

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y DE RECURSOS  
NATURALES**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL Y DE  
RECURSOS NATURALES**



**INHIBICIÓN DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS (*Erwinia carotovora subsp carotovora* y  
*Pseudomonas cichorii*) A PARTIR DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CÁSCARAS DE  
CAMU CAMU Y CARAMBOLA PARA LA AGRICULTURA ORGÁNICA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AMBIENTAL Y DE  
RECURSOS NATURALES**

**Bach. FLORES FABIAN MICHAEL LUIS**

**Bach. NAUPARI SALINAS NOACIR WALTER**

**ASESORA: MsC. Maria Teresa Valderrama Rojas**

**CALLAO, JUNIO, 2017**

**PERÚ**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO**  
**FACULTAD DE INGENIERIA AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES**

**COMISION DE GRADOS Y TITULOS**

**ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS PARA OPTAR EL TITULO DE  
INGENIERO AMBIENTAL Y DE RECURSOS NATURALES  
N° 002-2017-JEDT-FIARN**

Siendo las 9:50 horas del día martes 27 de junio de 2017, en el Auditorio de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de Recursos Naturales ubicado en la Av. Juan Pablo II 306-Bellavista-Callao; se dio inicio a la Sustentación de la Tesis titulada : "INHIBICIÓN DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS (*Erwinia carotovora* subsp *carotovora* y *Pseudomona cichorii*) A PARTIR DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CÁSCARAS DE CAMU CAMU Y CARAMBOLA PARA LA AGRICULTURA ORGÁNICA" presentada, para optar el título profesional de Ingeniero Ambiental y de Recursos Naturales de los Bachilleres Noacir Walter Naupari Salinas y Michael Luis Flores Fabian.

Contando con la asistencia del Jurado Evaluador y Asesor a fin de dar cumplimiento a la Resolución N° 036-2017-D-FIARN de fecha 13 de junio de 2017, los mismos que están integrados por los siguientes docentes:

Blgo. Carlos Odorico Tome Ramos	Presidente
Blgo. Abelardo Virgilio Martín Isla Medina	Secretario
Mg. Elva Esperanza Torres Tirado	Vocal
MsC. María Teresa Valderrama Rojas	Asesora

Terminada la exposición y la absolución de las preguntas del Jurado Evaluador, se invita a los Bachilleres y al público en general se retiren del Auditorio para las deliberaciones del caso.

Luego de las deliberaciones el Jurado Evaluador acuerda **APROBAR POR UNANIMIDAD**, no habiendo observación alguna con el Calificativo de **MUY BUENO** da por terminado el acto de exposición.

En señal de conformidad firman el Jurado Evaluador y Asesor, siendo las 11:20 horas del día 27 de junio de 2017.

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO  
OFICINA DE SECRETARIA GENERAL

Blgo. Carlos Odorico Tome Ramos *[Firma]* Presidente      Blgo. Abelardo Virgilio M. Isla Medina *[Firma]* Secretario

EL SECRETARIO GENERAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO que suscribe, CERTIFICA: Que la presente es copia fiel del original. Se expide la presente certificación a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que juzgue conveniente.

Mg. Elva Esperanza Torres Tirado *[Firma]* Vocal      MsC. María Teresa Valderrama Rojas *[Firma]* Asesora



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO  
Oficina de Secretaría General

*[Firma]*  
Lic. César Guillermo Jauregui Villafuerte  
Secretario General

Oficio S/N 2017-JEDT-FIARN

Señora:

Ms.C. María Teresa Valderrama Rojas

Decana FIARN/UNAC

Presente.-

Asunto: Informe de sustentación de tesis según resolución N° 036-2017-D-FIARN.

De mi consideración:

Por medio del presente aprovecho la oportunidad para saludarla cordialmente y a la vez hacerle llegar el informe sobre la sustentación de la tesis "INHIBICIÓN DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS (*Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*) A PARTIR DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CÁSCARAS DE CAMU CAMU Y CARAMBOLA PARA LA AGRICULTURA ORGÁNICA por los bachilleres Noacir Walter Naupari Salinas y Michael Luis Flores Fabian (según resolución N° 036-2017-D-FIARN):

- 1) Que según la resolución N° 036-2017-D-FIARN resuelve aprobar expedito la sustentación de la tesis titulado: INHIBICIÓN DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS (*Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*) A PARTIR DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CÁSCARAS DE CAMU CAMU Y CARAMBOLA PARA LA AGRICULTURA ORGÁNICA, presentado por los bachilleres Noacir Walter Naupari Salinas y Michael Luis Flores Fabian.
- 2) Que de acuerdo al artículo N° 110 del Reglamento de Grados y Títulos de Pregrado Aprobado por la Resolución N° 082-291-CU, se procedió al acto público de la sustentación de la tesis.
- 3) Que el jurado revisor, después de la exposición y deliberación acuerdan APROBAR POR UNANIMIDAD con el calificativo de MUY BUENO.
- 4) Que durante el acto de sustentación, se realizaron observaciones en la redacción del informe final los cuales son:
  - a) Reconsiderar el término resistencia microbiana respecto a los polifenoles
  - b) Mejorar el trabajo respecto a la agricultura orgánica, es decir, en la conclusión debe considerar sobre la sustentabilidad de la agricultura orgánica de utilizar estos extractos estudiados.
  - c) Revisar el escrito, pues hay errores de forma.
- 5) Que, no habiendo más observaciones, se procedió a la juramentación pública de los señores bachilleres: Noacir Walter Naupari Salinas y Michael Luis Flores Fabian.
- 6) Que, como evidencia del acto de sustentación de la tesis INHIBICIÓN DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS (*Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*) A PARTIR DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CÁSCARAS DE CAMU CAMU Y CARAMBOLA PARA LA AGRICULTURA ORGÁNICA, se adjunta dos ejemplares del Acta de Instalación del jurado evaluador de tesis N° 002-2017-JEDT-FIARN y 4 ejemplares del Acta de Sustentación de Tesis para Optar el Título de Ingeniero Ambiental de Recursos Naturales N° 002-2017-JEDT-FIARN.
- 7) Que, los señores bachilleres Noacir Walter Naupari Salinas y Michael Luis Flores Fabian, absolvieron las observaciones planteadas en el punto cuatro al día siguiente de la sustentación, por lo que se adjunta el informe final corregido y aprobado por el jurado revisor.

Por lo expuesto, Señora Decana, informamos sobre la sustentación de la tesis INHIBICIÓN DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS (*Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*) A PARTIR DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CÁSCARAS DE CAMU CAMU Y CARAMBOLA PARA LA AGRICULTURA ORGÁNICA presentada por los bachilleres Noacir Walter Naupari Salinas y Michael Luis Flores Fabian para los fines pertinentes. Sin otro en particular se despide;

Atentamente

Blgo. Carlos Tome Ramos  
Presidente del Jurado Evaluador

OFICINA DE SECRETARÍA GENERAL  
EL SECRETARIO GENERAL DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO que suscribe, CERTIFICA: Que la presente es copia fiel del original. Se expide la presente certificación a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que juzgue conveniente

Callao, 13 JUL 2017 del 20 .....



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO  
Oficina de Secretaría General

Lic. César Guillermo Jáuregui Villafuerte  
Secretario General

## **DEDICATORIA**

A Dios que me dio el don de la sabiduría, el entendimiento para culminar los estudios y la fortaleza para enfrentar los obstaculos cada día.

A mis padres por su respaldo, dedicación y comprensión, en especial a mi madre por su lucha y entrega. A mis hermanos por todo su apoyo, esfuerzo y confianza.

A mis amigos que siempre estuvieron a mi lado para compartir mis sueños y hacerlos realidad.

## **AGRADECIMIENTO**

Primeramente agradezco a la Universidad Nacional del Callao por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar mi carrera, así como también a los diferentes docentes que brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día.

