(4), 1021-1032. doi: 10.1111/j.1365-2958.2009.07039.x
- Park, S. I., Stan, S. D., Daeschel, M. A., & Zhao, Y. (2005). Antifungal coatings on fresh strawberries (*Fragaria ×*

- ananassa*) to control mold growth during cold storage. *Journal of Food Science*, 70(4), 202-207. doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb07189.x
- Peña, A., Sánchez, N. S., & Calahorra, M. (2013). Effects of chitosan on *Candida albicans*: conditions for its antifungal activity. *BioMed Research International*, 2013, 1-15. doi: 10.1155/2013/527549
- Perdones, A., Sánchez-González, L., Chiralt, A., & Vargas, M. (2012). Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 70, 32-41. doi: 10.1016/j.postharvbio.2012.04.002
- Plascencia-Jatomea, M., Viniegra, G., Olayo, R., Castillo-Ortega, M. M., & Shirai, K. (2003). Effect of chitosan and temperature on spore germination of *Aspergillus niger*. *Macromolecular Bioscience*, 3(10), 582-586. doi: 10.1002/mabi.200350024
- Rahman, M. H., Shovan, L. R., Hjeljord, L. G., Aam, B. B., Eijsink, V. G., Sørli, M., & Tronsmo, A. (2014). Inhibition of fungal plant pathogens by synergistic action of chito-oligosaccharides and commercially available fungicides. *Plos one*, 9(4), 1-10. doi: 10.1371/journal.pone.0093192
- Ramos-García, M., Bosquez-Molina, E., Hernández-Romano, J., Zavala-Padilla, G., Térres-Rojas, E., Alia-Tejacal, I., Barrera-Necha, L., Hernández-López, M., & Bautista-Baños, S. (2012). Use of chitosan-based edible coatings in combination with other natural compounds, to control *Rhizopus stolonifer* and *Escherichia coli* DH5 α in fresh tomatoes. *Crop Protection*, 38, 1-6. doi: 10.1016/j.cropro.2012.02.016
- Rappussi, M. C. C., Benato, E. A., Cia, P., & Pascholati, S. F. (2011). Chitosan and fungicides on postharvest control of *Guignardia citricarpa* and on quality of 'Pêra Rio' oranges. *Summa Phytopathologica*, 37(3), 142-144. doi: 10.1590/S0100-54052011000300011
- Ren, J., Liu, J., Li, R., Dong, F., & Guo, Z. (2012). Antifungal properties of chitosan salts in laboratory media. *Journal of Applied Polymer Science*, 124(3), 2501-2507. doi: 10.1002/app.33612
- Rodríguez-Pedroso, A. T., Ramírez-Arrebato, M. A., Rivero-González, D., Bosquez-Molina, E., Barrera-Necha, L. L., & Bautista-Baños, S. (2009). Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosano en microorganismos fitopatógenos. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 15(3), 307-319. doi: 10.5154/r.rchsh.2009.15.042
- Romanazzi, G., Nigro, F., & Ippolito, A., (2001). Chitosan in the control of postharvest decay of some Mediterranean fruits. In: Muzarelli, R. A. A. (Ed.), *Chitin Enzymology* (pp. 141-146). Italy: Atec.
- Romanazzi, G., Nigro, F., & Ippolito, A. (2003). Short hypobaric treatments potentiate the effect of chitosan in reducing storage decay of sweet cherries. *Postharvest Biology and Technology*, 29(1), 73-80. doi: 10.1016/S0925-5214(02)00239-9
- Romanazzi, G., Gabler, F. M., & Smilanick, J. L. (2006). Preharvest chitosan and postharvest UV irradiation treatments suppress gray mold of table grapes. *Plant Disease*, 90(4), 445-450. doi: 10.1094/PD-90-0445
- Romanazzi, G., Karabulut, O. A., & Smilanick, J. L. (2007). Combination of chitosan and ethanol to control postharvest gray mold of table grapes. *Postharvest biology and technology*, 45(1), 134-140. doi: 10.1016/j.postharvbio.2007.01.004
- Romanazzi, G., & Feliziani, E. (2016). Use of chitosan to control postharvest decay of temperate fruit: effectiveness and mechanisms of action. In: Bautista-Baños, S., Romanazzi, G., & Jiménez-Aparicio, A. (Eds.), *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities 6* (pp. 155-177). USA: Academic Press/Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-802735-6.00006-9
- Sabaghi, M., Maghsoudlou, Y., Khomeiri, M., & Ziaifar, A. M. (2015). Active edible coating from chitosan incorporating green tea extract as an antioxidant and antifungal on fresh walnut kernel. *Postharvest Biology and Technology*, 110, 224-228. doi: 10.1016/j.postharvbio.2015.08.025
- Saharan, V., Mehrotra, A., Khatik, R., Rawal, P., Sharma, S., & Pal, A. (2013). Synthesis of chitosan based nanoparticles and their *in vitro* evaluation against phytopathogenic fungi. *International Journal of Biological Macromolecules*, 62, 677-683. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2013.10.012
