



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESTUDIO DEL EFECTO DE UN EXTRACTO VEGETAL DE BANANO
VERDE SOBRE EL DESARROLLO DE *Penicillium digitatum* EN
CÍTRICOS POSCOSECHA

AUTOR

Patricio David Mejía Aguilar

AÑO

2018



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESTUDIO DEL EFECTO DE UN EXTRACTO VEGETAL DE BANANO VERDE
SOBRE EL DESARROLLO DE *Penicillium digitatum*
EN CÍTRICOS POSCOSECHA

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con
los requisitos establecidos para optar por el título de Ingeniero Agroindustrial y
de Alimentos

Profesor Guía

M.Sc. María Raquel Meléndez Jácome

Autor

Patricio David Mejía Aguilar

Año

2018

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, *Estudio del efecto de un extracto vegetal de banano verde sobre el desarrollo de Penicillium digitatum en cítricos poscosecha*, a través de reuniones periódicas con el estudiante Patricio David Mejía Aguilar, en el décimo semestre, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

María Raquel Meléndez Jácome

Master en Protección Vegetal y Fitofarmacia

C.I 1709384017

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, *Estudio del efecto de un extracto vegetal de banano verde sobre el desarrollo de Penicillium digitatum en cítricos poscosecha*, del Patricio David Mejía Aguilar, en el décimo semestre, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

Viviana del Rocío Yáñez-Mendizábal
PhD. en Ciencia y Tecnología Agraria y Alimentaria
C.I 1710469782

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”

Patricio David Mejía Aguilar

C.I 040160301-4

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida y ser mi guía en todo momento, a mi padre por su esfuerzo y fortaleza, por ser mi ejemplo de vida, a mi madre por su amor, comprensión y apoyo en cada paso, a mi hermana por tantas alegrías compartidas, por ser la persona incondicional que siempre llevare en mi corazón, infinita gratitud a Melany Fierro por dedicarme su tiempo, por su amor y motivación. A mi profesora Raquel Meléndez por su guía y acompañamiento en este proyecto.

A todos ustedes gracias por ayudarme a culminar esta etapa de mi vida.

DEDICATORIA

A mis padres, Patricio y Liliana,
por ser mi apoyo incondicional
por ayudarme a vencer cada
obstáculo en mi vida.

A mi hermana, por ser mi com-
pañera de vida.

A mis abuelitos, por su amor pu-
ro y sincero.

RESUMEN

Los cítricos son recursos agroindustriales de mucha importancia debido a su alta demanda y consumo alrededor del mundo ya sea en fresco y/o procesados. A pesar de esta importancia, los niveles de pérdida en poscosecha, causados principalmente por enfermedades fungosas como el moho o podredumbre verde (*Penicillium digitatum*), pueden alcanzar hasta el 90%. Para el control de *P. digitatum*, los principales tratamientos son aplicaciones químicas con fungicidas sintéticos que pueden afectar al ambiente y a la salud humana por lo cual métodos alternativos eficientes como control biológico microbiano, químicos de baja toxicidad y extractos botánicos están siendo ampliamente considerados. Sobre esta base, el presente trabajo se realizó con el propósito de evaluar el efecto de control biológico de los taninos provenientes de un extracto vegetal de banano verde (*Musa paradisiaca*) variedad Cavendish en la reducción de la podredumbre causada por *P. digitatum* en variedades comerciales de naranja (*Citrus sinensis*) variedad Valencia y mandarina (*Citrus reticulata*) variedad Blanco. Para medir el efecto de control, concentraciones de extracto de la cascara de banano verde de: 1000, 800, 600, 400 y 200 ppm fueron evaluados en ensayos *in vivo* con inoculaciones artificiales del patógeno durante 22 días. Estos tratamientos fueron comparados frente a un testigo absoluto sin tratamiento y un fungicida comercial Thiabendazol. Los resultados obtenidos demostraron que el extracto de banano evaluado en diferentes concentraciones no fue efectivo en la reducción del crecimiento del patógeno en comparación con el testigo sin tratar para mandarina. En el caso de la naranja, el extracto evaluado en diferentes concentraciones presentó efectividad en la reducción del crecimiento sobre *P. digitatum* en comparación con el testigo, siendo el mejor tratamiento a una concentración de 1000 ppm, con una reducción de 52,98% de la media del crecimiento radial del hongo en comparación con el testigo y su actividad biológica fue similar al efecto de control que presenta el fungicida comercial. Con base en los resultados se concluyó que es posible relacionar la reducción del crecimiento de *P. digitatum* en mandarina y naranja debido a los taninos presentes en el extracto de banano verde.

ABSTRACT

Citrus fruits are agroindustrial resources of great importance due to their high demand and consumption in the world, in fresh and / or processed. Despite this importance, the levels of loss in post-harvest, caused mainly by fungal diseases such as mold or green rot (*Penicillium digitatum*), can reach up to 90%. For control of *P. digitatum*, the main treatments are chemical applications with synthetic fungicides that may affect human health and environment, therefore efficient alternative methods such as microbial biological control, low toxicity chemicals and botanicals extracts are being considered. On this base, the present work was carried out with the purpose of evaluating the effect of biological control of tannins from a green banana plant extract (*Musa Paradisiaca*) Cavendish variety against rot caused by *P. digitatum* in commercial orange (*Citrus sinensis*) Valencia variety and mandarin (*Citrus reticulata*) Blanco variety. To measure the control effect, different concentrations of the extract green banana peel of 1000, 800, 600, 400 and 200 ppm were evaluated in *in vivo* with artificial inoculations of the pathogen for 22 days. These treatments were compared to an absolute control without treatment and the commercial fungicide Thiabendazole. The results obtained showed that the banana extract evaluated in different concentrations is not effective in reducing the pathogen growth compared to the untreated control in mandarin. In the case of orange, the extract evaluated in different concentrations showed reduction of growth on *P. digitatum* in comparison with the control, being the best treatment in concentration of 1000 ppm, with a reduction of 52.98% of the average of the radial growth of the fungus compared to the control and its biological activity was like the control effect of the commercial fungicide. Based on the results it was concluded that it is possible to relate the reduction growth of *P. digitatum* in mandarin and orange due to the tannins present in the green banana extract.

ÍNDICE

1. Introducción.....	1
2. Objetivos	3
2.1. Objetivo General	3
2.2. Objetivos específicos	3
3. Marco Teórico	3
3.1. Generalidades del cultivo de cítricos	3
3.1.1. Características botánicas	3
3.1.2. Producción y procesamiento	4
3.2. Problemas fitosanitarios de campo y poscosecha de frutos cítricos y manejo.	6
3.2.1. Problemas fitosanitarios	6
3.2.2. Manejo de poscosecha de cítricos	8
3.2.3. Control biológico de podredumbres de cítricos en poscosecha.....	9
3.3. Extracción de taninos de la cáscara verde banano y su efecto de inhibición sobre microorganismos	11
4. Metodología.....	11
4.1. Obtención del inculo puro de <i>Penicillium digitatum</i>	11
4.2. Obtención del extracto acuoso de la cáscara verde de banano	12
4.3. Ensayo de efectividad del extracto de banano verde in vivo.....	14
4.3.1. Preparación del inculo de <i>Penicillium digitatum</i>	14

4.3.2. Evaluación in vivo del efecto inhibidor del extracto de banano verde sobre crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> en naranja en poscosecha.	14
4.3.3. Evaluación in vivo del efecto inhibidor del extracto de banano verde sobre crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> en mandarina en poscosecha.	17
5. Resultados y discusión.....	18
5.1. Identificación de <i>Penicillium digitatum</i>	18
5.2. Evaluación del rendimiento del extracto acuoso de la cáscara de banano verde.....	19
5.3. Evaluación in vivo del efecto inhibidor del extracto de banano sobre el crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> en naranja.	21
5.4. Evaluación in vivo del efecto inhibidor del extracto de banano verde sobre el crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> en mandarina.....	29
6. Conclusiones.....	36
7. Recomendaciones.....	37
REFERENCIAS.....	39
ANEXOS	46

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de extracción de compuestos activos en caliente de la cáscara de banano verde con agua como solvente	13
Figura 2. Incubación de los frutos cítricos en cubetas de cartón.....	16
Figura 3. Signos y síntomas de podredumbre verde de los cítricos causada por <i>Penicillium digitatum</i>	19
Figura 4. Balance de masa del proceso de obtención del extracto de banano verde.	20
Figura 5. Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones y un fungicida comercial sobre la reducción del crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> en naranja variedad Valencia durante 22 días. Las barras representan el promedio del tamaño de la lesión para cada tratamiento y letras diferentes indican diferencias significativas entre de acuerdo con un test de LSD de Fisher $p < 0.05$	22
Figura 6. Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones, un fungicida comercial y un control sobre la reducción del crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> (datos ploteados de tres repeticiones del ensayo) en naranja sin lavar a los 18 días de inoculación. Las letras diferentes indican diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo con un test LSD de Fisher y con un $p < 0.05$	24
Figura 7. Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones y un fungicida comercial sobre la reducción del crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> en naranja desinfectada variedad Valencia durante 22 días. Las barras representan el promedio del tamaño de la lesión para cada tratamiento y letras diferentes indican diferencias significativas entre de acuerdo con un test de LSD de Fisher $p < 0.05$	26
Figura 8. ABCPD de <i>Penicillium digitatum</i> en naranjas infectadas artificialmente y tratadas con un extracto de banano verde en	

	diferentes concentraciones, un fungicida comercial y un control sin tratar. Las líneas representan los promedios de la severidad a lo largo del tiempo acorde la escala diseñada por Cocco y colaboradores (2008).	27
Figura 9.	Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones y un fungicida comercial sobre la reducción del crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> en mandarina variedad Blanco durante 22 días. Las barras representan el promedio del tamaño de la lesión para cada tratamiento y letras diferentes indican diferencias significativas entre de acuerdo con un test de Tukey $p < 0.05$	29
Figura 10.	Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones, un fungicida comercial y un control sobre la reducción del crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> (datos ploteados de 3 repeticiones del ensayo) en mandarina sin lavar a los 11 días de inoculación. Las letras diferentes indican diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo con un test de Tukey con un $p < 0.05$	32
Figura 11.	Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones y un fungicida comercial sobre la reducción del crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> en mandarina desinfectada variedad Blanco durante 22 días. Las barras representan el promedio del tamaño de la lesión para cada tratamiento y letras diferentes indican diferencias significativas entre de acuerdo con un test de Tukey $p < 0.05$	33
Figura 12.	ABCPD de <i>Penicillium digitatum</i> en mandarinas infectadas artificialmente y tratadas con un extracto de banano verde en diferentes concentraciones, un fungicida comercial y un control sin tratar. Las líneas representan los promedios de la severidad a lo largo del tiempo acorde la escala diseñada por Cocco y colaboradores (2008).	35

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamientos utilizando diferentes concentraciones del extracto obtenido a partir de banano verde	15
Tabla 2. Rendimiento y características físicas del extracto obtenido a partir de la cáscara de banano variedad Cavendish en madurez fisiológica	20
Tabla 3. ANDEVA del crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> ante diferentes tratamientos y en diferentes tiempos sobre naranja sin lavar.	23
Tabla 4. ANOVA para análisis de varianza del crecimiento de <i>Penicillium digitatum</i> ante diferentes tratamientos y en diferentes tiempos en el ensayo de mandarinas sin lavar	31

1. Introducción

Los cítricos son cultivos de alto consumo alrededor del mundo con capacidad de adaptarse a diferentes condiciones ambientales y climáticas (Niño et al., 2012), por lo que son comercialmente cultivadas en más de 80 países alrededor del mundo (Ladanyia y Ladaniya, 2010). A partir de la mitad de la década de los ochenta, el consumo y la producción de frutos cítricos alrededor del mundo ha tenido un crecimiento exponencial. La producción de naranjas, tangerinas, limones y limas se ha incrementado rápidamente lo cual permite mayores niveles de consumo total y per cápita de cítricos (Niño et al., 2012). Estudios realizados por Corporación Universitaria Lasallista (2012), datan que debido a su demanda, son los frutos más producidos a nivel mundial.

Los mayores productores de frutos cítricos se encuentran en el hemisferio norte y aportan con el 58% de la producción en el mundo; mientras que los países provenientes del hemisferio sur representan el restante de la producción. Son cinco los países en que se concentra casi el total de la producción de estos cultivos. Según datos publicados por Niño et al., (2012) los países con mayor producción fueron China, Brasil, Estados Unidos y España son los mayores productores y procesadores de cítricos a nivel mundial incluyendo mandarinas. Adicionalmente, India, México y Argentina encabezan las listas de producción de lima y limón.

Los métodos y prácticas de manejo de los cítricos, a lo largo de la cadena de producción, están sujetos a mantenimiento de la calidad de sus frutos y el control de problemas fitosanitarios bióticos causados por plagas y enfermedades (Velázquez y Hevia, 2007) y abióticos como susceptibilidad de la especie y el clima (Vilanova et al. 2014).

Los problemas fitosanitarios de mayor impacto en los frutos cítricos se encuentran en poscosecha, en su gran mayoría, son hongos esporulantes y filamentosos causantes de podredumbres (Carvalho et al., 2012). De los hongos causantes de podredumbres en cítricos las mayores pérdidas en poscosecha son causadas por los mohos verde (*Penicillium digitatum*) y azul

(*Penicillium italicum*). *Penicillium digitatum*, es el principal patógeno de las frutas cítricas, siendo el responsable de alrededor del 90% de pérdidas en la etapa del manejo poscosecha. Los problemas en almacenamiento de ambos patógenos se deben a que las esporas se encuentran en el ambiente facilitando la dispersión, y su futura multiplicación (Vilanova et al., 2014). Adicionalmente, la tasa de infección del hongo se incrementa al invadir la fruta a través de lesiones o heridas provocadas durante el mal manejo poscosecha tanto en la recolección, transporte y almacenamiento (Vilanova et al., 2014).

A pesar la utilización de agroquímicos sintéticos, el control de las infecciones producidas por *P. digitatum* y *P. italicum* pueden ser inefectivos, además de generar preocupación en consumidores y entes reguladores debido a la residualidad de los agroquímicos utilizados y la proliferación de cepas patógenas resistentes (Carvalho et al., 2012). Debido a esto, el incremento de nuevas técnicas de control biológico, este hongo sigue presentando una alta infección en los productos cítricos almacenados alrededor del mundo (Macarsin et al., 2007).

La preocupación pública en la seguridad e inocuidad de los alimentos ha dado paso a el interés por encontrar alternativas frente a los fungicidas comerciales de síntesis en el control de enfermedades poscosecha (Visintin, et al., 2010). Consecuentemente, en los últimos años la investigación de métodos biológicos, el uso de microorganismos, sustancias de baja residualidad y extractos vegetales han sido probados como alternativas eficientes en su periodo poscosecha para cítricos, pero al ser poco tóxicos, su efectividad y persistencia son en general variables y limitadas, dificultando su implementación comercial (Carvalho et al., 2012).