Agradezco a mi Asesora de tesis MsC. Maria Teresa Valderrama Rojas por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

Mi agradecimiento también va dirigido al Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) por haberme facilitado las cepas bacterianas necesarias para culminar el informe

Y para finalizar también agradezco a todos los que fueron mis compañeros de clase durante todos los ciclos de universidad ya que gracias al compañerismo, amistad y apoyo moral han aportado en un alto porcentaje a mis ganas de seguir adelante en mi carrera profesional

## ÍNDICE

TABLAS DE CONTENIDO.....	4
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	7
ÍNDICE DE FIGURAS.....	8
RESUMEN.....	10
INTRODUCCIÓN.....	12
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
1.1 Identificación del problema.....	14
1.2 Formulación del problema.....	15
1.3 Objetivos de la investigación.....	16
1.4 Justificación.....	16
1.4.1 Justificación Teórica.....	16
II. MARCO TEÓRICO.....	18
2.1. Antecedentes del estudio.....	18
2.2. Marco teórico.....	19
2.2.1. Producción Nacional de las Especies Vegetales.....	19
2.2.2. Uso de las especies vegetales.....	20
2.2.3. Características Generales de las especies vegetales.....	22
2.2.4. Agricultura y el control de plagas y enfermedades.....	29
2.2.5. Extractos vegetales y su uso.....	34
2.2.6. Descripción de las Bacterias.....	35
2.2.7. Fitopatología por acción bacteriana.....	40
2.3. Definiciones de términos básicos.....	40
III. VARIABLES E HIPÓTESIS.....	44
3.1. Variables de la investigación.....	44
3.2. Operacionalización de variables.....	44
3.3. Hipótesis general.....	45

IV. METODOLOGÍA.....	46
4.1. Tipo de investigación.....	46
4.2. Diseño de la investigación.....	46
4.3. Población y muestra.....	46
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	47
4.5. Plan de análisis estadísticos de datos.....	48
4.6 Procedimientos de recolección de datos.....	49
4.6.1. Pruebas Fitoquímicas.....	49
4.6.1.a. Recolección de las muestras vegetales.....	49
4.6.1.b. Preparación del pulverizado vegetal.....	51
4.6.1.c. Preparación de los extractos polifenólicos.....	53
4.6.1.d. Preparación de las Concentraciones.....	56
4.6.2. Pruebas Microbiológicas.....	56
4.6.2.a. Preparación de los discos de sensibilidad.....	56
4.6.2.b. Conservación de las cepas.....	57
4.6.2.c Preparación de las placas.....	57
4.6.2.d. Estandarización del inóculo bacteriano.....	58
4.6.2.e. Evaluación de la actividad antibactericida.....	59
4.6.2.e.1. Técnica de Difusión en agar con discos.....	60
4.7 Procedimiento estadístico y análisis de datos.....	62
V. RESULTADOS.....	64
5.1. Evaluación de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" sobre la inhibición del crecimiento de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	64
5.1.1. Análisis Estadístico de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" sobre la inhibición del crecimiento de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	67
5.2. Evaluación de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" sobre la inhibición del crecimiento de <i>Pseudomonas cichorii</i> .....	72

5.2.1. Análisis Estadístico de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" sobre la inhibición del crecimiento de <i>Pseudomona cichorii</i> .....	76
5.3 Evaluación de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" sobre la inhibición del crecimiento de <i>Erwinia carotovora subsp. carotovora</i> .....	81
5.3.1. Análisis Estadístico de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" sobre la inhibición del crecimiento de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	85
5.4. Evaluación de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" sobre la inhibición del crecimiento de <i>Pseudomona cichorii</i> ...	90
5.4.1 Análisis Estadístico de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" sobre la inhibición del crecimiento de <i>Pseudomona cichorii</i> .....	94
VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	100
6.1 Contrastación de hipótesis con los resultados.....	100
6.2 Contrastación de resultados con otros estudios similares.....	100
VII. CONCLUSIONES.....	104
VIII. RECOMENDACIONES.....	106
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	107

## ANEXOS

- MATRIZ DE CONSISTENCIA
- ESQUEMA TENTATIVO DE LA TESIS



## TABLAS DE CONTENIDO

Tabla 2.1. Producción, según principales productos, 2007- 2014 (miles de Tn)

Tabla 2.2. Clasificación Taxonómica de *Myrciaria dubia* (camu camu).

Tabla 2.3. Polifenoles Individuales del fruto *Myrciaria dubia* (camu camu)

Tabla 2.4. Clasificación Taxonómica de *Averrhoa carambola* (carambola)

Tabla 2.5. Composición de la *Averrhoa carambola* (carambola) en base a 100g de la parte comestible.

Tabla 2.6. Tamizaje fitoquímico de *A. carambola* extractos frutales

Tabla 2.7. Identificación taxonómica de *Pseudomonas cichorii*

Tabla 2.8. Identificación taxonómica de *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

Tabla 4.1. Medición de la actividad antibactericida sugerido por Alves y Otros, 2000.

Tabla 4.2. Atributos físicos empleados para definir los estados de maduración de frutos de camu camu.

Tabla 4.3. Escala de McFarland, forma de preparación de cada patrón y correspondencia en turbidez a una población de bacterias expresada en UFC/ml.

Tabla 5.1. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto etanólico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Tabla 5.2. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto acetónico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Tabla 5.3. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto clorofórmico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Tabla 5.4. Análisis de Varianza para evaluar los bloques (diámetros de halos inhibitorios) y los tratamientos (actividad inhibitoria de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu") sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

Tabla 5.5. Tabla de estadísticos descriptivos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

Tabla 5.6. Prueba de Tukey de acuerdo al diámetro del halo inhibitorio en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

Tabla 5.7. Tabla de Subgrupos Homogéneos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*. Según Test de Tukey.

Tabla 5.8. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto etanólico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.9. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto acetónico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.10. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto clorofórmico de cáscaras *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.11. Análisis de Varianza para evaluar los bloques (diámetros de halos inhibitorios) y los tratamientos (actividad inhibitoria de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu") sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.12. Tabla de estadísticos descriptivos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.13. Prueba de Tukey de acuerdo al diámetro del halo inhibitorio en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.14. Tabla de Subgrupos Homogéneos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*. Según Test de Tukey.

Tabla 5.15. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto etanólico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Tabla 5.16. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto acetónico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Tabla 5.17. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto clorofórmico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Tabla 5.18. Análisis de Varianza para evaluar los bloques (diámetros de halos inhibitorios) y los tratamientos (actividad inhibitoria de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola") sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

Tabla 5.19. Tabla de estadísticos descriptivos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

Tabla 5.20. Prueba de Tukey de acuerdo al diámetro del halo inhibitorio en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Tabla 5.21. Tabla de Subgrupos Homogéneos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*. Según Test de Tukey.

Tabla 5.22. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto etanólico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.23. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto acetónico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.24. Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto clorofórmico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.25. Análisis de Varianza para evaluar los bloques (diámetros de halos inhibitorios) y los tratamientos (actividad inhibitoria de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola") sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.26. Tabla de estadísticos descriptivos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.27. Prueba de Tukey de acuerdo al diámetro del halo inhibitorio en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.

Tabla 5.28. Tabla de Subgrupos Homogéneos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*. Según Test de Tukey.

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" sobre <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	69
Gráfico 2. Gráficos de caja. Describiendo la distribución de la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" sobre <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	69
Gráfico 3. Medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" sobre <i>Pseudomonas cichorii</i> .....	77
Gráfico 4. Gráficos de caja. Describiendo la distribución de la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" sobre <i>Pseudomonas cichorii</i> .....	78
Gráfico 5. Medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" sobre <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	86
Gráfico 6. Gráficos de caja. Describiendo la distribución de la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" sobre <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	87
Gráfico 7. Medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" sobre <i>Pseudomonas cichorii</i> .....	95
Gráfico 8. Gráficos de caja. Describiendo la distribución de la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" sobre <i>Pseudomonas cichorii</i> .....	96

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu).....	22
Figura 2. Planta de <i>Averrhoa carambola</i> (carambola).....	26
Figura 3. Carambola cv. B17 en diferentes etapas de maduración marcadas con una semana después del conjunto de frutos.....	51
Figura 4. A: Carambola. B: Cáscara de carambola. C: Cáscara seca de carambola. D: Camu camu E: Cáscara de camu camu. F: Cáscara seca de camu camu.....	52
Figura 5. A: Pulverizado de cáscara de carambola. B: Pulverizado de cáscara de camu camu. C: Etanol. D: Acetona. E: Cloroformo.....	52
Figura 6. A: Maceración de camu camu con Etanol. B: Maceración de camu camu con Cloroformo. C: Maceración de camu camu con Acetona. D: Maceración de carambola con Etanol E: Maceración carambola con Cloroformo. F: Maceración de carambola con Acetona.....	53
Figura 7. A: Frascos con sus respectivos solventes y cáscaras. B: Papel Whatman número 41.....	54
Figura 8. A: Filtración de carambola con cloroformo. B: Filtración de carambola con acetona C: Filtración de carambola con etanol. D: Filtración de camu camu con cloroformo. E: Filtración de camu camu con acetona. F: Filtración de camu camu con etanol.....	54
Figura 9. Rotavapor del laboratorio del centro de Investigación de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao A: Torre de enfriamiento. B: Bomba de vacío C: Tina de baño maría.....	55
Figura 10. A: En la imagen se observa los distintos extractos brutos (polifenoles) extraídos de la maceración.....	55
Figura 11. A: Discos de sensibilidad esterilizados de 6mm de diámetro.....	56
Figura 12. A: Paquete de 10 unidades de placa petri. B Placa petri de 60 mm de diámetro esterilizada. C Agares Nutritivos. D: Placas petri con agar nutritivo.....	57
Figura 13. A: Solución salina esterilizada. B Tubo de ensayo esterilizado. C: Escala de McFarland 0.5.....	58
Figura 14. A: Recolección de 4 o 5 colonias para la estandarización. B Estandarización con ayuda del asa de siembra esterilizada. C: Turbidez equivalente a escala 0.5 de McFarland con <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> . D: Turbidez equivalente a escala 0.5 de McFarland 0.5 con <i>Pseudomonas cichorii</i> .....	59