- Sánchez-Domínguez, D., Ríos, M. Y., Castillo-Ocampo, P., Zavala-Padilla, G., Ramos-García, M., & Bautista-Baños, S. (2011). Cytological and biochemical changes induced by chitosan in the pathosystem *Alternaria alternata*–tomato. *Pesticide biochemistry and physiology*, 99(3), 250-255. doi: 10.1016/j.pestbp.2011.01.003
- Sánchez-González, L., Cháfer, M., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2010). Physical properties of edible chitosan films containing bergamot essential oil and their inhibitory action on *Penicillium italicum*. *Carbohydrate Polymers*, 82(2), 277-283. doi: 10.1016/j.carbpol.2010.04.047
- Sánchez-González, L., Vargas, M., González-Martínez, C., Chiralt, A., & Cháfer, M. (2011). Use of essential oils in bioactive edible coatings: a review. *Food Engineering Reviews*, 3(1), 1-16. doi: 10.1007/s12393-010-9031-3
- Shao, X., Cao, B., Xu, F., Xie, S., Yu, D., & Wang, H. (2015). Effect of postharvest application of chitosan combined with clove oil against citrus green mold. *Postharvest Biology and Technology*, 99, 37-43. doi: 10.1016/j.postharvbio.2014.07.014
- Sivakumar, D., Sultanbawa, Y., Ranasingh, N., Kumara, P., & Wijesundera, R. (2005). Effect of the combined application of chitosan and carbonate salts on the incidence of anthracnose and on the quality of papaya during storage. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80(4), 447-452. doi: 10.1080/14620316.2005.11511958
- Sivakumar, D., Malick, B., Korsten, L., & Thompson, K. A. (2016). Integrated application of chitosan coating with different postharvest treatments on the control of postharvest decay and maintenance of overall

- fruit quality. In: Bautista-Baños, S., Romanazzi, G., & Jiménez-Aparicio, A. (Eds.), *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities 5* (pp. 127-153). USA: Academic Press/Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-802735-6.00005-7
- Sotelo-Boyás, M. E., Bautista-Baños, S., Correa-Pacheco, Z. N., Jiménez-Aparicio, A., & Sivakumar, D. (2016). Biological activity of chitosan nanoparticles against pathogenic fungi and bacteria. In: Bautista-Baños, S., Romanazzi, G., Jiménez-Aparicio, A. (Eds.), *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities 13* (pp. 339-349). USA: Academic Press/Elsevier. doi: 10.1016/B978-0-12-802735-6.00013-6
- Timóteo-dos Santos, N. S., Athayde-Aguilar, A. J., Vanconceslos-de Oliveira, C. E., Veríssimo-de Sales, C. V., de Melo-e Silva, S., Sousa-da Silva, R., Montenegro-Stamford, T. C., & Leite-de Souza, E. (2012). Efficacy of the application of a coating composed of chitosan and *Origanum vulgare* L. essential oil to control *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* in grapes (*Vitis labrusca* L.). *Food microbiology*, 32(2), 345-353. doi: 10.1016/j.fm.2012.07.014
- Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2006). Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharvest Biology and Technology*, 41(2), 164-171. doi: 10.1016/j.postharvbio.2006.03.016
- Xu, W. T., Huang, K. L., Guo, F., Qu, W., Yang, J. J., Liang, Z. H., & Luo, Y. B. (2007). Postharvest grapefruit seed extract and chitosan treatments of table grapes to control *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, 46(1), 86-94. doi: 10.1016/j.postharvbio.2007.03.019
- Yang, G., Yue, J., Gong, X., Qian, B., Wang, H., Deng, Y., & Zhao, Y. (2014). Blueberry leaf extracts incorporated chitosan coatings for preserving postharvest quality of fresh blueberries. *Postharvest Biology and Technology*, 92, 46-53. doi: 10.1016/j.postharvbio.2014.01.018
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174. doi: 10.3390/md13031133
- Yu, T., Yu, C., Chen, F., Sheng, K., Zhou, T., Zunun, M., & Zheng, X. (2012). Integrated control of Moho azul in pear fruit by combined application of chitosan, a biocontrol yeast and calcium chloride. *Postharvest Biology and Technology*, 69, 49-53. doi: 10.1016/j.postharvbio.2012.02.007
- Zahid, N., Alderson, P., Ali, A., Maqbool, M., & Manickam, S. (2013). *In vitro* control of *Colletotrichum gloeosporioides* by using chitosan loaded nanoemulsions. *Acta Horticulturae*, 1012, 769-774. doi: 10.17660/ActaHortic.2013.1012.104