2. Objetivos

2.1. Objetivo General

Evaluar el efecto del extracto vegetal de banano verde para el control de *Penicillium digitatum*, en cítricos en poscosecha

2.2. Objetivos específicos

- Demostrar la efectividad de extracto vegetal de la cáscara verde de banano en naranja y mandarina en poscosecha para el control de *Penicillium digitatum*.
- Determinar la dosis óptima para la inhibición de *Penicillium digitatum* en naranja y mandarina en poscosecha.

3. Marco Teórico

3.1. Generalidades del cultivo de cítricos

3.1.1. Características botánicas

Las diversas especies y variedades cultivadas del género *Citrus* tienen su origen en las zonas subtropicales y tropicales de Asia y del archipiélago Malayo. A partir de este centro de origen se cree que se dispersaron hacia el sudeste de Europa y norte de África. Posteriormente, en la colonización fueron llevados a América del sur, y una vez en Brasil y el Caribe, este cultivo se extendió por el resto de América (Anderson, 2012).

Desde el punto de vista botánico, los cítricos pertenecen al orden de las Sapindales, de la familia *Rutaceae* y al género *Citrus* (Ladanyia y Ladaniya, 2010). Estos frutos se caracterizan por ser un fruto carnoso conocido con el

nombre de hesperidio con varias formas, entre ellas: esférica, redonda, achatada u ovoide. En este hesperidio se encuentran pequeñas vesículas de pulpa (endocarpo) (Velázquez y Hevia, 2007), en forma de lágrimas como pequeños sacos de jugo, recubiertas de un blanco tejido esponjoso (albedo o mesocarpo) y su cáscara (flavedo o exocarpo) con un sin número de glándulas muy desarrolladas oleíferas, que pueden ser visibles en su cáscara como puntos circulares, hundidos y oscuros (Anderson, 2012). Su pulpa se encuentra conformada por gajos y estos separados por una fina película transparente como prolongación del tejido blanco esponjoso (Ordúz y Mateus, 2012). En su interior, dentro de los carpelos se encuentran sus semillas que pueden encontrarse en gran número o estar prácticamente ausentes en algunos híbridos (Velázquez y Hevia, 2007).

En naranja *Citrus sinensis* (L.) variedad Valencia, estos frutos se caracterizan por presentar hesperidios carnosos de diferente tamaño, formas, color y sabor o calidad del jugo por lo general esféricas a ovoides. Estos frutos son indehiscentes con un endocarpio carnoso con varias divisiones o gajos que son separados por delgados tabiques, las cuales tienen la particularidad de contener numerosas vesículas llenas de jugo (Hernández, 2014).

Para mandarinas *Citrus reticulata* variedad Blanco, es un fruto con forma esférica por lo general achatado en los polos, su corteza es delgada y fácil de pelar, presenta un color naranja y en ocasiones una gama hasta rojizo intenso, tiene la particularidad de presentar un hinchado por aire conocido por bufada al alcanzar la madurez, y no presenta resistencia al transporte lo que ocasiona los daños por el desarrollo de mohos. Su pulpa es de color naranja oscura se encuentra separada por 11 a 14 gajos fácilmente separables, con sacos de jugos pequeños, despuntados y anchos que contienen abundante jugo (Gomez, 2011).

3.1.2. Producción y procesamiento

En cuanto a la producción los cítricos son las frutas más producidas a nivel mundial como un grupo de varias especies, y son económicamente cultivadas

en más de 80 países en el mundo. El cultivo de cítricos no sólo es remunerador, sino que también genera empleo. (Ladanyia y Ladaniya, 2010). Las tendencias de producción de cultivos cítricos indican que las naranjas constituyen aproximadamente el 60 por ciento de la producción total, seguidos por la producción de diferentes variedades de mandarinas como clementinas, satsumas y tangerinas, que entre ellas representan alrededor del 20 por ciento de la producción (Ladanyia y Ladaniya, 2010).

La producción mundial de cítricos en el año 2013 alcanzó 136.3 millones de toneladas, en los que 107.7 millones de toneladas fueron alcanzadas en el hemisferio norte con un 79% de la producción total de cítricos en el mundo, y 28.6 millones de toneladas fueron registradas por parte del hemisferio sur con el 21% con relación a la producción total de cítricos en el mundo (León, 2016). Además, 72.5 millones de toneladas corresponden a la producción de naranjas con un 53%, 28.6 millones de toneladas a mandarinas con un 21%, 15 millones de toneladas correspondiendo a limas y limones con un 11%, 8.2 millones de toneladas a toronjas con un 6% y 12 millones de toneladas repartidas entre varios cítricos con un 9% (Del Castillo, 2016).

El principal productor de frutos cítricos es China con una producción de 32.6 millones de toneladas correspondiendo al 24% de la producción mundial, seguido por Brasil con 19.7 millones de toneladas, como tercero en la lista se encuentra Estados Unidos con una producción de 10.2 millones de toneladas, México con 7.7 millones de toneladas, España con 6.4 millones de toneladas, Egipto con 4 millones de toneladas (Del Castillo, 2016).

Por otra parte, en el año 2015, las exportaciones de cítricos alcanzaron los 16 millones de toneladas. España como principal exportador, seguido de Sudáfrica, Turquía, Egipto y China. Estos 5 países concentran el 60% del movimiento de este comercio (Del Castillo, 2016).

Los principales productos dentro de la cadena agro-productiva de los frutos cítricos que se comercializan internacionalmente son: naranjas, limones, mandarinas, lima agria o mejicana, toronjas o pomelos, estos productos con una alta demanda en fresco o seco. Además; zumo de naranja congelado,

zumo de cualquier otro fruto cítrico, confituras, jaleas, mermeladas, purés, pastas y demás zumos de otros frutos cítricos (Corporación Universitaria Lasallista, 2012)

3.2. Problemas fitosanitarios de campo y poscosecha de frutos cítricos y manejo.

3.2.1. Problemas fitosanitarios

La calidad de los cítricos está determinada por su manejo en el campo como un buen manejo poscosecha. Estos frutos deben encontrarse con una consistencia firme, sin heridas o lastimaduras por insectos o microorganismos en su superficie, no deben encontrarse en descomposición, como también libre de materias extrañas visibles, además exento de sabores y olores extraños, o de cualquier factor extraño que afecte para el consumo humano (Velázquez y Hevia, 2007).

Sin embargo, los cítricos presentan problemas fitosanitarios especialmente representados por plagas y enfermedades que se manifiestan desde el campo hasta la poscosecha. Lepidópteros, moscas de la fruta, entre otros son las plagas más frecuentes que afectan a los frutos cítricos. En el caso de las enfermedades por microorganismos especialmente hongos como *Phytophthora citrophthora* y *Phytophthora nicotiana*, son los principales responsables de la pudrición oscura, incluso en frutos sanos cuando las condiciones de campo son conductivas. Es frecuente también encontrar otra enfermedad conocida como la pudrición amarga ocasionada por *Geotrichum candidum*, los frutos más susceptibles serán aquellos con alguna lesión o los más cercanos al suelo (Velázquez y Hevia, 2007). Un cuidadoso manejo de la plantación antes y después de la cosecha, disminuirá considerablemente los problemas de la poscosecha (Velázquez y Hevia, 2007).

A pesar de adecuados manejos de la plantación, importantes pérdidas económicas se han reportado, causadas por diferentes enfermedades poscosecha,

que afectan las cualidades organolépticas de frutos, es decir, desde que estos son cosechados, almacenados y destinados a las perchas para el consumidor final (Carvalho et al., 2012).

Entre los principales problemas de poscosecha de cítricos son la podredumbre verde causadas por *Penicillium digitatum* (Sacc) y azul causada por *Penicillium italicum* (Whem). El primero (*Penicillium digitatum*) como el principal responsable de las pérdidas poscosecha entre 50 % y 80% de la producción mundial (Gonzales, 2011). La problemática de pérdidas causadas por ambos patógenos se debe a que las esporas de estos hongos se encuentran en el ambiente y pueden ser dispersadas con facilidad aumentando los niveles de infección, especialmente en los frutos por medio de heridas, magulladuras y golpes durante el proceso de cosecha y posterior almacenamiento en poscosecha (Velázquez y Hevia, 2007).

La sintomatología se presenta inicialmente por un punto pequeño de un tamaño de 2 a 3 milímetros de diámetro, presentando un aspecto blando, acuoso y decolorado con una ligera depresión. Esta pequeña mancha se expande rápidamente en un tiempo promedio de 24 a 36 horas a temperatura ambiente, alcanzando un diámetro de 2 a 4 centímetros llegando a comprometer las vesículas que contienen jugo, las manchas en la superficie de la piel del fruto se desarrollan en forma radial a partir del centro de la lesión, posteriormente se torna blanco, y luego se torna azul o verde, dependiendo de la especie del hongo patógeno. El fruto, desprende un olor característico de la podredumbre, pierde su consistencia y por completo su aptitud para el consumo humano (Vilanova et al., 2014), además, el hongo *Penicillium digitatum* produce etileno, lo cual provoca un incremento de la respiración, reduciendo la vida útil de los frutos cítricos. Finalmente, los frutos afectados se momifican (Delgado y Pérez, 1997).

Adicionalmente a la patología de la enfermedad los factores abióticos circundantes de almacenamiento como: la humedad relativa elevada, temperatura de 20 a 25 °C, favorecen el crecimiento de *Penicillium sp.* A una temperatura de 10 °C, *Penicillium digitatum* crecerá más rápido que *Penicillium italicum*, pues

este último se mantiene oculto por el crecimiento del primero, sin embargo, a temperaturas inferiores a 10 °C, la situación se invierte (Velázquez y Hevia, 2007). Los cítricos son más susceptibles a la infección de *Penicillium* spp., durante una temporada de lluvia y con temperaturas entre 20 y 27 grados centígrados (Gonzales, 2011).

3.2.2. Manejo de poscosecha de cítricos

Existen varios tratamientos tradicionales poscosecha, los cuales reducen y previenen la infección de *Penicillium digitatum* en los frutos cítricos, entre los más comunes podemos encontrar el lavado, cepillado, desinfectado, encerado. Estos procesos por lo general se llevan en secuencia, y en otros casos, dependiendo de las condiciones de los frutos pueden omitirse (Velázquez y Hevia, 2007).

El lavado y el tratamiento con fungicidas, son los procesos más antiguos y los que mayores cambios han presentado. El primero en donde se desinfecta la piel de las frutas y se inactiva las esporas presentes en las heridas, el segundo los frutos son sometidos a suspensiones de fungicidas, este procedimiento busca que la sustancia activa fungistática penetre la corteza del fruto, brindando un control eficaz sobre sus patógenos (Garran, 1996). Los fungicidas más conocidos y utilizados son el Thiabendazol, Imazalil y Procloraz (Velázquez y Hevia, 2007).

El encerado, es una práctica poscosecha ampliamente difundida en las industrias cítricas, este tratamiento además de prevenir las pérdidas de peso, mejoran la apariencia de los frutos. La utilización de ceras de polietileno reducen la deshidratación, ablandamiento y alteraciones fisiológicas debido a los tratamientos poscosecha mencionados anteriormente, pues el lavado y desinfectado eliminan la cera natural que acumulan los frutos cítricos en su desarrollo. Estas mismas ceras permiten la conservación de mandarina a 9°C hasta seis semanas. (Garran, 1996).

La conservación frigorífica, es considerado como uno de los métodos tradicional poscosecha más efectivos para asegurar y preservar la calidad de los frutos

cítricos, debido a que retarda el envejecimiento de los frutos ya que disminuye su respiración, maduración, reduce el crecimiento de podredumbres fúngicas y disminuya los cambios metabólicos indeseables. (Velázquez y Hevia, 2007).

Además, existen varios métodos alternativos que se han seguido para el control de las enfermedades poscosecha incluyen el control biológico, métodos físicos como el calor o las radiaciones y el uso de productos químicos seguros de baja toxicidad, como los aditivos alimentarios. (Elshahawy et al., 2015). (Lado et al., 2011) mencionan que la utilización de sales con efecto fungistático sobre *Penicillium* spp., es una de las alternativas más promisorias para potenciar el control de estos patógenos. Algunos de ellos como el sorbato de potasio y el benzoato de sodio con actividad de amplio espectro, y la utilización de estos tiene costo relativamente bajo (Elshahawy et al., 2015).

3.2.3. Control biológico de podredumbres de cítricos en poscosecha

Para el control de las podredumbres de cítricos causadas especialmente por *Penicillium digitatum* y *Penicillium italicum* comúnmente se usan fungicidas sistémicos. El modo de acción de estos fungicidas es atacar o matar a las estructuras fungosas interfiriendo en sus procesos vitales e inactivando diferentes proteínas o enzimas esenciales de la producción de energía o respiración del microorganismo. Otros atacan su membrana celular o interfieren en rutas metabólicas importantes y específicas, evitando la producción de quitina y esteroides (McGrath, 2004).

En el caso de control biológico mediado, este puede ser implementado principalmente por agentes vivos como microorganismos, plantas y/o sus principios activos. McGrath (2004) los clasifica en tres diferentes tipos de biopesticidas:

- Biopesticidas Microbianos. Son aquellos que se identifican por presentar un agente de control biológico (microorganismo con capacidad de atacar o competir con un patógeno o plaga).

- Biopesticidas Vegetales. Son aquellos incorporados a partir de material genético, son producidos por la planta.
- Biopesticidas Bioquímicos. Son aquellos que con sustancias que su origen se da de forma natural, pueden ser el resultado de una fermentación. Estas sustancias logran afectar de manera directa a los microorganismos que causan la infección o pueden estimular a los inductores de resistencia sistémica adquirida.

Los biopesticidas por lo general tienen un rango de acción o espectro generalmente reducido, con una baja toxicidad, se pierden o se descomponen con facilidad en el ambiente por lo que son considerados con un bajo potencial de impacto para el ambiente (McGrath, 2004). Un ejemplo de este tipo de biofungicidas obtenido de plantas de la división *Magnoliophyta*, podemos encontrar al aceite extraído de *Piper divaricatum*, este extracto presenta un fuerte efecto antifúngico sobre el hongo *Fusarium solanum* (Da Silva et al., 2014). Se puede tomar otro ejemplo al estudio realizado en el 2011 por Contreras y colaboradores en el que demostró que el efecto antifúngico en un extracto etanólico de alejandria (*Cowania plicata* D. Don) y lentisco (*Pistacia lentiscus* L.) contra los hongos *Colletotrichum cocodes* y *Fusarium oxiporum*. Otros estudios con compuestos antifúngicos obtenidos de plantas de la clase *Liliopsida* y el orden *Zingiberales* como extracto presurizado, destilado y fermentado anaeróbica y aeróbicamente de *Zingiber officinale* Roscoe, inhibe el crecimiento de *Moniliophthora roreri*. (Ramírez et al., 2011). Mekbib y colaboradores en el año 2007 desarrollaron un estudio en donde fueron evaluados dos diferentes extractos metanólicos de plantas provenientes de Ethiopia, *Witharia somnifera* y *Acacia seyal*, estos extractos fueron evaluados *in vivo* en naranjas variedad Valencia presentado alta efectividad en la inhibición de *Penicillium digitatum*, con un porcentaje de 70% y 75% respectivamente. Estas plantas fueron inicialmente seleccionadas por su actividad de alto espectro sobre patógenos en humanos y plantas.