Figura 15. A:Hisopo impregnado con el inóculo bacteriano. B Sembrado de las bacterias. C: Sembrado de bacterias por triplicado.....	60
Figura 16. A:Placas petri con diferentes concentraciones de extracto. B Distribución de los discos en la placa petri. C:Placas petri con sus respectivos discos.....	61
Figura 17. A:Empaquetado de los placas petri. B: Incubación de las bacterias. C:Medición de los halos de inhibición.....	62
Figura 18. Inhibición del extracto etanólico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" frente a <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	65
Figura 19. Inhibición del extracto acetónico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" frente a <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	66
Figura 20. Inhibición del extracto clorofórmico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" frente a <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	67
Figura 21. Inhibición del extracto etanólico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" frente a <i>Pseudomona cichorii</i> .....	73
Figura 22. Inhibición del extracto acetónico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" frente a <i>Pseudomona cichorii</i> .....	74
Figura 23. Inhibición del extracto clorofórmico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu" frente a <i>Pseudomona cichorii</i> .....	75
Figura 24. Inhibición del extracto etanólico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" frente a <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	82
Figura 25. Inhibición del extracto acetónico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" frente a <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	83
Figura 26. Inhibición del extracto clorofórmico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" frente a <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> .....	84
Figura 27. Inhibición del extracto etanólico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" frente a <i>Pseudomona cichorii</i> .....	91
Figura 28. Inhibición del extracto acetónico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" frente a <i>Pseudomona cichorii</i> .....	92
Figura 29. Inhibición del extracto clorofórmico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola" frente a <i>Pseudomona cichorii</i> .....	93

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Ambiental y de RR.NN y de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao, con el objetivo de evaluar la inhibición del crecimiento bacteriano de *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii* producida por las concentraciones de los extractos polifenólicos de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola).

Para la obtención de los extractos polifenólicos se utilizó el pulverizado de las cáscaras secas de los frutos de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola), los que fueron macerados durante 3 días utilizando como solventes acetona, etanol y cloroformo, seguidamente filtrados y concentrados en el rotavapor a presión reducida a una temperatura no mayor a 60°C a fin de retirar los solventes y obtener el extracto bruto de cada fruto. Luego se concentraron los extractos polifenólicos: 10%, 30% y 50% para evaluar su efecto sobre las cepas en estudio.

Seguidamente se determinó el efecto inhibitorio utilizando la técnica de Kirby-Bauer, la que permite medir la susceptibilidad de los microorganismos fitopatógenos seleccionados. En el procedimiento se hace uso de discos de papel filtro (6mm) sobre el medio de cultivo en cada placa impregnada con las diferentes concentraciones de los extractos polifenólicos. Se efectuaron tres repeticiones por cada tratamiento. Finalmente se incubó a 30 °C por 72hrs. Para la lectura se considero el diámetro de los halos de inhibición antibacteriano.

En la lectura de los resultados se observó que al incrementar la concentración del extracto aumentaba el diámetro del halo de inhibición; concluyendo que el extracto de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola), ejerce un efecto inhibitorio significativo sobre el crecimiento de las bacterias *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii* a las concentraciones evaluadas.

**Palabras claves:** Extracto Polifenólico, antibacteriano, inhibición, Kirby-Bauer.

## ABSTRACT

The present work was carried out in the laboratories of the Faculty of Environmental Engineering and of RR.NN and of Chemical Engineering of the National University of Callao, with the objective of evaluating the inhibition of the bacterial growth of *Erwinia carotovora subsp carotovora* and *Pseudomonas cichorii* produced by the concentrations of the polyphenolic extracts of shells of *Myrciaria dubia* (camu camu) and *Averrhoa carambola* (carambola).

In order to obtain the polyphenolic extracts, the dry shells of the fruits of *Myrciaria dubia* (camu camu) and *Averrhoa carambola* (carambola) were used, which were macerated for 3 days using as acetone, ethanol and chloroform solvents, then filtered and concentrated on the rotary evaporator under reduced pressure at a temperature not higher than 60 ° C in order to remove the solvents and obtain the crude extract of each fruit. The polyphenolic extracts were then concentrated: 10%, 30% and 50% to evaluate their effect on the strains under study.

The inhibitory effect was then determined using the Kirby-Bauer technique, which allows measuring the susceptibility of selected phytopathogenic microorganisms. In the process, filter paper disks (6mm) are used on the culture medium in each plate impregnated with the different concentrations of the polyphenolic extracts. Three replicates were performed for each treatment. It was finally incubated at 30 ° C for 72hrs. For reading, the diameter of the halos of antibacterial inhibition was considered.

In the results it was observed that increasing the concentration of the extract increased the diameter of the inhibition halo; Concluding that the extract of *Myrciaria dubia* (camu camu) and *Averrhoa carambola* (carambola), exerts a significant inhibitory effect on the growth of the bacteria *Erwinia carotovora subsp carotovora* and *Pseudomonas cichorii* at the evaluated concentrations



## INTRODUCCIÓN

El uso de productos químicos para el control de enfermedades agrícolas es una práctica común, ampliamente utilizada en diversos cultivos, hasta la aparición de productos orgánicos que considera el equilibrio entre el ambiente, la producción y el hombre, lo que implica una acción específica sobre el objetivo, y bajo perjuicio a organismos circundantes (<sup>61</sup>Molina, 2001).

En este sentido, <sup>92</sup>Stefanova. M y Otros (2005), y demás autores, sugieren la necesidad de desarrollar un nuevo concepto de protección de cultivos mediante productos a base de plantas, encontrándose más de 2 100 especies de plantas con utilidad en el control de diferentes plagas; sin embargo, un bajo porcentaje de ellas tenía utilidad en el control de bacterias.

Desde el punto de vista científico la información referente es escasa, debido principalmente a que los cambios son menos evidentes y por lo tanto más difíciles de estudiar. Sin embargo a nivel nacional es importante resaltar los trabajos realizados por <sup>57</sup>María del Pilar Gauque, Castaño. J y Gomez. M (2010), donde se evaluó la actividad antibactericida y antihelmíntica de extractos de *Ambrosia peruviana* (Alcanfor) sobre *Artemia salina* concluyendo que los metabolitos secundarios serían los principales responsables de la actividad citotóxica de *Ambrosia peruviana* (Alcanfor). De la misma manera <sup>73</sup>Puente. I y Otros (2003), estudiaron los extractos de ciertos vegetales tales como el *Allium sativum* (Ajo) y *Equisetum arvense* (Cola de Caballo) concluyendo su eficiencia para el control de enfermedades fungosas y bacteriales.

La alternativa de usar extractos vegetales para el control antimicrobiano representa un nuevo hallazgo que puede ser usado en modelos de producción orgánica, para conservar el crecimiento en los diversos vegetales, obteniendo importantes resultados, y a su vez considerando diferentes factores del medio que puedan alterar la relación con los microorganismos generando efectos que desfavorecen el control (<sup>85</sup>Ruiz. F, Betancourt. G, 2014). Por esta razón el estudio permitirá otorgar un destino útil a los extractos vegetales de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa*

*carambola* (carambola) como una opción sana, contribuyendo a la búsqueda de la conservación del equilibrio ecológico y disminución del impacto en el ambiente.

En relación con este último se pretende atender la necesidad de los agricultores utilizando estos extractos en reemplazo de productos químicos, demostrando su capacidad de presentar actividad frente a organismos que generen daños en los cultivos causantes de pudriciones, tizones, agallas y marchitamientos en plantas cultivadas (<sup>3</sup>Agrios, 2005), además son biodegradables y no generan toxicidad al hombre.

Además, (<sup>49</sup>Koduru y otros, 2006; <sup>101</sup>Viveros y otros, 2006; <sup>80</sup>Rodríguez y Sanabria, 2005; <sup>58,59</sup>Maselli y otros, 2006, 2008; <sup>71</sup>Pino y otros, 2008; <sup>13</sup>Briceño y otros, 2012), establecen que la mayor ventaja de la utilización de los extractos vegetales para el productor es que no necesitarían comprar productos químicos, si hay un producto natural con el mismo efecto.

En el marco de la teoría científica, la investigación se realizó a través de una serie de pruebas de sensibilidad, utilizando una metodología adecuada y complementando con la técnica de difusión en disco para medir la efectividad de inhibición de los extractos polifenólicos. Encontrándose algunas limitaciones, como el uso de algunos equipos e instrumentos.

De todo esto se desprende el verdadero propósito de este estudio, el cual es evaluar la efectividad de los extractos polifenólicos de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola) como agentes inhibidores de bacterias fitopatógenas (*Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*).

## CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.1. Identificación del problema

Las enfermedades en las plantas han llegado a ser de gran importancia en la agricultura mundial por las grandes pérdidas que ocasionan al disminuir tanto la cantidad como la calidad del producto cosechado y, por ende, su valor comercial. Las pérdidas pueden ser severas en zonas tropicales como subtropicales. (<sup>93</sup>Toledo, 2004).

Las bacterias en contacto con la planta involucran un proceso de deterioro vegetal que contribuye a la invasión final. Entre los factores ambientales tenemos por ejemplo los de mayor influencia como: el pH, humedad y la conductividad eléctrica los cuales influyen tanto en la virulencia como la patogenicidad. Es así que la virulencia permite que las bacterias invadan y colonicen rápidamente la planta, limitando así su crecimiento, no obstante la patogenicidad es la capacidad de producir la enfermedad ocasionando desde manchas, mosaicos o pústulas en hojas y frutos, o podredumbres malolientes de tubérculos, hasta la muerte de las plantas (<sup>102</sup>Vidaver y Lambrecht, 2004).

Entre los principales géneros de bacterias fitopatógenas que pudieran afectar el fruto, raíz y tallo de las plantas hortícolas son *Erwinia*, *Clavibacter*, *Curtobacterium* y *Xanthomonas* (<sup>99</sup>Ventura, 2007).

Por su parte, Manuel García y Merino en 1878 publicaba el primer libro de Fitopatología Peruana, titulado "*Las Epidemias de las Plantas en la Costa del Perú*", donde describía diversas anomalías observadas en su mayoría causadas por las variaciones climáticas. Más tarde se identificaron especies bacterianas (como: *Burkholderia glumae*, *Botrytis cinérea*, *Alternaria sp*, *Agrobacterium spp*, *Peronospora farinosa*, etc.) que ocasionan diversas enfermedades (como: Pierna negra o pudrición blanda, Pudrición parda o Botrytis, Añublo bacterial del arroz, Agalla de la corona, MILDIU o añublo velloso, Mancha foliar, etc.) a cultivos de

importancia agrícola en el Perú (papa, quinua, cañihua, arandano, arroz, olluco, oca, mashua, maca, arracacha, lechuga, tomate, melocotón, etc.).

Así mismo la aplicación excesiva e indiscriminada de bactericidas para el control de enfermedades agrícolas ha ocasionado un sin número de problemas de resistencia, afectación del ambiente y graves complicaciones a la salud humana. Además de que elevan los costos de producción.

Por otra parte el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) utiliza la sintomatología de la planta para diagnosticar que un cultivo se encuentra afectado por bacterias fitopatógenas.

Finalmente en la actualidad se tiene la necesidad de desarrollar nuevos métodos de control de enfermedades, que tengan la capacidad de disminuir los daños ocasionados por los fitopatógenos, pero sin producir efectos adversos a las plantas, humanos y la producción.

Esto, gracias a la utilización de los metabolitos secundarios desarrollados a través del proceso evolutivo de las plantas, permitiendo la no aplicación de compuestos químicos hasta la eliminación de efectos adversos debido a su rápida biodegradabilidad aplicadas en el campo.

## 1.2. Formulación del problema

### Problema General

¿Se producirá inhibición del crecimiento bacteriano de *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii* por las concentraciones de los extractos polifenólicos de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola)?

### 1.3. Objetivos de la investigación

#### Objetivo General

Evaluar la inhibición del crecimiento bacteriano de *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii* producida por las concentraciones de los extractos polifenólicos de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola) para la agricultura orgánica.

#### Objetivos Específicos

- Determinar la concentración del extracto polifenólico de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu), para inhibir el crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*.
- Determinar la concentración del extracto polifenólico de cáscaras de *Averrhoa carambola* (carambola), para inhibir el crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*.
- Elaborar extractos polifenólicos de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola) que serán utilizados como alternativa para la agricultura orgánica, garantizando la sustentabilidad del suelo y seguridad ambiental.

### 1.4. Justificación

#### 1.4.1 Justificación Teórica

El proyecto surge debido a que en la actualidad la tendencia mundial ha observado que productos de origen natural trae consigo nuevas formas de soluciones para el control de enfermedades causadas por bacterias fitopatógenas. Una relevante solución es detectar y estudiar plantas que tengan un potencial de uso como bactericidas naturales, debido a los metabolitos secundarios que biosintetizan y que tienen un efecto bactericida, tratando con ello de que en un futuro se puedan generar productos orgánicos derivados de la misma para el control de enfermedades agrícolas.

En búsqueda de un producto orgánico e innovador que inhiba el crecimiento de bacterias fitopatógenas a conllevado a desarrollar el presente trabajo, donde se utilizará cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola), por presentar una gran fuente de polifenoles (<sup>79</sup>Rincón y Otros, 2005).

De acuerdo con (<sup>39</sup>Guevara y otros, 2000; <sup>58</sup>Maselli y otros, 2006), la utilización de los extractos vegetales para el control de enfermedades en las plantas representa una alternativa para el manejo integrado de los cultivos, debido a su bajo costo y el menor impacto sobre el ambiente y los alimentos. En algunos estudios como el de <sup>26</sup>FAO, 2002 no se reconocen bactericidas eficaces.

Por lo cual el uso de bactericidas orgánicos es un acercamiento promisorio que puede proveer una solución en el sector agrario en el que actualmente se utilizan agroquímicos o fungicidas.

Los resultados de esta investigación permitirán a sectores agrarios, utilizar nuevas estrategias amigables al ambiente frente a la problemática causados por bacterias fitopatógenas.

## CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

### 2.1. Antecedentes del estudio

Se encontró el estudio realizado por <sup>20</sup>Cortes, J. (2008) titulado "*Evaluación del efecto de extractos etanólicos de própolis sobre el control de *Alternaria solani* en cultivo ecológico de tomate, (*Solanum lycopersicum.*)*", donde concluye que a maceración alcohólica (etanol 96% (v/v)) de própolis bruto presenta actividad fungicida frente a *Alternaria solani*, tanto en condiciones de campo sobre el cultivo de tomate, como en condiciones *in vitro*. En resumen para la presente investigación se rescata la utilización de extractos vegetales como alternativa eficaz contra plagas y enfermedades fitopatógenas.

A su vez, <sup>66</sup>Osorio, E. (2007), en su trabajo: "*Actividad Antifúngica y Antibacteriana de Extractos Polifenólicos Contra Microorganismos Fitopatógenos*", concluye que la especie gobernadora fue la que obtuvo mayor inhibición sobre *Rhizoctonia solani*, así como también fue el extracto de gobernadora que más inhibió el crecimiento de bacterias fitopatógenas: *Pseudomonas cichorii* y *Xanthomonas axanopodis pv. Vesicatoria*. En síntesis el trabajo realizado por el autor servirá de guía para la presente investigación considerando la efectividad antifúngica y antibacteriana de las cáscaras de las especies vegetales extrayendo fracciones de cada una con distintos solventes y sobre todo resaltar que a mayor concentración es mayor la inhibición.

Otra investigación es la realizada por <sup>34</sup>Gaspar, J. (2008), titulada: "*Actividad antimicrobiana de extractos de orégano (*Lippia graveolens*) contra microorganismos fitopatógenos*", cuyo objetivo fue evaluar *in vitro* la actividad anti microbiana de los diferentes extractos de *Lippia graveolens* en diferentes concentraciones en cultivo de jitomate bajo invernadero. Concluyendo que el extracto de orégano mostró una mayor efectividad, como agentes de control pudiéndose minimizar pérdidas ocasionadas por diversas enfermedades en cultivos de importancia. En suma para nuestra investigación se tomó uno de los criterios utilizados por el autor, el cual busca comprender si realmente los metabolitos secundarios contenidos en algunas

especies vegetales inhiben el crecimiento y desarrollo de microorganismos fitopatógenos y asu vez, ser usados como sustitutos de fungicidas químicos.

Finalmente estas posturas coinciden con las ideas que se aspiran al plantear una alternativa para el manejo de la agricultura moderna que garantice sustentabilidad, seguridad ambiental y calidad en productos. Siendo lo ideal reemplazar agroquímicos por bactericidas orgánicos.

## 2.2. Marco teórico

### 2.2.1. Producción Nacional de las Especies Vegetales

- Producción Nacional de *Myrciaria dubia* (camu camu).

En la Amazonía existe un potencial de 281 094 hectáreas aptas para instalar plantaciones de *Myrciaria dubia* (camu camu) (Dirección General de Producción Agraria-DGPA, 2000). Del total 227 hectáreas están en producción, con niveles de rendimiento diferentes, que contribuyen al rendimiento promedio de 1.27 tn/ha.

En ese mismo sentido la región Ucayali existen 547 hectáreas de *Myrciaria dubia* (camu camu) en diferentes estados de crecimiento y desarrollo, de las cuales 423.1 corresponde a los pequeños productores de las áreas inundables de Pucallpa y Yarinacocha (<sup>54</sup>López, 2006).

- Producción Nacional de *Averrhoa carambola* (carambola).

En nuestro país, los frutos de *Averrhoa carambola* (carambola) se desarrollan en zonas subtropicales, cuyo consumo y comercialización no son difundidos. Además se dispone de poca documentación científica sobre su valor nutricional y medicinal. Tal es el caso que Chanchamayo y Satipo (Junín), Tingo María (Huánuco), Iquitos (Loreto) y Pucallpa son las principales zonas productoras.

Al respecto el Ing. William Daga Ávalos (2014) especialista en frutales indicó que según datos estadísticos del Ministerio de Agricultura y Riego, en el 2000 existían 100 hectáreas de dicho producto mientras que en 2012 se registraron 282 hectáreas.



Un potencial problema que se presenta es el tiempo de maduración fisiológica, ya que demora varios meses a partir de su plantación.