3.3. Extracción de taninos de la cáscara verde banano y su efecto de inhibición sobre microorganismos

Se conoce como metabolitos o compuestos secundarios bioactivos de origen vegetal, a las sustancias producidas por varias especies de plantas de forma natural y en concentraciones diferentes. Estos compuestos se caracterizan por poseer propiedades antimicrobianas, antifúngicas y en algunos casos antioxidantes (Rivera, 2016) que pueden interferir con las estructuras o las actividades celulares de diferentes patógenos hasta reducir su incidencia.

Los taninos son compuestos vegetales con propiedades antifúngicas que se encuentran en altas concentraciones en la cascara de frutos de banano verde (Garcés, 2004). Este compuesto se debe combinación de varias moléculas de ácido gálico o elágico con glucosa y ácidos fenólicos dando como resultado a los taninos. Este presenta propiedades antioxidantes, antifúngicas y antimicrobianas, además de limitar la absorción de varias sustancias y nutrientes (Garcés, 2004). Estudios realizados por Mokbel y Hashinaga (2005), demuestran capacidad antoxidante, antimicrobiana y antifúngica, al utilizar un extracto de la cascara de banano verde, obtenido con etanol y acetona sobre *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis*, *Eschericia coli*.

4. Metodología

4.1. Obtención del inóculo puro de *Penicillium digitatum*

Cultivos puros de *Penicillium digitatum*, fueron obtenidos a partir de naranjas variedad Valencia Late maduras con signos y síntomas de podredumbre verde. Para el aislamiento del patógeno, se utilizó la metodología descrita por Agrios (2005) para aislamiento y purificación *in vitro* de hongos fitopatógenos a partir de material vegetal enfermo en agar papa dextrosa (PDA) (Anexo1). La identificación a nivel de especie se realizó mediante características morfológicas de cuerpos fructíferos del microorganismo patógeno confrontados

con bases de datos y claves de Agrios (2005) y Barnett y Hunter (1998). Los aislados patogénicos puros fueron conservados en PDA a 4°C y se realizó repiques de los cultivos puros con una frecuencia mensual para tener inóculo fresco.

4.2. Obtención del extracto acuoso de la cáscara verde de banano

El extracto acuoso de la cáscara verde de banano se obtuvo a partir de muestras de *Musa paradisiaca*, variedad Cavendish en estado de madurez fisiológica, utilizando las técnicas descritas por Cerutti y Neumayer (2004) y Rivera (2016) con modificaciones. La extracción se realizó sometiendo la cáscara verde del banano en un hidrodestilador a temperatura de 350°C durante 48 horas. La principal modificación fue que se realizó la extracción en agua destilada, seguida de filtración de toda la cáscara y residuos sólidos, dejando únicamente la lixivia. Posteriormente, se realizó un proceso de secado y liofilización del extracto lixiviado. Finalmente, el extracto fue almacenado en tubos Falcón estériles nuevos, en un desecador a temperatura ambiente para remover los residuos de humedad y almacenados a una temperatura promedio de 15,7°C. El flujo del proceso del extracto acuoso de la cáscara de banano verde se describe en la figura 1.

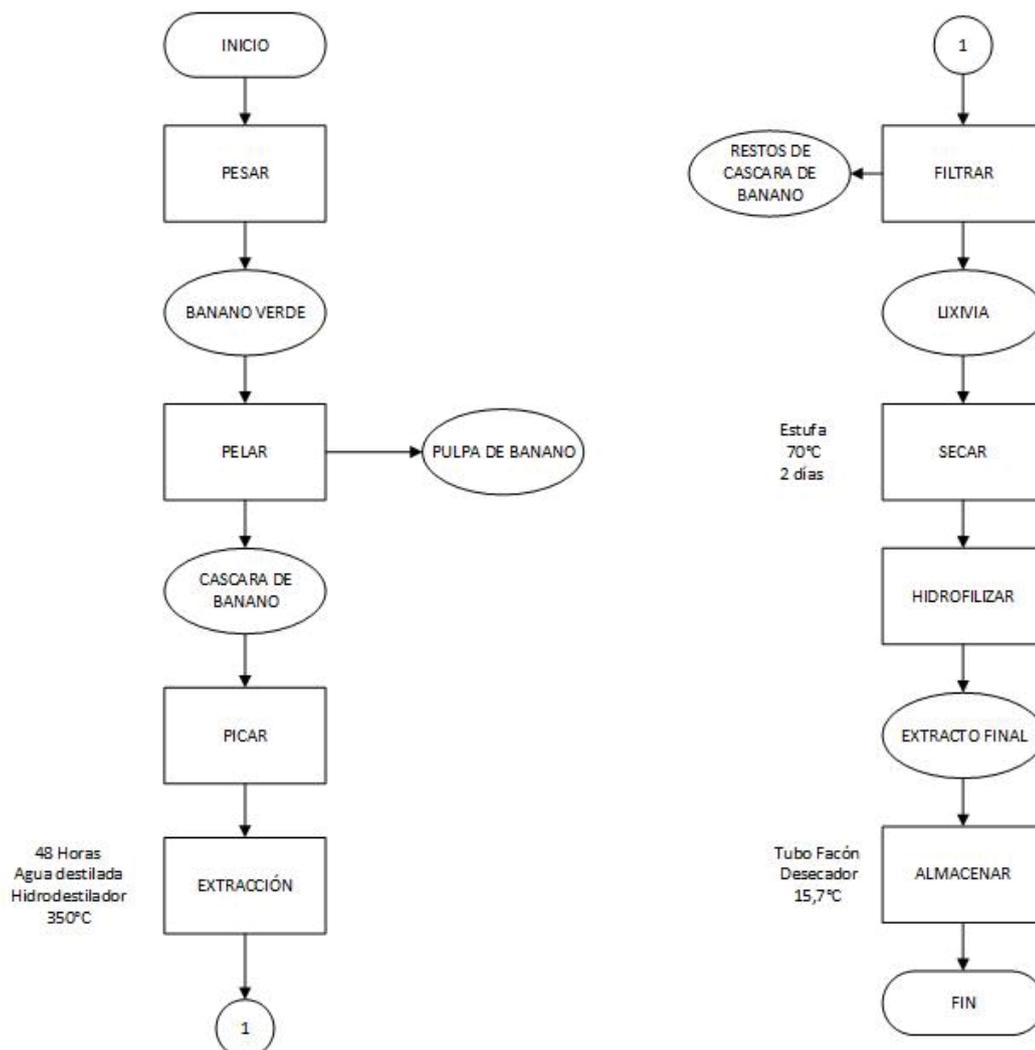


Figura 1. Diagrama de flujo del proceso de extracción de compuestos activos en caliente de la cáscara de banana verde con agua como solvente

El porcentaje de rendimiento de la obtención del extracto se determinó utilizando el método volumétrico-gravimétrico descrito por Castro (2008), de acuerdo a la ecuación 1.

$$\% \text{Rendimiento: } (PE \text{ (g)} * 100\%) / PM \text{ (g)}$$

Ecuación 1

En donde:

PE: Peso del extracto obtenido en gramos

PM: Peso de la muestra de donde se obtendrá el extracto en gramos

4.3. Ensayo de efectividad del extracto de banano verde *in vivo*

Para el ensayo de efectividad se usaron mandarinas *Citrus reticulata* variedad Blanco y naranjas *Citrus sinensis* variedad Valencia Late. Los frutos fueron recolectados de mercados locales de la ciudad de Quito sin síntomas de infecciones y en estado de madurez fisiológica. Durante los ensayos se utilizaron frutas sin lavar y frutas desinfectadas, simulando diferentes condiciones poscosecha poscosecha.

4.3.1. Preparación del inóculo de *Penicillium digitatum*

Para la preparación del inóculo de *Penicillium digitatum* se utilizó la metodología descrita por Kouassi y colaboradores (2012) y Rivera en 2016. El patógeno fue cultivado en PDA como se describió anteriormente a 25°C durante 15 días. Para la recolección de esporas y la preparación del inóculo, se agregó 10 ml de solución salina (NaCl 0.9%) más 0.05 de Tween 20 al 0.05% como agente tenso activo. Posteriormente se determinó la concentración inicial de esporas presentes de la suspensión mediante una cámara de Neubauer (marca Marienfeld) y se calibró la concentración del patógeno a 10^4 conidias/ml (Gonzales, 2011).

4.3.2. Evaluación *in vivo* del efecto inhibitor del extracto de banano verde sobre crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja en poscosecha.

Para determinar el efecto biológico del extracto de banano en diferentes concentraciones sobre naranja, se planteó las hipótesis detalladas en el anexo 2.

Para la evaluación *in vivo* del efecto de los extractos obtenidos, se realizó un DCA (diseño completamente al azar), con tres replicas para cada tratamiento incluido los controles, cada replica estuvo formada por cinco frutos como unidades experimentales que fueron infectados artificialmente con el patógeno

y posteriormente tratados con las diferentes dosis como se describen en la tabla 1.

Tabla 1.

Tratamientos utilizando diferentes concentraciones del extracto obtenido a partir de banano verde

Tratamientos	Descripción
FH1	(Testigo): Fruta sin ningún extracto ni fungicida comercial.
FH2	Fruta con la aplicación de productos químicos comerciales como thiabendazol 1000 mg l ⁻¹ .
FH3	Fruta con el extracto de cáscara de banano verde en una concentración de 1000 ppm.
FH4	Fruta con el extracto de cáscara de banano verde en una concentración de 800 ppm.
FH5	Fruta con el extracto de cáscara de banano verde en una concentración de 600 ppm.
FH6	Fruta con el extracto de cáscara de banano verde en una concentración de 400 ppm.
FH7	Fruta con el extracto de cáscara de banano verde en una concentración de 200 ppm.

Las concentraciones descritas en la tabla 1, se basaron en un estudio previo realizado por Rivera en el 2016, este estudio se enfocó en la evaluación del mismo extracto sobre *Penicillium digitatum in vitro*.

Durante los ensayos se utilizaron frutas sin lavar y frutas desinfectadas. Para la desinfección, se utilizó la metodología descrita por Gonzales en el 2011. Los frutos utilizados fueron sumergidos en hipoclorito de sodio al 2% durante 2 minutos y posteriormente enjuagados en agua destilada por 2 minutos más. Finalmente fueron secados con papel toalla y se dejaron reposar durante 3 horas antes de la inoculación de la fruta con el hongo patógeno (*Penicillium digitatum*).

Para la inoculación artificial de *Penicillium digitatum* se siguió la metodología descrita por Gonzales (2011) con modificaciones. Se realizó un corte o herida a todos los frutos, mediante la utilización de un sacabocado metálico estéril de un diámetro de 4 mm (Figura 2) y con una micropipeta se inoculó cada fruto con 30 μ l del extracto en concentraciones de: 1000, 800, 600, 400 y 200 ppm una hora antes de la inoculación del patógeno y posteriormente 30 μ l del patógeno a una concentración de 10^4 esporas/ml. Los frutos tratados se depositaron en cubetas de cartón y fueron apilados mantenidos a una temperatura promedio de 15.5°C, durante 22 días.



Figura 2. Incubación de los frutos cítricos en cubetas de cartón

Para la evaluación del efecto del extracto de banano verde se midió el diámetro de crecimiento del hongo alrededor de la herida durante el período de incubación desde el momento de la inoculación hasta 22 días cada 4, 8, 11, 15, 18 y 22 días. Para el análisis de los resultados se calcularon los promedios del tamaño de la lesión en centímetros y analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y una prueba de separación de medias de LSD de FISHER ($p < 0.05$). Adicionalmente, los datos fueron transformados a porcentajes de severidad utilizando la escala diseñada por Cocco y colaboradores (2008), con una ponderación de 1 a 4 (Anexo 9) y se realizó el cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE).

4.3.3. Evaluación in vivo del efecto inhibidor del extracto de banano verde sobre crecimiento de *Penicillium digitatum* en mandarina en poscosecha.

Para determinar el efecto biológico del extracto de banano en diferentes concentraciones sobre mandarina, se planteó las hipótesis detalladas en el anexo 2.

Para la evaluación *in vivo* del efecto de los extractos obtenidos, se realizó un DCA (diseño completamente al azar), con tres replicas para cada tratamiento incluido los controles, cada replica estuvo formada por cinco frutos como unidades experimentales que fueron infectados artificialmente con el patógeno y posteriormente tratados con las diferentes dosis como se describen en la tabla 1.

Las concentraciones descritas en la tabla 1, se basaron en un estudio previo realizado por Rivera en el 2016, este estudio se enfocó en la evaluación del mismo extracto sobre *Penicillium digitatum in vitro*.

Durante los ensayos se utilizaron frutas sin lavar y frutas desinfectadas. Para la desinfección, se utilizó la metodología descrita por Gonzales en el 2011. Los frutos utilizados fueron sumergidos en hipoclorito de sodio al 2% durante 2 minutos y posteriormente enjuagados en agua destilada por 2 minutos más. Finalmente fueron secados con papel toalla y se dejaron reposar durante 3 horas antes de la inoculación de la fruta con el hongo patógeno (*Penicillium digitatum*).

Para la inoculación artificial de *Penicillium digitatum* se siguió la metodología descrita por Gonzales (2011) con modificaciones. Se realizó un corte o herida a todos los frutos, mediante la utilización de un sacabocado metálico estéril de un diámetro de 4 mm (Figura 2) y con una micropipeta se inoculó cada fruto con 30 μ l del extracto en concentraciones de: 1000, 800, 600, 400 y 200 ppm una hora antes de la inoculación del patógeno y posteriormente 30 μ l del patógeno a una concentración de 10^4 esporas/ml. Los frutos tratados se depositaron en

cubetas de cartón y fueron apilados mantenidos a una temperatura promedio de 15.5°C, durante 22 días.

Para la evaluación del efecto del extracto de banano verde se midió el diámetro de crecimiento del hongo alrededor de la herida durante el período de incubación desde el momento de la inoculación hasta 22 días cada 4, 8, 11, 15, 18 y 22 días. Para el análisis de los resultados se calcularon los promedios del tamaño de la lesión en centímetros y analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA) y una prueba de separación de medias de Tukey ($p < 0.05$). Adicionalmente, los datos fueron transformados a porcentajes de severidad utilizando la escala diseñada por Cocco y colaboradores (2008), con una ponderación de 1 a 4 (Anexo 10) y se realizó el cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE).

5. Resultados y discusión

5.1. Identificación de *Penicillium digitatum*

El hongo *Penicillium digitatum* (Figura 3a), fue aislado de naranja variedad Valencia. El hongo estaba presente sobre la piel del fruto: la corteza presentaba manchas blandas y blanquecinas con ligera depresión, la infección avanzó rápidamente recubriendo el fruto completamente con micelio blanco, finalmente tornándose de un color verde. Este hongo, observado al microscopio (Figura 3b) presentó conidios en una estructura ramificada y fiálides en donde se observó las esporas.