En la siguiente tabla podemos observar la producción a nivel nacional de fruta fresca de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola), que recoge información para el período 2007 – 2014, donde se aprecia que ambas especies tuvieron un crecimiento importante.

TABLA 2.1.  
Producción, según principales productos, 2007- 2014 (miles de Tn)

Año	Camu Camu	Carambola
2007	10.034	2.282
2008	8.803	2.193
2009	10.696	2.398
2010	10.108	2.614
2011	11.215	2.704
2012	10.646	3.122
2013	12.605	3.489
2014	12.318	3.491

Fuente: Direcciones Regionales Agrarias - Dirección de Información Agraria-MINAGRI

### 2.2.2. Uso de las especies vegetales

- *Myrciaria dubia* (camu camu)

Según estudios realizados por investigadores de IIAP (Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana, 2006)<sup>43</sup> cuyos resultados indican que los pobladores del nor oriente amazónico del Perú, utilizan en orden de importancia las siguientes partes de la planta: fruto maduro, tallos, fruto verde, hojas, raíz y semillas. (<sup>77</sup>Rengifo. E, 2009) tradicionalmente con fines medicinales.

Otro estudio <sup>72</sup>Pinedo M. y Armas M. (2007). Lograron obtener testimonio mediante encuestas de productores y consumidores los cuales le dan un uso terapéutico manifestando una amplia variedad de aplicaciones, habiéndose citado 36 enfermedades que son tratadas con *Myrciaria dubia* (camu camu). También nos menciona sobre su uso en la artesanía, al utilizar tanto los frutos como la corteza para teñir fibras.

En efecto la industria farmacéutica luego de un proceso de liofilización, utiliza la pulpa de *Myrciaria dubia* (camu camu) para elaborar pastillas y cápsulas como fuente natural de vitamina C, así como también elaboración de cremas para la piel y además jabones de tocador.

Según <sup>26</sup>FAO, 2002. El contenido de vitamina C en 100g de fruta fresca de *Myrciaria dubia* (camu camu) fue 2400 mg, seguido por la *Malpighia emarginata* (acerola) (2100 mg), luego *Psidium guajava* (guayaba) (183 mg), *Citrus sinensis* (naranja) (54 mg) y finalmente *Citrus aurantifolia* (limón) (53 mg).

Para concluir es la pulpa del fruto maduro del *Myrciaria dubia* (camu camu) que se consume o utiliza como ingrediente al alcance del poblador rural para preparar refrescos, néctar, helados, mermeladas, etc.

- *Averrhoa carambola* (carambola)

La *Averrhoa carambola* (carambola) es una fruta con buenas características organolépticas (sabor, aroma, color). Esta se puede utilizar para la fabricación de productos a partir de ella o para su consumo directo. Se puede utilizar para:

- Para la preparación y decoración de todo tipo de platos dulces y salados.
- En la fabricación de mermeladas, jugos, néctar, vinos, productos de fermentación alcohólica, entre otros.

Otros usos de la *Averrhoa carambola* (carambola) van generalmente desde las raíces, hojas hasta las flores o inclusive las semillas. Asimismo en la medicina tradicional las raíces junto con azúcar son considerados como antídoto para el veneno, las frutas y hojas hervidas se utilizan como bebida para superar vómitos, las flores se dan como vermífugo, y finalmente las semillas en polvo sirven como un sedante en casos de asma y cólicos. (<sup>56</sup>Singhal. G y Otros, 2012).

En relación con esto último también se han presentado otros usos medicinales de esta planta. Por ejemplo, (Pérez & Vázquez, 2004) encontraron que en la India esta planta se usa para tratar las hemorragias, hemorroides, fiebre e infecciones en los ojos; mientras que en Brasil se emplea para el vómito o como diurético.

### 2.2.3. Características Generales de las especies vegetales

- Clasificación Taxonómica de *Myrciaria dubia* (camu camu)

TABLA 2.2.  
Clasificación Taxonómica de *Myrciaria dubia* (camu camu).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Myrtales
Familia	Myrtaceae
Género	Myrciaria
Especie	<i>dubia</i> (Kunth) MC Vaugh

- Características botánicas

Figura 1. Planta de *Myrciaria dubia* (camu camu).



Fuente: Tomado de (Frutas Amazónicas, Astrid Gütsche)

*Myrciaria dubia* (camu camu) es un arbusto de hasta 3 m de altura, que crece comúnmente en la orilla de las quebradas y cochas de la cuenca amazónica. La planta cuenta con ramas lisas, hojas puntiagudas o elípticas, 5 - 9 x 2.5 - 4 cm, ápice agudo, base cuneada, lisas en ambas caras; vena media plana en el haz, venas secundarias numerosas, más o menos cladodromas, conspicuamente oblicuas a la

vena media, ligeramente planas o inmersas en el envés, inflorescencias axilares, en grupos de racimos cortos, brácteas y bractéolas persistentes; flores lisas; pétalos blancos.

Sus frutos son bayas globulares de 2-3 cm de diámetro, pesan 2 a 20g, tienen de una a cuatro semillas por fruto y de 50 a 55% de pulpa blanca con una brillante piel delgada, que va del rosa al rojo intenso o incluso púrpura oscuro cuando está completamente madura. Habita en planicie inundable (de hasta 4 o 5 meses); sus frutos son comestibles (<sup>82</sup>Rodrigues. R y Otros, 2006).

Se conoce localmente como “camu-camu” en Perú o “cacari” en Brasil.

- Distribución

Una notable concentración de la diversidad de esta especie fue observada en la Amazonía peruana y brasileña; algunos informes revelan la existencia de poblaciones naturales en la Amazonía colombiana (río Putumayo e Inirida) y en Venezuela (ríos Orinoco, Caciqueare, Oreda, Pargueni y Caura).

En el Perú ha sido reportado en las cuencas de los ríos Nanay, Napo, Ucayali, Marañón, Tigre, Tapiche, Yarapa, Tahuayo, Pintuyacu, Itaya, Ampiyacu, Manití, Oroza, Putumayo, Yavarí y Curaray, todas ubicadas en el Departamento de Loreto. Hacia el sur de Loreto, en la región de Ucayali.

En nuestro país se está promoviendo su cultivo para la exportación financiado por proyectos de instituciones públicas y privadas (<sup>68</sup>Penn. J, 2006)

De hecho, más del 90% de *Myrciaria dubia* (camu camu) está destinado a Japón, EE.UU. o los Países Bajos, seguido de diferentes países de Europa y, en menor medida, Canadá.

En efecto por su sabor agridulce es muy apreciado en varios departamentos del Perú, donde se usa para hacer refrescos, helados y licores caseros. La gran mayoría de los frutos de *Myrciaria dubia* (camu camu) que abastecen el creciente mercado es

cosechado en poblaciones naturales, presentando dificultades de post cosecha, debido a que el fruto madura rápido y requiere refrigeración para su traslado a los centros industriales.

- Polifenoles en *Myrciaria dubia* (camu camu)

En primer lugar el interés sobre los polifenoles en plantas se ha enfocado por su gran potencial en beneficio de la salud humana, con particular referencia a los polifenoles de frutas y vegetales (<sup>19</sup>Contreras y otros, 2010; <sup>53</sup>Lopera y otros, 2013)

Informes revelan que el consumo de frutas en general, contiene un alto contenido de compuestos bioactivos comunes como la vitamina C, polifenoles,  $\beta$ -caroteno y licopeno.

En la siguiente tabla se observa la gran cantidad de polifenoles presentes en el *Myrciaria dubia* (camu camu) (<sup>16</sup>Chirinos., <sup>37</sup>Gonçalves., <sup>84</sup>Rufino., <sup>60</sup>Myoda, 2010); provocando una iniciativa a nivel mundial por el uso de fitoquímicos naturales como antioxidantes e ingredientes funcionales.

TABLA 2.3.  
Polifenoles Individuales del fruto *Myrciaria dubia* (camu camu)

<b>Flavanoles</b>	
Catequina (mg/100g peso fresco)	2.2
<b>Flavonoles</b>	
Quercetina (mg/100g peso en seco)	42
Rutina (mg/100g peso fresco)	4
Kaempferol (mg/100g peso en seco)	2.1
<b>Flavanonas</b>	
Naringenina (mg/100g peso fresco)	6.9
Eriodictiol (mg/100g peso fresco)	0.6
<b>Antocianinas</b>	
Delfinidina-3-glucósido (%)	4.2
Cianidina-3-glucósido (%)	89.5
Ácido elágico libre (mg/100g peso en seco)	16
Ácido elágico total (mg/100g peso en seco)	490
Contenido de fenoles totales en frutos frescos de camu camu (mg ácido gálico/100g)	1 176
Contenido de fenoles totales en frutos secos de camu camu (mg ácido gálico/100g)	1 161
Contenido de fenoles totales en las semillas (mg ácido gálico/100g)	369
Contenido de fenoles totales en la cáscara (mg ácido gálico/100g)	203

Fuente de: Chirinos y otros, 2010; Gonçalves y otros, 2010; Rufino y otros, 2010; Myoda y otros, 2010).