La descripción de este hongo coincide con (Macarsin, y otros, 2007), el crecimiento macroscópico de este hongo es rápido y progresivo, de textura lanosa. Inicialmente presenta color blanco y luego se torna verde o verde azulado. Microscópicamente posee gran cantidad de conidios con forma redondeada o cilíndrica; sus hifas son septadas y sus verticilos están formados por conidióforos, posee fiálides ramificadas en donde se forman las esporas.



Figura 3. Signos y síntomas de podredumbre verde de los cítricos causada por *Penicillium digitatum*.

- a) Naranja de la variedad Valencia con micelio esporulado.
- b) Cuerpo fructífero del patógeno en microscopio a 400X (objetivo x ocular) de magnificación.

5.2. Evaluación del rendimiento del extracto acuoso de la cáscara de banano verde

El extracto evaluado se obtuvo a partir de la cáscara de banano variedad Cavendish, en madurez fisiológica. El balance de masa del proceso de extracción se presenta en la figura 5. La pérdida principal durante el proceso se presenta en el momento del secado e hidrofiliación de la parte lixiviada, en este punto, se separa el agua agregada en el proceso de extracción para finalmente obtener el extracto en polvo con un porcentaje de rendimiento fue de 0,61% si se toma como base el peso total del banano utilizado y 1,44% si se considera como base únicamente el peso de la cáscara de banano. Las características del extracto obtenido se observan en la Tabla 2.

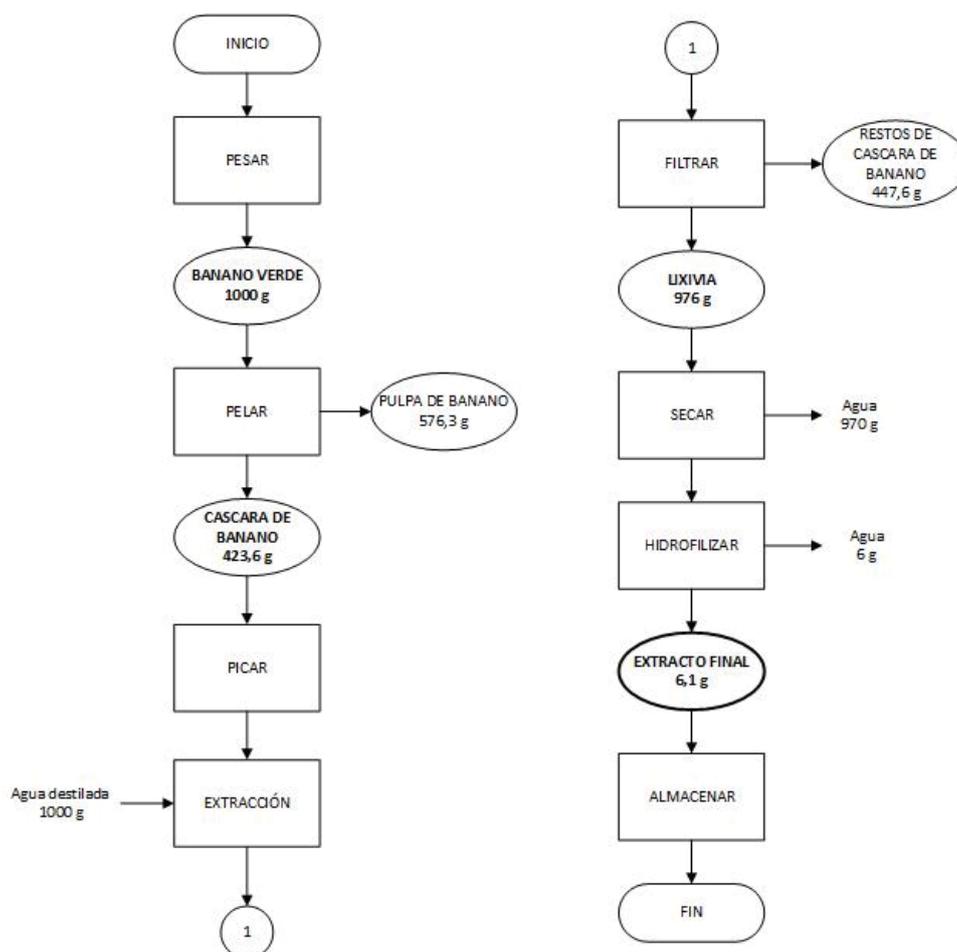


Figura 4. Balance de masa del proceso de obtención del extracto de banano verde.

Tabla 2.

Rendimiento y características físicas del extracto obtenido a partir de la cáscara de banano variedad Cavendish en madurez fisiológica

Extracto	Obtención	Rendimiento (%)	Características del extracto
Extracto Acuoso	Utilización de hidroddestilador durante 48 horas, secado a 70°C, y liofilización.	0,61% (peso total del banano) 1,44% (peso de la cascara)	Polvo seco con una coloración café claro.

Los resultados obtenidos son similares a los obtenidos por Espinosa (2013), en su estudio se obtienen porcentajes de rendimiento que varían entre 0,248% y 1,055%, estos datos fueron calculados tomando como base el peso de la cáscara de banano de dos variedades diferentes de banano en madurez fisiológica, y en diferentes días de maduración.

Dentro del proceso de actividad bananera, se encuentra como residuo de la cosecha, al banano de rechazo con un porcentaje del 10 y 20% de la fruta producida. Este subproducto sin embargo posee un alto contenido de taninos (Velázquez y Hevia, 2007). Esta sustancia contenida en la cáscara del banano contenidos en la cáscara de banano verde presenta un efecto biológico de control sobre hongos, debido a que intervienen en la producción de amilasa extracelular (Greene Y Morales, 1968). Velázquez y Hevia (2007) demostraron la especificidad del agua y del alcohol para extraer de manera selectiva taninos de la cáscara verde del banano. Sobre esta base la utilización del método de extracción acuosa de taninos se debe al bajo costo que representa y la facilidad de conseguir los materiales para su utilización en futuras investigaciones.

5.3. Evaluación *in vivo* del efecto inhibitor del extracto de banano sobre el crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja.

Los resultados obtenidos de la evaluación del efecto del extracto de banano verde sobre el crecimiento de *Penicillium digitatum* en las naranjas sin lavar demostraron que las diferentes dosis (excepto 200 ppm) controlaron significativamente la infección causada por *P. digitatum* dentro de los primeros 4 días de incubación, posteriormente fueron ineficientes en el control de la podredumbre causada por *P. digitatum* comparados con el control sin tratar y el fungicida comercial Thiabendazol (figura 5).

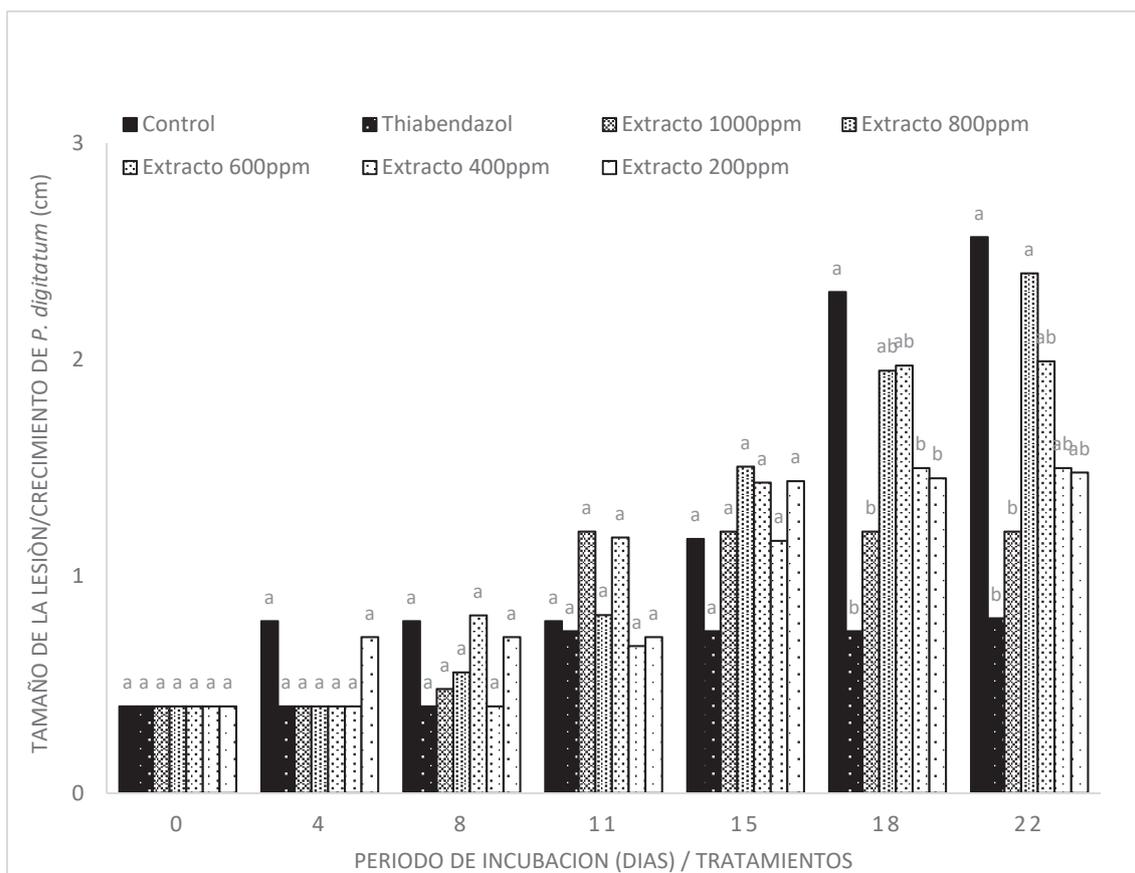


Figura 5. Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones y un fungicida comercial sobre la reducción del crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja variedad Valencia durante 22 días. Las barras representan el promedio del tamaño de la lesión para cada tratamiento y letras diferentes indican diferencias significativas entre de acuerdo con un test de LSD de Fisher $p < 0.05$.

En la figura 5 se observa que el tratamiento aplicado con fungicida comercial (FH2) presenta una incidencia directa en la reducción del crecimiento sobre *Penicillium digitatum*, con una reducción en la media de crecimiento radial del hongo con respecto al testigo. En este ensayo se observó que, el efecto de inhibición del hongo patógeno fue menor en el caso del uso del extracto vegetal en diferentes dosis: FH3, FH7 y FH6 que corresponden al extracto de banano en concentraciones de 1000, 200 y 400 ppm, respectivamente. Por otra parte, los tratamientos FH4 y FH5 (extracto de banano en una concentración de 800

ppm y 600 ppm) no presentaron un efecto biológico de la reducción de crecimiento sobre *P. digitatum*. En efecto, los resultados obtenidos con estos dos extractos son muy similares a los obtenidos por el testigo.

El tratamiento FH4 con una concentración de 800 ppm, presentó un comportamiento inusual y atípico sin lograr controlar el crecimiento del hongo durante el ensayo, esto pudo deberse a que los frutos utilizados pudieron encontrarse previamente dañados y en la corteza ya estaba una concentración de inóculo del hongo patógeno proveniente del campo. En concordancia con esto, un estudio realizado por Guédez y colaboradores (2010), muestran que la corteza de frutos cítricos tomados al alzar se encuentran colonizadas por *Penicillium digitatum* en un 80%.

Los datos obtenidos, después de 22 días de evaluación fueron analizados mediante un análisis de varianza ANDEVA, utilizando un modelo general lineal con una significancia estadística del 95%, este análisis mostró una diferencia significativa en la reducción del crecimiento del hongo *Penicillium digitatum* a través del tiempo y con respecto a los diferentes tratamientos evaluados (tabla 3).

Tabla 3.

ANDEVA del crecimiento de Penicillium digitatum ante diferentes tratamientos y en diferentes tiempos sobre naranja sin lavar.

Fuente	GI	SC Ajust.	CM. Ajust.	Valor-F	Valor- p
Tiempo	6	193.33	32.222	21.91	0,000
Tratamientos	6	33.89	5.649	3.84	0,001
Error	480	705.95	1.471		
Falta de Ajuste	36	88.80	2.476	1.77	0.05
Error Puro	444	617.15	1.39		
Total	492	934.55			

La tabla 3 muestra un $p < 0.05$ y se analizaron los factores: tratamientos (5 concentraciones del extracto, el fungicida y un testigo natural) y el tiempo (6 tiempos diferentes), este análisis permitió determinar que existe una diferencia

significativa en la reducción del crecimiento de *P. digitatum* en naranja poscosecha a través del tiempo.

Para determinar si existió diferencia estadística significativa entre tratamientos, los datos obtenidos sobre el crecimiento del hongo en los días: 4, 8, 11, 15, 18 y 22, fueron analizados independientemente por un ANDEVA de una vía y una prueba de separación de medias mediante el test LSD de FISHER con $p < 0.05$. Los resultados comparativos entre; un testigo, un fungicida comercial y cinco concentraciones del extracto de banano, mostraron una diferencia estadística significativa con un $p < 0.05$, a los 18 días de la inoculación del hongo (Anexo 7). La infección del hongo se presentó de forma tardía y su sintomatología avanzó lentamente.

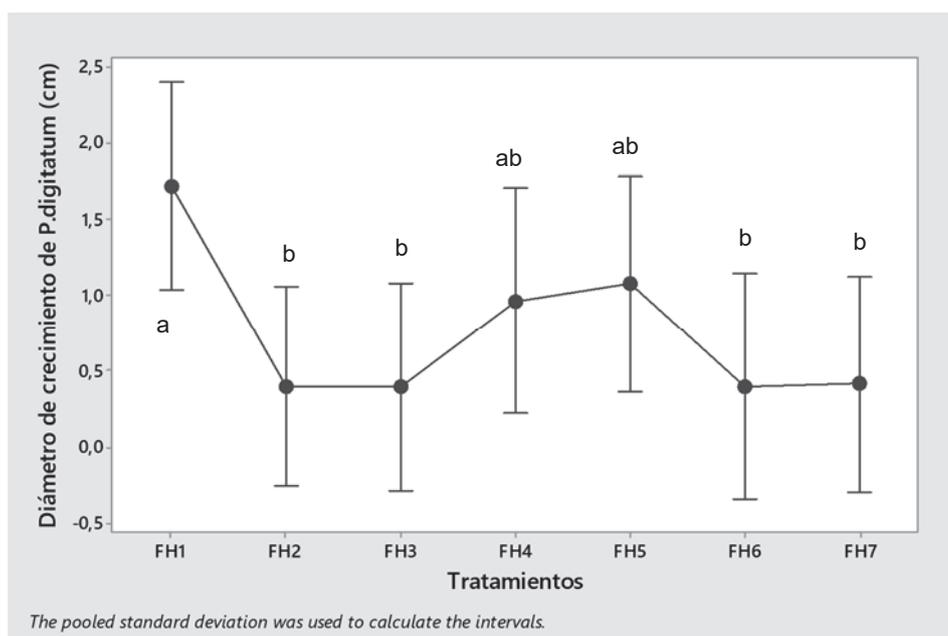


Figura 6. Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones, un fungicida comercial y un control sobre la reducción del crecimiento de *Penicillium digitatum* (datos ploteados de tres repeticiones del ensayo) en naranja sin lavar a los 18 días de inoculación. Las letras diferentes indican diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo con un test LSD de Fisher y con un $p < 0.05$.

Los resultados comparativos de este ensayo se observan en la figura 6. En este ensayo se corroboró que el extracto FH2 correspondiente al fungicida comercial Thiabendazol, presenta diferencia estadística significativa en la reducción del crecimiento sobre *Penicillium digitatum* a los 18 días después de la inoculación sobre el control. Los tratamientos FH3, FH6 y FH7 correspondientes al extracto de banano en concentraciones de 1000 ppm, 400 ppm y 200 ppm, muestran una reducción de crecimiento de *P. digitatum* similar al efecto del fungicida comercial. El tratamiento FH3 redujo 52.98% la media de crecimiento radial del hongo *P. digitatum* con respecto al testigo. El efecto de control de crecimiento presentado permitió asociar la actividad biológica de los taninos presentes en el extracto de cáscara de banano verde sobre el control de *P. digitatum* en la naranja. Existen varios estudios sobre la utilización de extractos de taninos sobre el control del crecimiento de hongos fitopatógenos. Veloz y colaboradores (2008), que demostraron que los extractos de taninos obtenidos de cascalote y quebracho tienen una alta actividad inhibitoria del crecimiento micelial de 7 diferentes tipos de hongos, con una efectividad del 40% al 100%. Se hace énfasis en que estos extractos funcionan bien principalmente cuando son usados como métodos de prevención, es decir estos extractos protegen a los tejidos vegetales previo a la inoculación del hongo (Veloz et al., 2008).

Los resultados del efecto biológico de control del crecimiento de *Penicillium digitatum* en las naranjas lavadas; bajo los efectos de varios tratamientos (un testigo absoluto; fungicida comercial Thiabendazol y un extracto de banano verde en 5 concentraciones; 1000ppm, 800ppm; 600ppm; 400ppm; 200ppm) durante 22 días de evaluación se observan en la figura 7.

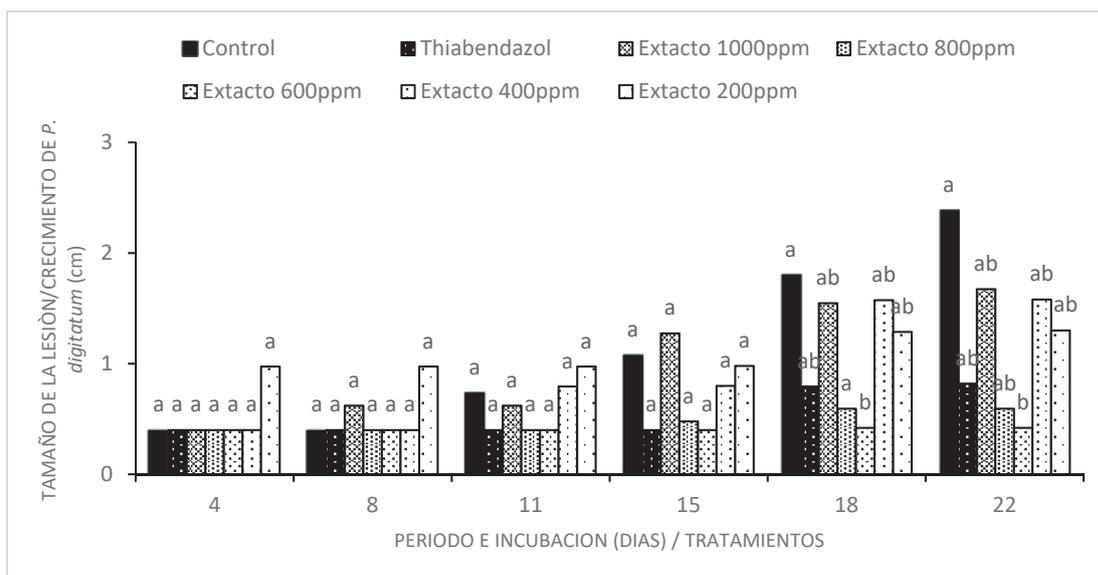


Figura 7. Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones y un fungicida comercial sobre la reducción del crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja desinfectada variedad Valencia durante 22 días. Las barras representan el promedio del tamaño de la lesión para cada tratamiento y letras diferentes indican diferencias significativas entre de acuerdo con un test de LSD de Fisher $p < 0.05$.

En la figura 7 se muestran las curvas de crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja previamente desinfectadas. Elshahawy y colaboradores (2015), señalan que la desinfección previa de las frutas tratadas con hipoclorito de sodio durante dos minutos y enjuagadas con agua, permite remover de la corteza de la fruta suciedad, restos de pesticidas y esporas fungicas que usualmente cubren la piel de los frutos frescos recién cosechados. En la figura 8 se puede apreciar, que el tratamiento con fungicida comercial (FH2) presentó reducción del crecimiento sobre hongo *P. digitatum* en comparación con el testigo (FH1). Los tratamientos FH3, FH4, FH5, FH6 y FH7 correspondientes a concentraciones de 1000, 800, 600, 400, 200 ppm del extracto de banano verde y presentaron un efecto de reducción del crecimiento sobre el hongo similar al del fungicida. Sin embargo, el efecto del aumento en la escala de concentración del extracto de banano no es directamente proporcional sobre la reducción del crecimiento secuencial del hongo *P. digitatum*. Estos resultados se atribuyen a que las dosis evaluadas no ejercen un control suficientemente

efectivo sobre *P. digitatum*. En efecto, Espinosa, R. y colaboradores (2012), demostraron que al disminuir la concentración del extracto de taninos, el efecto de inhibición se reduce, en este estudio se evalúa la actividad de una solución acuosa de taninos (1g/ml) sobre dos diferentes hongos (in vitro), en este ensayo la dilución del extracto al 25% no muestra un efecto de inhibición en ninguno de los dos hongos, mientras que diluciones más altas del mismo extracto (100%, 75% y 50%), presentan un alto efecto de inhibición.

Se presenta en la figura 8 el cálculo del área bajo la curva del progreso de la enfermedad en naranja sin lavar.

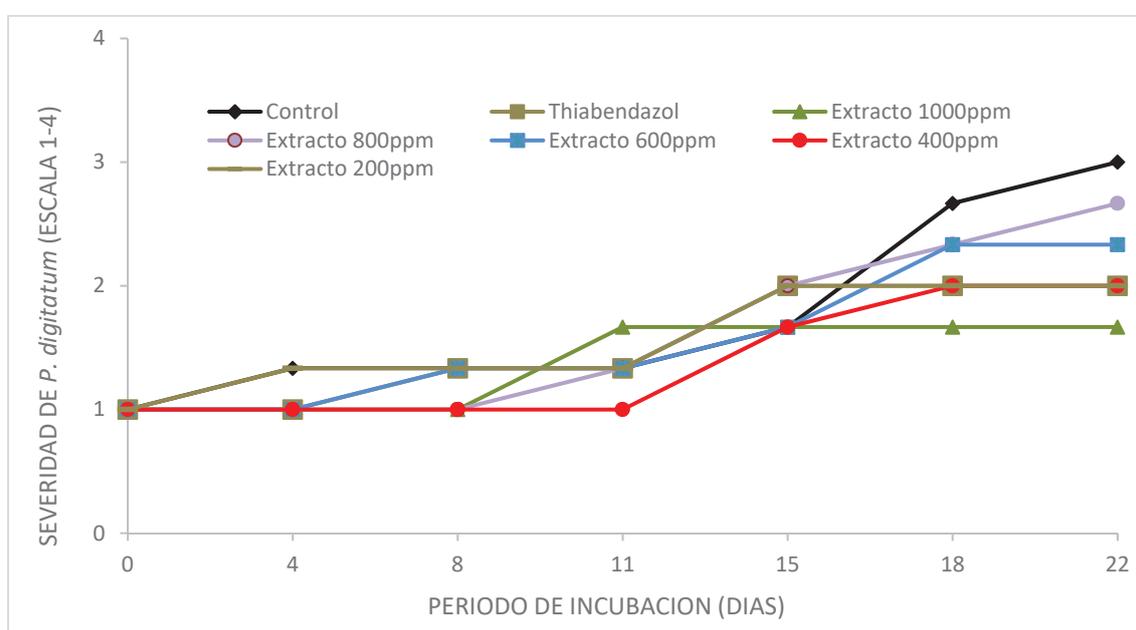


Figura 8. ABCPD de *Penicillium digitatum* en naranjas infectadas artificialmente y tratadas con un extracto de banano verde en diferentes concentraciones, un fungicida comercial y un control sin tratar. Las líneas representan los promedios de la severidad a lo largo del tiempo acorde la escala diseñada por Cocco y colaboradores (2008).

En la figura 8 se observa la severidad del crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja sin lavar. Se aprecia a partir de los 11 hasta los 21 días de incubación existe aumento progresivo de la severidad del tratamiento control (FH1). El cálculo de las ABCPE permitió constatar que los tratamientos disminuyeron la severidad de la enfermedad en el tiempo respecto al testigo. El

tratamiento FH2 (Thiabendazol), muestra una baja reducción en la severidad con un porcentaje de 11.89. Además, los tratamientos FH3, FH4, FH5, FH6 y FH7 correspondientes a el extracto de banano en concentraciones 1000, 800, 600, 400 y 200 ppm, presentan un porcentaje de reducción de la severidad de 19.8, 8.4, 10.1, 21.2 y 8.4, respectivamente comparados con el testigo sin tratar, con lo cual se corrobora que el extracto de banano en diferentes concentraciones tienen un efecto similar la del fungicida comercial, sin embargo presentan un bajo efecto de la reducción de severidad de la enfermedad. Visintin y colaboradores (2010), demostraron al calcular el ABCPE que antagonistas microbianos sobre la severidad de *P. digitatum* no presentan diferencias significativas en comparación con el control, obteniendo una reducción del 13.7 del area de la severidad de la enfermedad.

Se realizó el Test de Shapiro–Wilk (Anexo 4 y 6), en los ensayos de las frutas lavadas y sin lavar, en donde se plantea como hipótesis nula que los resultados del crecimiento de *Penicillium digitatum*, provienen de una distribución normal. Los resultados muestran que $p < 0.05$, por lo cual se rechaza la hipótesis nula, con lo cual se afirma que los datos no provienen de una distribución normal, por lo que los datos y resultados obtenidos no pueden inferirse a más poblaciones más extensas de ataque de *P. digitatum* sobre naranja en poscosecha, esto se debe a que existe una alta variabilidad del desarrollo e infección del hongo *in vivo*, lo cual plasma la necesidad de obtener más control sobre los frutos y control sobre los factores de cómo se realizó el ensayo. Guédez, Olivari y Maffei en el 2010, señalan que los frutos en donde no se ha realizado ningún tipo de tratamiento, muestran la presencia y crecimiento de 4 diferentes tipos de hongos, encontrando diferencias significativas de entre ellos.

Además, los resultados obtenidos podrían explicarse por el tiempo de contacto del extracto de banano sobre las frutas, un estudio realizado por Smilanick, Mansour, Mlikota-Gaver y Sorenson en el año 2008 demuestra que el tiempo en que las frutas permanecen en contacto con el fungicida es directamente proporcional el efecto de control del hongo.

5.4. Evaluación *in vivo* del efecto inhibitor del extracto de banana verde sobre el crecimiento de *Penicillium digitatum* en mandarina.

Los resultados obtenidos de la evaluación del efecto de control del crecimiento de *Penicillium digitatum* en las mandarinas sin lavar demostraron que las diferentes dosis controlaron el crecimiento de la infección causada por *P. digitatum* dentro de los primeros 8 días de incubación, posteriormente fueron ineficientes (excepto el tratamiento con Thiabendazol) en el control de la podredumbre causada por *P. digitatum* comparados con el control sin tratar (figura 9).

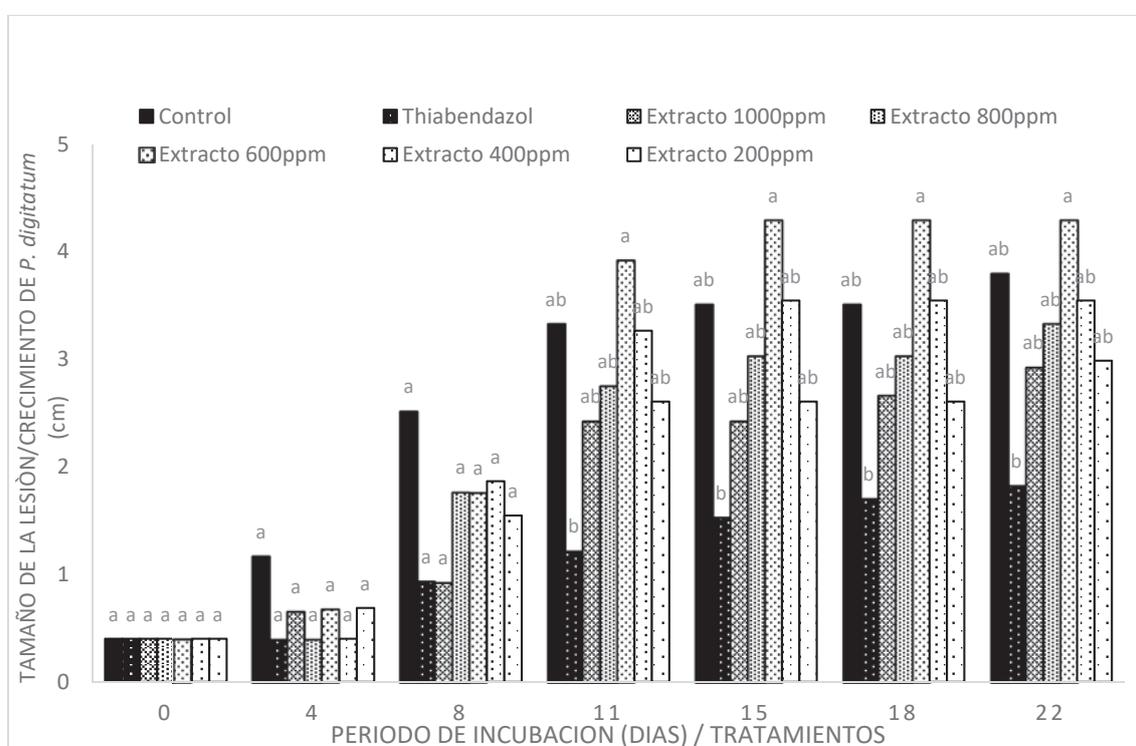


Figura 9. Comparación del efecto de un extracto de banana verde en diferentes concentraciones y un fungicida comercial sobre la reducción del crecimiento de *Penicillium digitatum* en mandarina variedad Blanco durante 22 días. Las barras representan el promedio del tamaño de la lesión para cada tratamiento y letras diferentes indican diferencias significativas entre de acuerdo con un test de Tukey $p < 0.05$

En la figura 9 se observa que el tratamiento aplicado con fungicida comercial (FH2), efectivamente presentó una incidencia directa en la reducción del crecimiento sobre *Penicillium digitatum*, con una reducción del 51.9% de la media de crecimiento radial del hongo con respecto al testigo. En este ensayo se observó que, la reducción del crecimiento del hongo patógeno fue menor en el caso del uso del extracto vegetal en diferentes dosis: FH3, FH4 y FH6 que corresponden al extracto de banano en concentraciones de 1000, 800 y 400 ppm respectivamente, estos extractos muestran una reducción entre 6,65 y 21.32 % de la media del crecimiento radial del hongo. El efecto biológico de reducción del crecimiento sobre *P. digitatum* presenta menor efecto de control del tratamiento con el fungicida comercial.