Estudios realizados por <sup>35</sup>Genovese; Pinto; Gonçalves & Lajolo, (2008); <sup>84</sup>Rufino y otros, 2010; <sup>5</sup>Akter y otros, 2011; <sup>30</sup>Fujita y otros, 2013; revelan que los residuos de *Myrciaria dubia* (camu camu) fresca es una fuente vitamina C y por ende de polifenoles.

Cabe agregar que dentro de los polifenoles encontramos; los flavonoides, ácidos fenólicos, taninos hidrolizables, estilbenos y lignanos (<sup>21</sup>D'Archivio y Otros, 2007).

Muy recientemente, el grupo de investigación de Perú. (<sup>16</sup>Chirinos y Otros, 2010) informó que los contenidos polifenólicos en las frutas del *Myrciaria dubia* (camu camu) dependerá de los estados de madurez.

En ese mismo sentido, un grupo de investigación japonés <sup>60</sup>Myoda (2010); y otros autores como <sup>35</sup>Genovese; Pinto; Gonçalves; & Lajolo (2008), <sup>23</sup>De Souza; <sup>84</sup>Rufino y otros (2010) encontraron que el contenido de polifenoles de *Myrciaria dubia* (camu camu) en semilla, cáscara y fruto fue mucho mayor que las de otras frutas tales como *Malpighia emarginata* (acerola), *Ananas comosus* (piña) y *Passiflora edulis* (maracuyá o llamada también fruta de la pasión).

En marco a lo anterior descrito <sup>78</sup>Reynertson y Otros, (2008) encontró que el *Myrciaria dubia* (camu camu) en polvo tuvo mucho mayor contenido de polifenoles que la de otras frutas como *Myrciaria vexato* (uva azul), *Myrciaria cauliflora* (guapurú).

Otros estudios mostraron que el *Myrciaria dubia* (camu camu) exhibió diez veces más alto contenido de polifenoles que los de *Duckesia verrucosa* (uxi) (<sup>37</sup>Gonçalves y Otros, 2010). Estos grupos de investigación también encontraron una correlación positiva entre la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles.

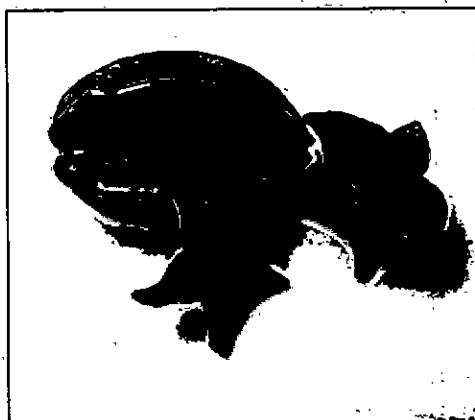
- Clasificación Taxonómica de *Averrhoa carambola* (carambola)

TABLA 2.4.  
Clasificación Taxonómica de *Averrhoa carambola* (carambola)

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Oxalidales</i>
Familia	<i>Oxalidaceae</i>
Género	<i>Averrhoa</i>
Especie	<i>carambola</i>

- Características botánicas

Figura 2. Planta de *Averrhoa carambola* (carambola)



Fuente: Tomado del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias, Modesto P., 2013

*Averrhoa carambola* (carambola) es una fruta tropical única de la familia *Oxalidaceae*; una planta de crecimiento lento, relativamente pequeña y raramente excede los 8 metros, tiene hojas compuestas de color verde claro brillante en la parte superior y opaco en la parte inferior (Andrade & Martins, 2007).

Los frutos son elipsoidales u ovoides con 5 costillas o prominencias longitudinales; en corte transversal aparecen como una estrella de 5 picos. A cada costilla o prominencia corresponde un lóculo con dos semillas planas. Miden de 6 a 12 cm de largo por 3 a 6 cm de ancho.

El epicarpio es amarillo, duro y brillante; el mesocarpio amarillo carnosos y ácido (Vasconcelos, Araujo, Silva & Conde, 2005; De Souza, Raga & Zucchi, 2000).

Se conoce como: carambolo (Colombia), lima de cayena (Brasil), árbol de pepino (México), yangt o duraznero extranjero (China), starfruit (Estados Unidos), kamrakh (India), babingbing (Filipinas), tamarindo chino, tiriguro, entre otros (<sup>45</sup>Janick y Paull, 2008; <sup>41</sup>Hii y Ogugo, 2014).

- Distribución

La *Averrhoa carambola* (carambola), fue introducida en América a fines del siglo XVIII. En Perú así como en otros países (Taiwán, Malasia, China, India, Filipinas, Australia, India, Israel, Brasil, Guyana, y los EE.UU) se consumen principalmente, a excepción de las carambolas de alta calidad cultivados en Malasia que se exportan a Europa.

Por otra parte los investigadores sostuvieron que la ruta de la *Averrhoa carambola* (carambola) en Perú fue generalmente por la Amazonía, gracias a viajeros de Brasil, extendiéndose después a los departamentos de Huánuco, Madre de Dios y el Cuzco.

Esta planta ampliamente cultivada en la Selva peruana, es originaria de Sri Lanka (Asia), probablemente Indonesia y Malasia, pero, crece fácilmente en climas tropicales (<sup>96</sup>Vasconcelos, Araujo, Silva & Conde, 2005; <sup>23</sup>De Souza, Raga & Zucchi, 2000; <sup>97</sup>Vasconcelos, Gondim, Cruz, Mafra & Silva, 2008).

La pulpa es jugosa de agradable fragancia y en las variedades más dulces poseen un sabor vivo, ligeramente subácido. La forma de estrella única y rica en color dorado es un sustituto del cual se puede preparar bebidas refrescantes, procesar mermeladas, jaleas, gelatinas, conservas (<sup>56</sup>Singhal. G y Otros, 2012), proporcionando un considerable potencial de mercado.

Su distribución se ve afectada por la deficiente información que se tiene sobre su estacionalidad, así como también no se mantiene una cadena de control durante su almacenamiento, en general, son por factores externos como su recolección en un



momento inadecuado del proceso de maduración, por excesos de lluvias, sequias y por pérdidas de peso, producto de la evaporación de agua, que dependerá mucho de la temperatura y humedad circulante al fruto (<sup>18</sup>Castilla. N, 2007). Un ejemplo es el fracaso en su exportación en estado fresco en el país vecino de Ecuador, debido a su corta vida en repisas y sensibilidad a daños por frío.

No obstante se encuentra algunas ventajas, como la demanda en los mercados de Lima, donde se encuentran durante todo el año, y también se utiliza mucho como sustituto del limón o maíz morado mayormente en los meses de verano provocando su alza en el precio.

- Polifenoles en *Averrhoa carambola* (carambola)

Hay varios miles de polifenoles que han sido identificados en las plantas superiores entre las cuales varias centenas están presentes en plantas comestibles (<sup>55</sup>Manach y Otros, 2004).

Es una fuente potencial de polifenólicos, tales como flavonoides, saponinas, y taninos (<sup>9</sup>Avinash y otros., <sup>38</sup>Gheewala y otros, 2012) y potencial antioxidante (<sup>52</sup>Leong & Shui, 2002; <sup>87</sup>Shui y otros, 2004; <sup>44</sup>Isabelle y otros, 2010; <sup>89</sup>Shofian y otros, 2011).

TABLA 2.5.

Composición de la *Averrhoa carambola* (carambola) en base a 100g de la parte comestible.

Componentes mayores (g)		Minerales (mg)		Vitaminas (mg)	
Agua	90	Calcio	5	Caroteno (A)	90
Proteinas	0.5	Fosforo	18	Tiamina (B)	0.04
Grasas	0.3	Hierro	0.4	Rivoflavina (B)	0.02
Carbohidratos	9			Niacina (B)	0.3
Fibra	0.6			Ac. Ascorbico (C)	35
Ceniza	0.4				

Fuente: Cañizares. A y Otros, 2012<sup>17</sup>

Según (<sup>48</sup>Khattak, Simpson, & Ihasnullah, 2008); (<sup>64</sup>Ndhlala y otros, 2008;) dentro de su análisis utilizó metanol como solvente extractor demostrando actividades antioxidantes potencialmente alta.

Por otra parte estudios sobre fitoquímica de *Averrhoa carambola* (carambola) son limitadas (<sup>38</sup>Gheewala y otros, 2012; <sup>87,88</sup>Shui & Leong, (2004, 2006)).

Según <sup>10</sup>Bala y otros, 2010; <sup>46</sup>Jones & Vogt, 2001; describieron que los polifenoles son metabolitos secundarios presentes en frutas como la *Averrhoa carambola* (carambola) y verduras, protegiéndose de la degradación celular y estrés.

Según <sup>22</sup>Das (2012) demostró que *Averrhoa carambola* (carambola) fruta madura tiene menor cantidad de polifenoles en comparación a etapas inmaduras obtenidos de Bengala Occidental, India.

Otros estudios por <sup>88</sup>Shui, L.P. y otros, 2006 (citado por Kuppusamy. S y otros, 2015<sup>51</sup>); y <sup>65</sup>Oliveira. G, 2014; dentro de su análisis identificaron el contenido de polifenoles en residuo de la pulpa fresca y seca de *Averrhoa carambola* (carambola).