Los tratamientos FH5 y FH7 con una concentración de 600 y 200 ppm, presentaron un comportamiento inusual, sin lograr controlar el crecimiento del hongo. Estos resultados se atribuyen a que los frutos utilizados durante este ensayo, no fueron previamente desinfectados, por lo que en la corteza ya estaban presentes o pudo existir una concentración alta de inóculo del hongo patógeno. En efecto, sucede lo mismo en el caso de la naranja sin desinfectar, con lo cual se corrobora que los frutos cítricos ya se encontraban previamente infectados por *Penicillium digitatum*.

Los datos obtenidos, después de 22 días de evaluación fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANDEVA), utilizando un modelo general lineal con una significancia estadística del 95%, este análisis mostró una diferencia significativa en la reducción del crecimiento del hongo *Penicillium digitatum* a través del tiempo y con respecto a los tratamientos evaluados.

Tabla 4.

*ANOVA para análisis de varianza del crecimiento de *Penicillium digitatum* ante diferentes tratamientos y en diferentes tiempos en el ensayo de mandarinas sin lavar*

Fuente	Gl	SC Ajust.	CM. Ajust.	Valor-F	Valor- p
Tiempo	6	9,005	1,5009	4,25	0,000
Tratamientos	6	4,930	0,8217	2,33	0,031
Error	644	227,478	0,3532		
Falta de Ajuste	36	21,696	0,6027	1,78	0,004
Error Puro	608	205,782	0,3385		
Total	656	241,293			

En la tabla 4 se observan los resultados del análisis de varianza ANDEVA con un $p < 0.05$, en este modelo se analizan los factores: tratamientos (5 concentraciones del extracto, el fungicida y un testigo natural) y el tiempo (6 tiempos diferentes), este análisis permitió determinar que existe una diferencia significativa relacionada con el crecimiento de *Penicillium digitatum* en mandarina poscosecha a través del tiempo

Para determinar si existió una diferencia estadística significativa entre tratamientos, los datos obtenidos sobre el crecimiento del hongo en los días: 4, 8, 11, 15, 18 y 22, fueron analizados por un ANOVA de una vía y una prueba de separación de medias mediante por Tukey con una significancia del 95%. Los resultados comparativos entre; un testigo, un fungicida comercial y cinco concentraciones del extracto de banano, mostraron una diferencia estadística significativa con un $p < 0.05$, a los 11 días de la inoculación del hongo (Anexo 8). Los síntomas de infección del hongo en las mandarinas sin lavar se presentaron de forma rápida y progresiva. En este respecto Gonzales (2011), señalan que todos los frutos que presentaron infección del hongo *Penicillium digitatum*, fueron infectados completamente después de 8 días.

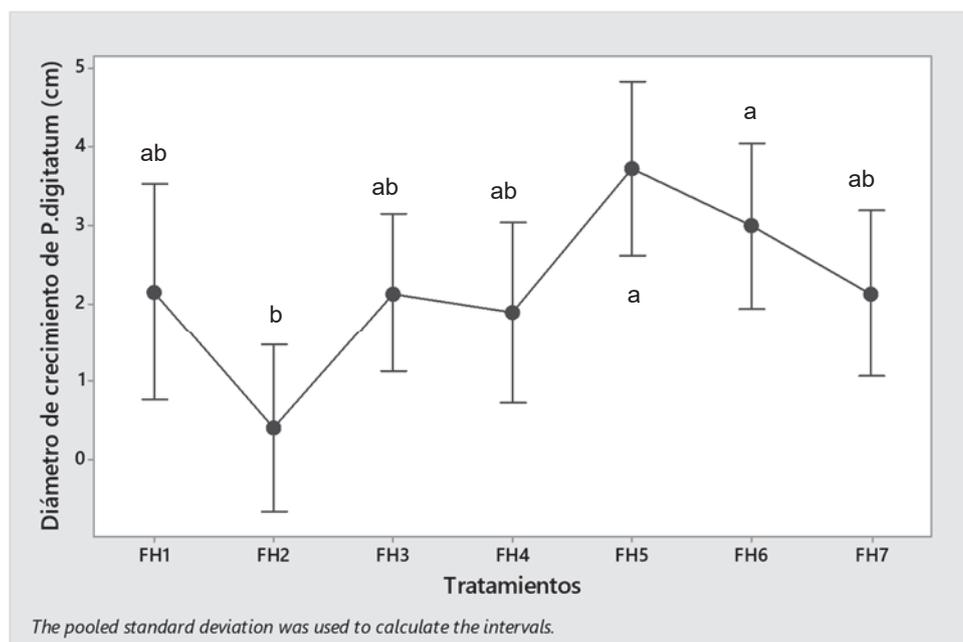


Figura 10. Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones, un fungicida comercial y un control sobre la reducción del crecimiento de *Penicillium digitatum* (datos ploteados de 3 repeticiones del ensayo) en mandarina sin lavar a los 11 días de inoculación. Las letras diferentes indican diferencia significativa entre los tratamientos de acuerdo con un test de Tukey con un $p < 0.05$.

Los resultados comparativos de este ensayo se observan en la figura 10. En este ensayo se mostró que el extracto FH2 correspondiente al fungicida comercial Thiabendazol, no presentó diferencia estadística significativa en la reducción del crecimiento sobre *Penicillium digitatum* a los 11 días después de la inoculación, en comparación con el testigo. Los tratamientos FH3, FH4, FH5, FH6 y FH7 (extracto de banano en concentraciones de 1000, 800, 600, 400 y 200 ppm) no muestran diferencia estadística significativa en la reducción del crecimiento sobre el hongo inoculado a los 11 días en comparación con el testigo (FH1) del ensayo en mandarina. Con lo cual no se puede asociar la actividad biológica de los taninos sobre *P. digitatum* en el ensayo de mandarina sin lavar, estos resultados se atribuyen a que las frutas se encontraban previamente infectadas, en concordancia con esto Veloz y colaboradores (2008), afirman que los extractos de taninos evaluados en tejidos, funcionan

bien como métodos preventivos, pues estos actúan sobre las enzimas poligalacturonasa y celulasa, que son utilizadas por algunos hongos para penetrar e infectar los tejidos, mas no cuando las frutas ya se encuentran previamente infectadas. Un estudio realizado por Zhang y Timmer (2007) demostró que la mayoría de los tratamientos fungicidas presentan un control efectivo sobre la infección del hongo causante de la pudrición verde, únicamente cuando son aplicados momentos antes de la cosecha de mandarina.

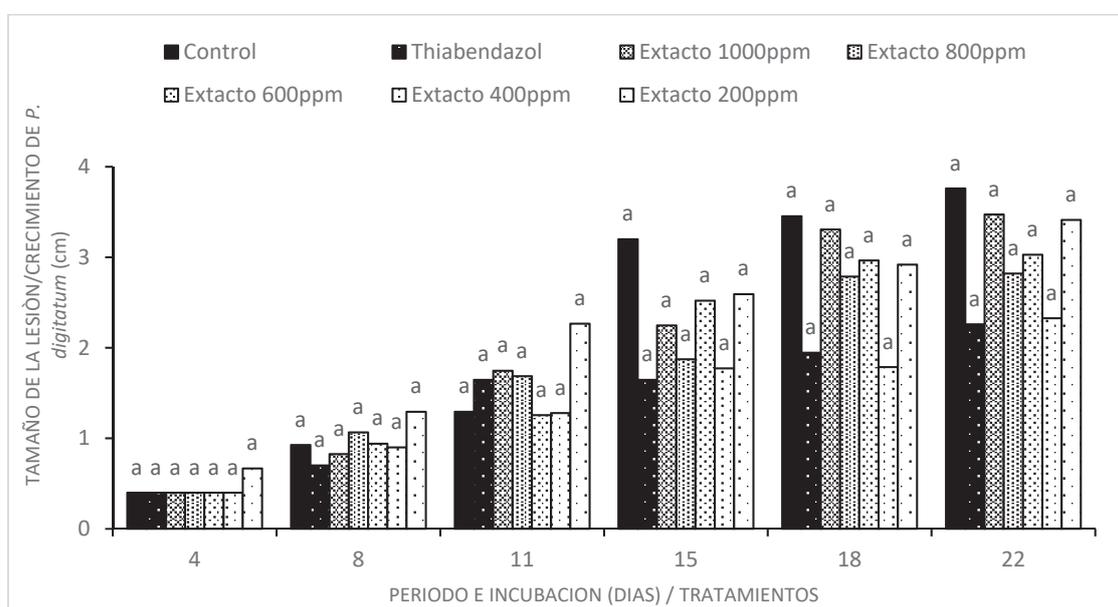


Figura 11. Comparación del efecto de un extracto de banano verde en diferentes concentraciones y un fungicida comercial sobre la reducción del crecimiento de *Penicillium digitatum* en mandarina desinfectada variedad Blanco durante 22 días. Las barras representan el promedio del tamaño de la lesión para cada tratamiento y letras diferentes indican diferencias significativas entre de acuerdo con un test de Tukey $p < 0.05$

En la figura 11 se observa las curvas de crecimiento de *Penicillium digitatum* en el ensayo de mandarinas desinfectadas. Estudios realizados por Lado y colaboradores (2011) y Elshahawy, y colaboradores (2015), señalan que el lavado previo de las frutas tratadas con hipoclorito de sodio durante dos

minutos y enjuagadas con agua, permite remover de la corteza de la fruta suciedad, restos de pesticidas y esporas fungicas que usualmente cubren la piel de los frutos frescos recién cosechados.

El presente ensayo muestra que el tratamiento con fungicida comercial (FH2) no presenta un efecto de reducción del crecimiento sobre el hongo *Penicillium digitatum* en comparación con el testigo (FH1), este resultado se atribuye a que el fungicida presenta un efecto de inhibición un tiempo específico de desarrollo del hongo en la fruta, de acuerdo con el estudio de Lado y colaboradores (2011), muestran que los resultados de la aplicación de un fungicida comercial en naranja y mandarina muestran bajos niveles de control sobre *P. digitatum*, este fungicida presenta alta efectividad cuando la aplicación del principio activo se lo realiza dentro de las 12 y 15 horas después de la inoculación del hongo patógeno.

Por otra parte, el aumento en la escala de concentración del extracto de banano no muestra un efecto directamente proporcional secuencial en la reducción del crecimiento sobre el hongo. Estos resultados se atribuyen a que las concentraciones del extracto de banano evaluadas son bajas y no ejercen un control suficientemente efectivo sobre *Pencillum digitatum*. En efecto, sucede lo mismo en el caso de la naranja. La reducción de la concentración del extracto de taninos reduce el efecto de inhibición y control sobre el hongo patógeno (Espinosa et al., 2012).

Existen varios estudios sobre la utilización de extractos de taninos sobre el control del crecimiento de hongos fitopatógenos. Veloz, R.; y colaboradores (2008), que demuestran que los extractos de taninos obtenidos de cascalote y quebracho, muestran una alta actividad inhibitoria del crecimiento micelial de 7 diferentes tipos de hongos, con una efectividad del 40% al 100%. Sin embargo, los extractos de taninos presentan alta efectividad únicamente como métodos de prevención en los tejidos vegetales (Veloz et al., 2008).

Se presenta en la figura 13 el calculo del area bajo la curva del progreso de la enfermedad en el ensayo de mandarina sin lavar.

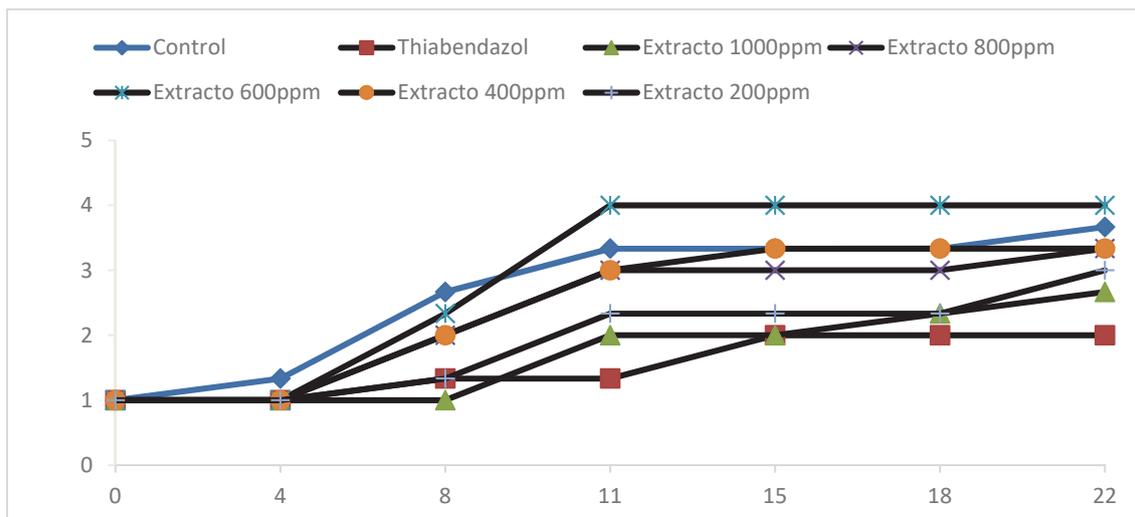


Figura 12. ABCPD de *Penicillium digitatum* en mandarinas infectadas artificialmente y tratadas con un extracto de banano verde en diferentes concentraciones, un fungicida comercial y un control sin tratar. Las líneas representan los promedios de la severidad a lo largo del tiempo acorde a la escala diseñada por Cocco y colaboradores (2008).