La siguiente tabla presenta el resumen de los compuestos en extractos de *Averrhoa carambola* (carambola).

**TABLA 2.6.**  
Tamizaje fitoquímico de *A. carambola* extractos frutales

Fitoquímicos	Pruebas	Extracto acuoso	Extracto en etanol
Alcaloides	Prueba de Wagner	-	-
Ácidos Fénolicos	Prueba de cloruro férrico	+	+
Flavonoides	Prueba de reactivo alcalino	+	+
Saponinas	Prueba de saponificación	-	+
Terpenoides	Prueba de Salkowski	+	+
Glucósidos cardíacos	Keller-Prueba del Killani	+	+
Chalconas	Prueba de hidróxido amónico	-	-

+ = presente; - = ausente

Fuente: <sup>47</sup>Khanam. Z y Otros, 2015

#### 2.2.4. Agricultura y el control de plagas y enfermedades

- Agricultura

Según <sup>27</sup>FAO, 2012: "La modernización de la agricultura en latinoamerica ha tenido un carácter desigual e incompleto, como consecuencia de las restricciones de la política macroeconómica y los sesgos de la política agrícola y comercial, que en

algunos casos han privilegiado a los sectores empresariales sobre la pequeña agricultura”

Por otra parte <sup>98</sup>Vázquez (2007): Se refiere al concepto de agricultura como un organismo, en la cual todas las partes que la componen (el suelo mineral, agua, materia orgánica, microorganismos, insectos, plantas, animales y humanos), interactúan para formar un todo coherente, es decir un sistema biológico.

En este contexto, <sup>83</sup>Rosas (2003), nos menciona a la agricultura orgánica como una serie de prácticas articuladas a una producción agrícola sostenible, en relación con el medioambiente, los recursos naturales, la biodiversidad y el cuidado de la vida y la salud. Además, se corresponde con la restricción de la utilización de insumos externos como los plaguicidas y fertilizantes de síntesis química o semillas transgénicas a cambio de realizar las prácticas fitosanitarias y de producción a partir de procesos y controles naturales o biológicos para obtener producciones limpias, de mayor calidad nutricional, inocuas que no generen problemas a la salud humana y preserven el entorno o ecosistema.

Para el autor <sup>63</sup>Montgomery (2007) uno de los factores que contribuyen a la degradación de los suelos, pérdida de una diversidad de cultivos y rotaciones de los mismos a favor de monocultivos, es propiciado por el uso de insumos agroquímicos y las fuerzas del mercado; ello incrementa cada vez más las amenazas por plagas, enfermedades y malezas, genera un círculo vicioso de uso creciente de sustancias químicas, destruyendo cada vez más la biodiversidad y el ambiente.

En efecto esta situación genera gran influencia de las corporaciones multinacionales en la promoción de la venta de agroquímicos y ahora de variedades transgénicas, identificándolas como las principales barreras de la agricultura sostenible. En consecuencia son una razón importante para que el agricultor tome una decisión contra la lucha de organismos fitopatógenos.

- Factores que condicionan la fitopatología

El crecimiento de la población mundial trajo un aumento de la cantidad de alimentos. Pero al mismo tiempo empezaron a aparecer efectos negativos no calculados. Para poder aumentar la productividad era necesario insumos agrícolas a gran cantidad, para esto se utilizaba fertilizantes sintéticos añadidos a los suelos, lo que no se utilizaba apropiadamente causando daños al suelo.

Por otro lado no se tenía conocimiento de prácticas agroecológicas, por lo que se recurría al monocultivo creando un aumento extraordinario de insectos-plagas y enfermedades especializadas en esos cultivos.

#### a. Plagas

El estudio de cómo y por qué se originan las plagas es fundamental para comprender su problemática y establecer las estrategias de su control; a pesar de ello, son muy escasos los investigadores que han tratado de analizar el problema en forma orgánica.

Cuando nos referimos a este término, el autor <sup>36</sup>Gómez (2000), se refiere inicialmente a la proliferación de animales perjudiciales, generalmente insectos, que periódicamente arrasaban con los cultivos y plantaciones.

De igual manera, otros autores se refieren a “plaga” como una población de animales fitófagos que disminuye la producción del cultivo, reduce el valor de la cosecha o incrementa sus costos de producción.

#### b. Enfermedades

Algunas enfermedades ocurren solamente en un cultivo: son hospederos específicos; en otros casos otras enfermedades ocurren en distintas especies y familias de plantas, pero, en todos los casos, el hospedero proporciona alimento al patógeno.

La intensidad de la enfermedad depende de la densidad del inóculo para la infección. Por lo tanto, la respuesta para solucionar el problema de la enfermedad descansa en la presencia o ausencia de los residuos de cultivos, ya que esta es la única fuente de alimentos disponibles para el patógeno después de la cosecha.

Otro factor que por lo general se presenta en la mayoría de enfermedades es a través de semillas infectadas. No obstante, en áreas con residuos de cultivos infestados, las semillas del cultivo contribuyen a una pequeña parte del inóculo. Las semillas pueden infestarse durante su desarrollo.

Por otra parte, <sup>74</sup>Quiroga (2012), nos comenta que el aumento de las concentraciones de gases de efecto invernadero (GEI), en consecuencia el calentamiento global; genera condiciones propicias para el desarrollo de plagas y enfermedades en el sector agrícola

- Métodos de control de plagas y enfermedades

La mayoría de las plagas y enfermedades tienen varios enemigos naturales conocidos como agentes de control biológico utilizados en la agricultura orgánica, estos enemigos naturales se pueden clasificar en tres grandes grupos: parásitos, depredadores y patógenos (<sup>6</sup>Alcázar, 2000).

Sin duda tenemos una amplia variedad de especies que contribuyen al control biológico, pero en esta investigación pondremos énfasis al cultivo de la *Solanum tuberosum* (papa), el cual se encuentra afectado por "Gorgojo de los Andes", y para la Guía Técnica, Cusco 2013, sobre el Manejo Integrado de plagas una de las alternativas son los insectos Coleopteros de la familia *Carabidae*. Asimismo para la *Lactuca sativa* L. (lechuga) y otras hortalizas se ven afectados por pulgones, cigarritas, mosca minadora, etc; sin embargo se utiliza por ejemplo en el Valle del Mantaro parasitoides (*Diaretiella rapae* y *Aphidius spp*), predadores como las mariquitas *Eriopsis spp*; etc.

Los depredadores son otros insectos o ácaros que no causan daño al cultivo pero capturan y se alimentan de otras plagas. Difieren de los parasitoides porque atacan a varias presas durante su vida. Algunos depredadores se alimentan indistintamente de insectos dañinos y benéficos

Además contamos con agentes entomopatógenos entre los que podemos mencionar; bacterias, hongos, virus, nematodos y protozoos fundamentalmente. Generalmente se caracteriza por su escasa toxicidad sobre otros organismos y por su aptitud para la industria, es decir se cultivan, empacan y almacenan como un insecticida convencional.

#### - Bacterias

Hasta el momento solo se conocen 3 especies de bacterias con posibilidad de ejercer control sobre insectos. *Bacillus thuringiensis*; *Bacillus sphaericus*, y *Bacillus popilliae*. Sin embargo, estas especies presentan algunas subespecies.

#### - Hongos entomopatógenos

Aproximadamente el 80% de las enfermedades que se producen tienen como agente causal a los hongos. A su vez la efectividad de los hongos es limitada debido a que son dependientes de factores medioambientales que sólo por momentos les pueden ser favorables. Dentro de los principales hongos entomopatógenos existen varias especies de las clases *Hyphomycetes* (*Beauveria*, *Metarhizium*, *verticillium*, *Penicillium*, etc), *Zygomycetes* (*Entomophthora*, *erynia*, *entomophaga*, etc.), *Oomycetes* (*Pythium*, *Tarichium*, etc.).

#### - Protozoos

Existen especies con ciclos de vida muy complejos. Entre ellos los protozoos patógenos de personas y otro de plantas o insectos. En el control de insectos no se emplean mucho debido a esta falta de especificidad por parte de la mayoría de las especies de protozoos.

- Nemátodos.

Atacan a distintos grupos de insectos. Precisan de un medio de cierta humedad para su infección activa.

#### 2.2.5. Extractos Vegetales y su uso agrícola

Se definen como un concentrado obtenido por tratamiento de productos vegetales con solventes apropiados, tales como agua, etanol o éter, de elementos solubles, constituidos por una mezcla de principios activos y sustancias inertes que se producen de la totalidad o de partes de una planta fresca o seca (<sup>86</sup>Ruiz & Susumaga, 2000).

Es por ello que los extractos de origen vegetal juegan un papel importante en la agricultura, debido a que no perduran en el medio ambiente por su fácil degradación y no son residuales; además al ser compuestos de origen natural no perjudican la salud humana y al ambiente. (<sup>85</sup>Ruiz. F, Betancourt.G, 2014).