En la figura 12 se observa la severidad del crecimiento de *Penicillium digitatum* en mandarina sin lavar. Se aprecia a partir de los 8 hasta los 21 días de incubación existe aumento progresivo de la severidad del tratamiento control (FH1). El cálculo de las ABCPE permitió constatar que el tratamiento FH2 (Thiabendazol) disminuyó la severidad de la enfermedad en el tiempo respecto al testigo, con un 47.5 del área bajo la curva. El tratamiento FH3 (Extracto de banano en una concentración de 1000ppm) presenta un efecto similar al fungicida comercial con una reducción del de 37.3 en el ABCPE. Los tratamientos FH4, FH5, FH6 y FH7 correspondientes a el extracto de banano en concentraciones 800, 600, 400 y 200 ppm, presentan un porcentaje de reducción de la severidad que varía entre 9.3 y 30.2 del ABCPE, al igual que en el ensayo de naranja sin lavar presentan un bajo efecto de la reducción de severidad de la enfermedad. Un estudio realizado Visintin y colaboradores (2013), demostraron al calcular el ABCPE que antagonistas microbianos presentes en la microflora de la naranja adaptados al frío muestran una reducción de la severidad con un porcentaje del area 27,48. De la misma forma

que en el ensayo de naranja resulta necesario la evaluación del extracto de banano en concentraciones más altas o en combinación con otros tratamientos.

Se realizó el Test de Shapiro–Wilk (Anexo 3 y 5), en los ensayos de las frutas lavadas y sin lavar, en donde se plantea como hipótesis nula que los resultados del crecimiento de *Penicillium digitatum*, provienen de una distribución normal. Los resultados muestran que $p < 0.05$, por lo cual se rechaza la hipótesis nula, con lo cual se afirma que los datos no provienen de una distribución normal, por lo que los datos y resultados obtenidos no pueden inferirse a más poblaciones más extensas de ataque de *P. digitatum* sobre mandarina en poscosecha, este resultado es similar en el caso de la naranja, en efecto, se la alta variabilidad en los resultados del crecimiento e infección hongo *in vivo*, se atribuye a la falta de conocimiento de origen, como de los factores previos en los que se encontraba la fruta utilizada.

6. Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos de este trabajo se rechaza la hipótesis nula por lo que se puede concluir que existió una diferencia estadística significativa entre los tratamientos utilizados: un testigo absoluto (FH1), un fungicida comercial (FH2) y cinco concentraciones del extracto de banano en 1000, 800, 600, 400 y 200 ppm (FH3, FH4, FH5, FH6 y FH7). Esta diferencia entre tratamientos demostró que sí hubo un efecto de control biológico en la reducción del crecimiento sobre el hongo patógeno *Penicillium digitatum* en naranja y mandarina en poscosecha a través del tiempo.

En el ensayo de naranja, el tratamiento FH3 (extracto de banano en una concentración de 1000 ppm) mostró una reducción del 52.98% de la media de crecimiento radial del hongo *Penicillium digitatum* con respecto al testigo (FH1). Este tratamiento presentó una diferencia estadística significativa a los 18 días de inoculación del hongo y tuvo un efecto similar al del fungicida comercial Thiabendazol (FH2) sobre el crecimiento de *P. digitatum* en naranja sin desinfectar.

En el ensayo de la mandarina, el extracto de banano evaluado en diferentes concentraciones: 1000, 800, 600, 400 y 200 ppm correspondientes a los tratamientos FH3, FH4, FH5, FH6 y FH7 respectivamente, mostraron un bajo efecto de reducción de crecimiento sobre el hongo *P. digitatum*, en comparación con el testigo (FH1), con una reducción entre 6.65 y 21.32% de la media del crecimiento radial del hongo. Sin embargo, ninguno de estos tratamientos presenta diferencia estadística significativa sobre el control de inhibición del hongo en comparación con el testigo.

Aunque los resultados no fueron los esperados es posible relacionar el efecto biológico de los taninos presentes en el extracto de banano debido al efecto de disminución de la severidad sobre *P. digitatum* en naranja y en mandarina en poscosecha. Es importante tomar en cuenta que el extracto evaluado es obtenido a partir del banano de rechazo, un producto considerado como un desperdicio para la industria, con lo cual el costo de su producción podría ser bajo en comparación con los fungicidas de origen químico.

7. Recomendaciones

Es importante que se continúe el estudio de la utilización de concentraciones más elevadas de taninos para el control de *Penicillium digitatum* en frutos cítricos, basándose por ejemplo en el estudio realizado por Elshahawy, Lasin, Saied y Abd-El-Kareem en el año 2015, en donde se analiza si el aumento de la concentración del extracto de banano, podría aumentar la eficacia de control sobre el hongo *P. digitatum*, el costo de obtención del extracto de banano es muy bajo por lo que resulta factible su futuro estudio y utilización a nivel industrial.

Es importante analizar el método de extracción de taninos a partir de la cáscara de banano verde, en futuras investigaciones se podría optimizar o mejorar el proceso de tal manera que se puede concentrar en mayor cantidad los taninos.

En un futuro sería importante analizar si el aumento del tiempo de contacto del extracto de banano o la aplicación por inmersión del extracto sobre los frutos cítricos es directamente proporcional a su efecto de inhibición sobre *Penicillium*

digitatum, un estudio realizado por Smilanick, Mansour, Mlikota-Gaver y Sorenson en el año 2008, señala que el tiempo de contacto de la solución con el fruto, resulta determinante en un mayor control sobre el hongo fitopatógeno.

En la mayoría de trabajos de investigación para el control de *Penicillium digitatum* en frutos cítricos en poscosecha, se conoce el origen y el manejo que tienen los frutos antes de ser utilizados por lo que es importante para futuros ensayos, conocer el origen de los frutos utilizados, esto podría permitir obtener menos variabilidad en los resultados durante la experimentación.

Al realizar la evaporación del extracto en el deshidratador es necesario que la temperatura se encuentre bajo 70°C, pues los taninos son estables hasta esa temperatura.

REFERENCIAS

- Agrios, G. (2005). *Fitopatología*. México: Limusa.
- Anderson, C. (2012). *Manual para Productores de Naranja y Mandarina*. Concordia: INTA.
- Barnett HL, Hunter BB. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 4th edition. St.Paul: Prentice-Hall, Inc, St. Paul
- Carvalho, C., Nunes, C., y Palou, L. (2012). Control de enfermedades de postcosecha. 285-305.
- Castro, A. (2017). *Composición química del aceite esencial de las hojas de Erythroxylum novogranatense (Morri) "coca" actividad antioxidante y determinación actibacteriana frente a Streptococcus mutans*. Recuperado el 17 de agosto del 2017 de <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/789>
- Cerutti, M., y Neumayer, F. (2004). Introducción a la obtención del aceite esencial de limón. *Invenio*, 7(12), 149-155. Recuperado el 2 de Noviembre del 2017 de <http://www.redalyc.org/pdf/877/87701214.pdf>
- Cocco, M., Vázquez, D., Albors, A. C., Meier, G., y Bello, F. (2008). COMBINACIÓN DE TRATAMIENTOS TÉRMICOS Y BICARBONATO DE SODIO PARA EL CONTROL DE *Penicillium digitatum* EN FRUTOS CÍTRICOS. *Revista Iberoamericana de Tecnología Poscosecha*, 9(1), 55- 62. Recuperado el 29 de Noviembre del 2017 de <http://docplayer.es/46978816-Revista-iberoamericana-de-tecnologia-postcosecha-issn-asociacion-iberoamericana-de-tecnologia-postcosecha-s-c.html>
- Contreras, M., Hernández, F., y Sánchez, A. (2011). Actividad Fungicida de Extractos de *Cowania plicata* D. Don. contra *Fusarium oxysporum* Schlechtend. Fr. y de *Pistacia lentiscus*L. contra *Colletotrichum*

coccodes Wallr. Hunghes. *Revista Agraria*, 8(1), 6-13. Recuperado el 10 de diciembre del 2018 de [http://www.uaaan.mx/agraria/attachments/article/48/Agraria_2011\(8\)-1-1.pdf](http://www.uaaan.mx/agraria/attachments/article/48/Agraria_2011(8)-1-1.pdf)

Corporaciòn Universitaria Lasallista. (2012). *Cítricos: cultivo, poscosecha e industrialización*. Itaguì: Artes y Letras S.A.S.

Da Silva, J., Silva, J., B., S., Da Luz, S., 1, M. E., Alves, C., . . . Maia, G. (2014). Antifungal Activity and Computational Study of Constituents from Piper divaricatum Essential Oil against Fusarium Infection in Black Pepper. *MOLECULES*, 17926-17942.

Del Castillo, S. (2016). *Panorama Mundial de los Cítricos, Los Mercados Emergentes y Perspectivas de la Citrucultura Peruana*. Recuperado el 4 junio del 2017 de ProCitrus: <file:///C:/Users/pc/Documents/Noveno%20Semestre/MET/Tesis/SERGIO-DEL-CASTILLO-PANORAMA-MUNDIAL%20de%20citricos.pdf>

Elshahawy, I., Lasin, S., Saied, N., y Abd-El-Kareem, F. (2015). Postharvest Biology and Technology Postharvest Biology and Technology. *Postharvest Biology and Technology*, 8(9), 237-244.

Espinosa, A. (2013). *Comparaciòn de los contenidos de compuestos fenólicos totales y taninos en la corteza de tres variedades de plátano (Musa Cavendish, Musa acuminata y Musa cavandanaish)*. Quito: USFQ.

Espinosa, R., Herrera, L., Bravo, L., Hernandez, M., Torres, S., Ramos, Y., y Espinosa, M. (2012). EFECTO SINÉRGICO DE TANINOS Y FLAVONOIDES PRESENTES EN TERMINALIA CATAPPA L. SOBRE EL CRECIMIENTO MICELIAL DE RHIZOCTONIA SOLANI KÜHN Y SCLEROTIUM ROLFSII SACC. *Fitosanidad*, 16(1).

Garcés, A. (2004). Detoxificación de banano verde. *Lasallista de Investigación*. 1(1), 48-55. Recuperado el 2 de junio del 2017 de <http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/177/1/048-55%20Detoxicaci%C3%B3n%20de%20banano%20verde.pdf>

- Gomez, G. (2011). *El cultivo de la mandarina (Citrus reticulata) en el Municipio Martínez de la Torre Veracruz*. Veracruz: Universidad Veracruzana.
- Gonzales, P. (2011). *Control Poscosecha de Penicillium digitatum en frutos de naranja*. México.
- Greene, G., y Morales, C. (1968). *Determinación de la presencia de sustancias fungitóxicas en leche y cáscara de banano*. Caracas: UNELLEZ.
- Guédez, C., Olivar, R., y Maffei, M. (2010). Alternativas para el control de hongos postcosecha en naranjas valencia (Citrus sinensis). *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 30(1), 43 - 47. Recuperado el 6 de Enero del 2017 de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562010000100009
- Hernández, J. (2014). *Crecimiento y producción de naranja cv. Valencia Citrus sinensis (L.) Osbeck, como respuesta a la aplicación de correctivos y fertilizante*. Medellín: Universidad Nacional de Colombia.
- INEC. (2014). *Instituto Nacional de Estadística y Sensos*. Recuperado el 18 de septiembre del 2017 de file:///C:/Users/pc/Documents/Noveno%20Semestre/MET/Tesis/COMPENDIO_ESTADISTICO_2014%20naranja%20produccion%202014.pdf
- INEC. (2015). *ENCUESTA DE SUPERFICIE Y PRODUCCIÓN AGROPECUARIA CONTINUA*. Recuperado el 7 de marzo del 2017 de file:///C:/Users/pc/Documents/Noveno%20Semestre/MET/Tesis/Presentacion%20de%20resultados%20ESPAC_2015%20naranja%20en%20bolivar.pdf
- Kouassi, H., Bajji, M., Brostaux, Y., Zhiri, A., Samb, A., Lepoivre, P., y Haissam, M. (2012). Development and applications of a microplate method to evaluate the efficacy of essential oils against *Penicillium italicum* Wehmer, *Penicillium digitatum* Sacc and *Colletotrichum musea* (Berk.

y M.A. Curtis) Arx, three postharvest fungal pathogens of fruits .
Biotechnol. Agron. Soc. Environ , 325-336.

Ladanyia, M., y Ladaniya, M. (2010). *Citrus Fruit : Biology, Technology and Evaluation*. Burlington: Academic Press.

Lado, J., Luque, E., Blanco, O., y Pérez, E. (2011). Evaluación de alternativas para el control poscosecha de aislamientos de *Penicillium digitatum* resistentes a imazalil. *Agrociencia Uruguay*, 15(1), 55-63. Recuperado en 08 de marzo de 2017, de http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482011000100007&lng=es&tlng=es.

León, J. (29 de Abril de 2016). *Comercio mundial de cítricos aumentó 6% en los últimos cinco años*. Obtenido de <http://www.agronetworks.com.pe/produccion/item/146-comercio-mundial-de-citricos-aumento-6-en-los-ultimos-cinco-anos>

Macarsin, D., Cohen, L., Eick, A., Rafael, A., Belausov, E., Wisniewski, A., y Droby, S. (2007). *Penicillium digitatum* Suppresses Production of Hydrogen Peroxide in Host Tissue During Infection of Citrus Fruit. *Phytopathology*, 97, 1491-1500. DOI: 10.1094/PHYTO-97-11-1491

McGrath, M. (2004). ¿Qué son los fungicidas? *The American Phytopathological Society*.

Mekbib, S., Regnier, T., y Korsten, L. (2007). Control of *Penicillium digitatum* on Citrus Fruit Using Two Plant Extracts and Study of Their Mode of Action. *PHYTOPATHOLOGY*, 264-276. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02981160>.

Melgarejo, J. (2011). Mecanismo de Acción de los Fungicidas. *Revista Ventana al Campo*, 103-120.

Mendoza, F. (2013). *La revolucion urbana*. Obtenido de <https://unahistoriacuriosa.wordpress.com/tag/uruk/>

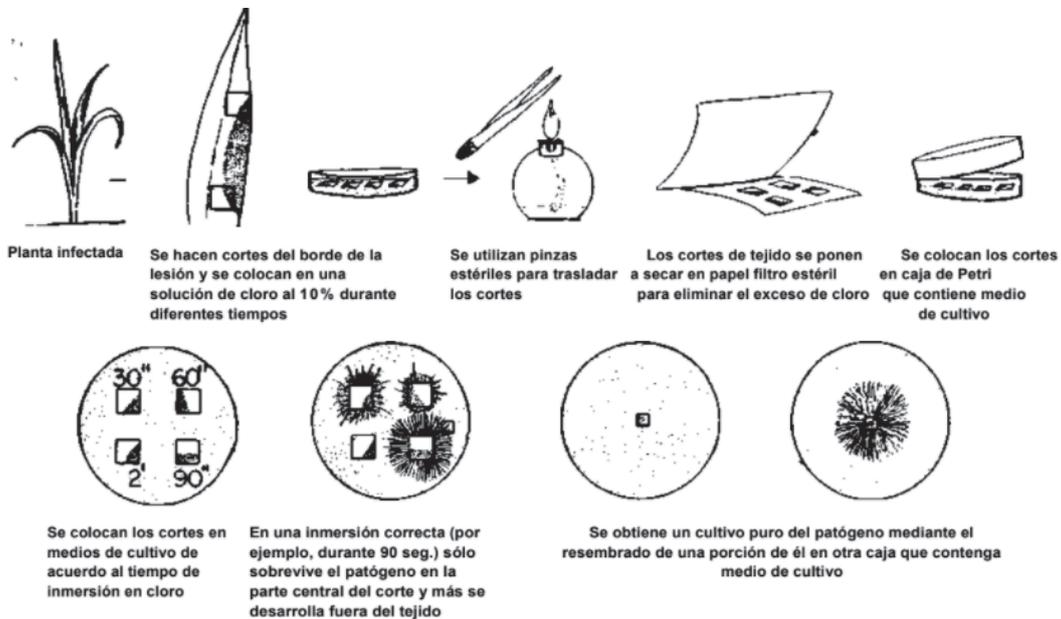
- Morkbel, M., y Hashinaga, F. (2005). Antibacterial and antioxidant activities of banana (Musa, AAA cv Cavendish) fruits peel. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 125-131. DOI: 10.3844/ajbbsp.2005.125.131
- Niño, P., Quijano, M. E., y Carvalho, C. P. (2012). Situación actual de la cadena de cítricos en Colombia: limitantes y perspectivas. *Corporación Nacional la Sallista*, 7-47. DOI: 10.1186/s40064-015-0987-6
- Ordúz, J., y Mateus, D. (2012). *Generalidades de los cítricos y recomendaciones agronómicas para su cultivo en Colombia*. Bogotá: Corporación Universitaria Lasallista.
- Ramírez, S., López, O., Guzmán, T., Munguía, S., y Espinosa, S. (2011). Actividad antifúngica in vitro de extractos de *Origanum vulgare* L., *Tradescantia spathacea* Swartz y *Zingiber officinale* Roscoe sobre *Moniliophthora roreri* (Cif y Par) Evans et ál. *Tecnología en Marcha*, 3-17. Recuperado el 17 de febrero del 2017 de file:///C:/Users/pc/Downloads/Dialnet-ActividadAntifungicalInVitroDeExtractosDeOriganumVu-4835560.pdf
- Rivera, V. (2016). *Evaluación del efecto biológico del extracto de la cáscara de Musa paradisiaca sobre agentes casuales de la pudrición de corona y otros hongos poscosecha en la provincia del Guayas Ecuador*. Quito.
- Rupert, J. (2016). *Creación de las ciudades*. Recuperado el 9 de julio del 2017 de <http://legadomesopotamico.blogspot.com/2013/06/uruk-la-primera-ciudad.html>
- Smilanick, J., Mansour, M., Mlikota-Gaver, F., y Sorenson, D. (2008). Control of citrus postharvest green mold and sour rot by potassium sorbate combined with heat and fungicides. *Postharvest Biology and Technology*, 47(2), 226-238. Recuperado el 20 de marzo del 2017 de http://www.academia.edu/23288172/Control_of_citrus_postharvest_green_mold_and_sour_rot_by_potassium_sorbate_combined_with_heat_and_fungicides

- Velázquez, C. A., y Hevia, J. T. (2007). MANUAL DE MANEJO POSTCOSECHA DE FRUTAS TROPICALES. FAO.
- Veloz, R., Martínez, R., López, M., Veloz-Rodriguez, R., Guevara, L., Muñoz, C., . . . Guevara, R. (2008). *Evaluación del efecto de concentrados de taninos sobre el crecimiento micelial de hongo fitopatógenos*. Celaya: Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias .
- Vilanova, L., Viñas, I., Torres, R., U. J., y Teixidó, N. (2014). LACICATRIZACIÓN DE HERIDAS EN NARANJAS: ¿ES UN PROCESO EFECTIVO PARA EVITAR LA PODREDUMBRE DE POSCOSECHA DE *Penicillium digitatum*? *REVISTA INTERNACIONAL DE CITRICOS*, 213-217. Recuperado el 11 de abril del 2017 de <https://repositori.udl.cat/bitstream/handle/10459.1/48607/022622.pdf?sequence=1>
- Visintin, G., Garcia, B., Cáceres, C., Ludi, L., y Befani, R. (2010). Microflora de naranja adaptada al frío y su actividad antagónica frente a *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc. *CIENCIA, DOCENCIA Y TECNOLOGÍA*, 11(40), 187-214. Recuperado en 8 de marzo de 2017, de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-17162013000200011&lng=es&tlng=es.
- Visintin, G., Garcia, B., Cáceres, C., Ludi, L., y Befani, R. (2013). Manejo de mohos poscosecha de cítricos mediante antagonistas microbianos. *CIENCIA, DOCENCIA Y TECNOLOGÍA*, 24(47), 249-263. Recuperado el 11 de agosto del 2017 de <http://www.redalyc.org/html/145/14529884011/>
- Zhang, J., y Timmer, L. (2007). Preharvest application of fungicides for postharvest disease control on early season tangerine hybrids in

Florida. *Crop Protection*, 26(7), 886-893. DOI:
10.1016/j.cropro.2006.08.007

ANEXOS

ANEXO 1. Aislamiento y purificación in vitro de hongos fitopatógenos a partir de material vegetal enfermo en agar papa dextrosa (PDA), descrita por Agrios



ANEXO 2. Hipótesis planteadas para la evaluación in vivo del efecto inhibitor del extracto de banano verde sobre crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja en poscosecha.

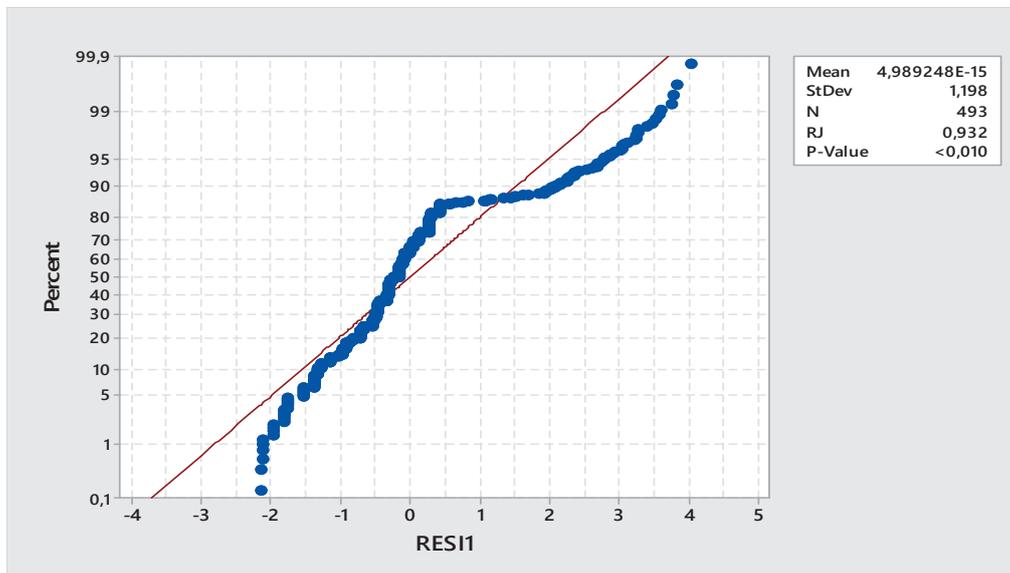
Hipótesis Nula

Las diferentes dosis del extracto de banano en madurez fisiológica no generan una diferencia significativa sobre el efecto inhibitor del crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja y mandarina en poscosecha.

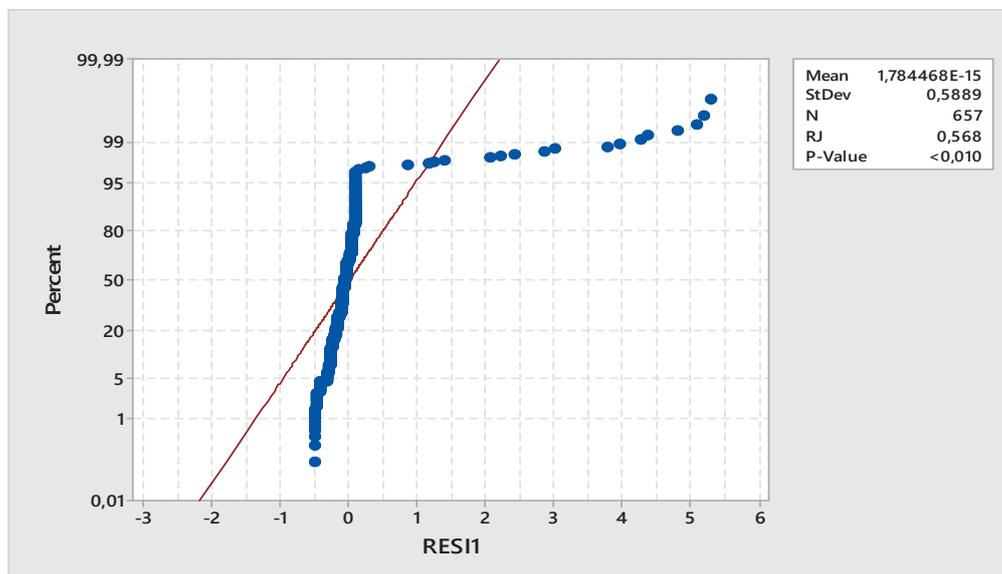
Hipótesis Alternativa

Las diferentes dosis del extracto de banano en madurez fisiológica generan una diferencia significativa sobre el efecto inhibitor del crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja y mandarina en poscosecha.

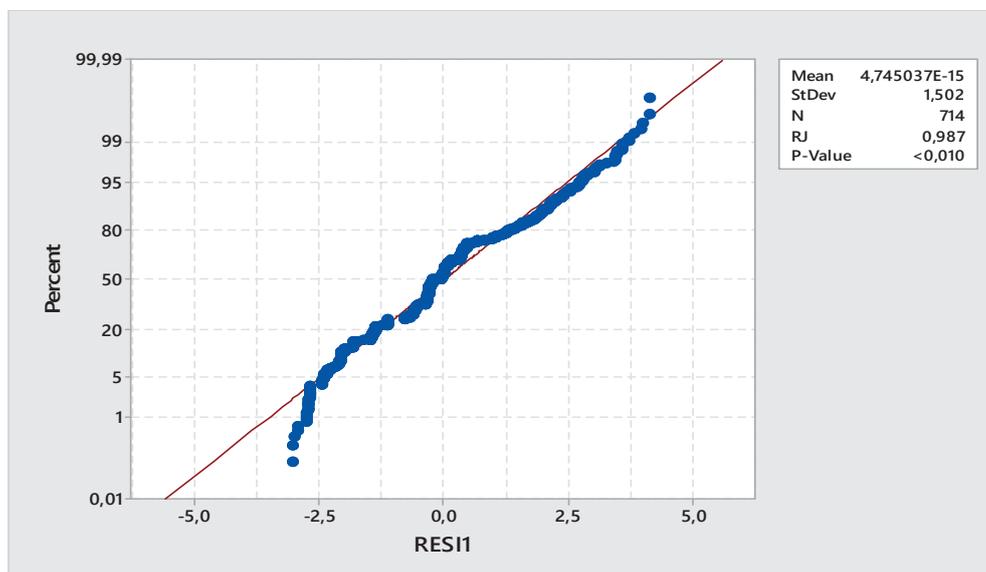
ANEXO 3. Prueba de hipótesis (Test de Shapiro-Wilk) del ensayo de mandarina sin lavar.



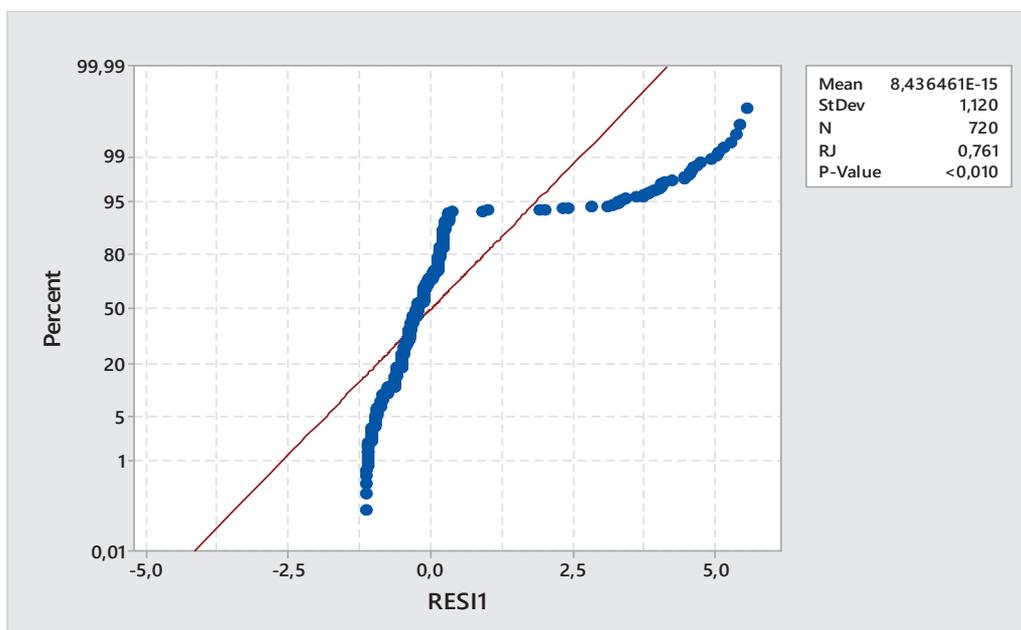
ANEXO 4. Prueba de hipótesis (Test de Shapiro-Wilk) del ensayo de naranja sin lavar.



ANEXO 5. Prueba de hipótesis (Test de Shapiro-Wilk) del ensayo de mandarina lavadas.



ANEXO 6. Prueba de hipótesis (Test de Shapiro-Wilk) del ensayo de naranjas lavadas.



ANEXO 7. ANDEVA de una vía del crecimiento de *Penicillium digitatum* ante diferentes tratamientos a los 18 días de inoculación en naranja sin lavar.

Fuente	Gl	SC Ajust.	CM. Ajust.	Valor-F	Valor- p
Tratamientos	6	19,85	3,308	2,19	0,049
Error	79	119,54	1,513		
Total	85	139,39			

ANEXO 8. ANDEVA de una vía del crecimiento de *Penicillium digitatum* ante diferentes tratamientos a los 11 días de inoculación en mandarina sin lavar

Fuente	Gl	SC Ajust.	CM. Ajust.	Valor-F	Valor- p
Tratamientos	6	72,47	12,079	3,58	0,004
Error	70	236,42	3,377		
Total	76	308,89			

ANEXO 9. Tabla de severidad para la transformación de datos del diámetro del crecimiento de *Penicillium digitatum* en naranja sin lavar.

Ponderación	Diámetro Mínimo (cm)	Diámetro Máximo (cm)
1	0,4	1,26
2	1,26	2,12
3	2,12	2,98
4	2,98	3,84

ANEXO 10. Tabla de severidad para la transformación de datos del diámetro del crecimiento de *Penicillium digitatum* en mandarina sin lavar.

Ponderación	Diámetro Mínimo (cm)	Diámetro Máximo (cm)
1	0,4	1,495
2	1,495	2,59
3	2,59	3,685
4	3,685	4,78