Según <sup>61</sup>Molina (2001), el uso de extractos vegetales para el control de enfermedades agrícolas era una práctica ancestral, ampliamente utilizada en diversas culturas y regiones del planeta hasta la aparición de los plaguicidas sintéticos; en los últimos años, en la búsqueda de un equilibrio entre el ambiente, la producción y el hombre, se ha desarrollado un nuevo concepto de protección de cultivos mediante productos, en cuyo diseño se considera: acción específica sobre el objetivo, bajo impacto o nulo en organismos circundantes que se encuentran en el ambiente y cultivo.

Investigaciones recientes (<sup>91</sup>Stauffer y otros, 2000; <sup>80</sup>Rodríguez y Sanabria, 2005; <sup>58,59</sup>Maselli y otros (2006, 2008); <sup>71</sup>Pino y otros, 2008) señalan que los extractos vegetales pueden ser utilizados exitosamente en el control o inhibición de bacterias y hongos fitopatógenos, además pueden constituirse en una herramienta para integrar a un manejo agroecológico del cultivo, sobre todo en pequeñas extensiones de terreno, como es el caso de las leguminosas y hortalizas.

## 2.2.6. Descripción de las Bacterias

### *Pseudomonas cichorii*

- Características generales

Es un bastoncillo estrictamente aerobio, Gram-negativo, que mide 1.2 – 3.5 x 0.8 µm con múltiples flagelos polares. No esporulada.

Se encuentran normalmente en el suelo, puede tener un importante impacto económico en la agricultura. La especie bacteriana, que originalmente fue aislado de las plantas herbáceas *Cichorium intybus* y *Cichorium endivia*, pertenece al grupo de homología IRrNA. (33Garrity y Otros, 2005).

Cabe agregar, que recientes avances taxonómicos, basado en procesos bioquímicos y genotípicos, demostraron que la especie patógena de plantas, *P. cichorii* consta de un racimo de grupos genómicos estrechamente relacionados con la heterogeneidad genética de la especie. (95Trantas y Otros, 2013).

En tal sentido la *Pseudomonas cichorii* causa la enfermedad en una amplia gama de verduras, plantas ornamentales con flores, y follaje.

- Hábitat

El patógeno puede sobrevivir durante el invierno en hojas secas de lechugas enfermas o tejidos, y así como también en maleza. Puede infectar con facilidad a 10 – 30 °C con óptimo de 25 °C.

Como ya se ha aclarado la *Pseudomonas cichorii* es un organismo presente en el suelo; encontrándose tanto en suelos limpios como contaminados. Además la microbiota predominante se encuentra en la rizosfera y en la filosfera de plantas. También se han encontrado en ambientes acuáticos, tanto de agua dulce como aguas marinas.

La ubicuidad de las bacterias de este género y su capacidad para explotar una amplia variedad de nutrientes refleja un sistema de adaptación al medio ambiente que no encuentra comparación en las bacterias de otros géneros.



Igualmente son capaces de procesar, integrar y reaccionar a una amplia variedad de condiciones cambiantes en el ambiente, y muestran una alta capacidad de reacción a señales físicos químicos y biológicos.

- Identificación taxonómica según la N.C.B.I

TABLA 2.7.  
Identificación taxonómica de *Pseudomona cichorii*

<b>Reino</b>	Procaryote
<b>División</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Gammaproteobacteria
<b>Orden</b>	Pseudomonadales
<b>Familia</b>	Pseudomonadaceae
<b>Género</b>	Pseudomonas
<b>Especie</b>	<i>Pseudomona cichorii</i>

N.C.B.I (National Center for Biotechnology Information)

- Perjuicios en la Agricultura

El microorganismo causante de la llamada Bacteriosis de la Lechuga pertenece al género: *Pseudomona sp.*; el grupo de *Pseudomona "cichorii"*, origina síntomas primarios como manchas hidrópicas pequeñas de color verde oscuro alrededor de los estomas, de los pelos epidérmicos o de los hidatodos. En condiciones ambientales desfavorables por ejemplo humedad relativa elevada, crecen rápidamente y colapsan formando lesiones grandes que se extienden siendo de aspecto húmedo hasta pardo oscuro, no obstante en condiciones secas normalmente cesa la extensión de las lesiones y pueden secarse y cambiar a una coloración más clara.

Según <sup>92</sup>Stefanova. M y Otros (2005); la especie *Pseudomona cichorii*, es un polífago causante de manchas acuosas, que pueden conducir a una severa pudrición foliar, y fue diagnosticada en pimiento, tomate, frijol, ajo, hibiscus, habas limas, malanga e higuera, caléndula, dalia, cedro y otros.

En soja, el autor <sup>103</sup>Yu (2012), Corea del Sur, observó síntomas inusuales, como lesiones en un primer momento, manchas acuosas, y posteriormente se volvieron de color marrón oscuro a negro, a menudo con anillos blancos concéntricos y, a veces rodeado por un halo de color amarillo brillante.

En plantas ornamentales como "gerbera" se forman anillos concéntricos en las lesiones foliares; también hojas secas en plántulas de café y defoliación de plantas adultas.

#### *Erwinia carotovora subsp carotovora*

- Características generales

Bacterias de género *Erwinia sp*, inicialmente fue denominado así en honor de Erwin Smith, presentan forma de bastones con extremos redondeados, con dimensiones de 0.5 a 1.0 X 1.0 a 3 µm, no forman esporas, son gram negativas. Se desplazan por medio de varios flagelos peritricos. Son las únicas fitopatógenas anaerobias facultativas (<sup>3</sup>Agrios, 2005). Miembro pectinolítico del género, desarrollan la fermentación, además utilizan una amplia gama de fuentes de carbono.

Su característica principal que lo diferencia del resto de los miembros de su familia, es la capacidad de producir grandes cantidades de enzimas pépticas responsables de la maceración del tejido parenquimatoso de algunas plantas (PCWDE, del inglés plant cell wall degrading enzymes), por medio de un sistema de señalización química autoinductora extracelular denominado quorum sensing, dependiente de la concentración de la población bacteriana (<sup>105</sup>Zhou Y y otros, 2008; <sup>94</sup>Toth I.K., 2003).

- Hábitat

Según <sup>94</sup>Toth I.K., 2003; <sup>75</sup>Rahman M.M., 2012. Reportaron que la *Erwinia carotovora ssp. carotovora* depende en gran medida a las condiciones ambientales, pues se ha demostrado que las temperaturas cercanas a los 30°C favorecen el incremento en la patogenicidad, y por otro lado la humedad debido a la saturación

del suelo por el exceso de las lluvias o el riego que produce condiciones anaeróbicas favorece el crecimiento de la bacteria.

A su vez se encuentra en zonas templadas como de clima tropical. En consecuencia los informes sobre su supervivencia son contradictorios, ya que en zonas templadas, las bacterias pueden pasar el invierno sobre residuos vegetales y maleza, pero no se ha observado que sobrevivan cuando el cultivo entra en rotación con cultivos no hospedantes.

En ese mismo orden el patógeno se desarrolla en presencia de agua condensada sobre el hospedero cultivado, y junto con temperaturas calurosas determinan la incidencia de la enfermedad ("podrición blanda") y la expresión de síntomas.

A modo de conclusión el patógeno puede ser diseminado en los campos por el agua de irrigación, insectos, lluvias y aerosoles llevados por el viento. En estas formas, pueden alcanzar cultivos libres de patógenos.

- Identificación taxonómica según la N.C.B.I

TABLA 2.8.  
Identificación taxonómica de *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

Reino	Procaryote
División	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	Erwinia
Especie	<i>Erwinia carotovora</i>

N.C.B.I (National Center for Biotechnology Information)

- Perjuicios en la Agricultura

Según <sup>92</sup>Stefanova. M y Otros (2005) nos mencionan que durante el período 1975-1985 el género *Erwinia carotovora subsp carotovora* era el responsable de podredumbres blandas en distintas especies vegetales, entre ellos el tomate,

pimiento, cebolla maíz, girasol. Afectando a un amplio rango de plantas cultivadas y ocasionando graves pérdidas en la producción.

De la misma manera <sup>29</sup>Franco y Otros (2004), menciona que la *Erwinia carotovora subsp carotovora* causa pudrición blanda en los tejidos vegetales de la papa; con severas pudriciones en condiciones favorables, tanto en el campo como en el almacén.

Según <sup>32</sup>García-Estrada y otros, (2000), detectaron la presencia de *Erwinia carotovora subsp carotovora* en plantas de chile Bell, la cual causaba daños estimados entre 10 y 60% en distintas áreas de México. Las plantas se enfermaban aproximadamente a los 40 días de su plantación. Los síntomas característicos iniciaron con una mancha acuosa en la base del tallo que provocaría un marchitamiento general hasta la muerte de la planta afectada. Aislándose cepas bacterianas de tallo y frutos.

En el estudio por <sup>24</sup>De Oliveira (2003), *Erwinia carotovora subsp carotovora* junto a *Erwinia c. atroseptica*, *Erwinia c. chrysanthemi* fueron encontradas en plantas de patata que mostraban síntomas de pierna negra en 22 campos de 9 condados en el Estado de Rio Grande de Soul, Brasil

En Chile una planta novedosa calas (*Zantedeschia spp.*) de colores ha presenciado “pudrición blanda” en sus tallos, representando una seria amenaza y limitación de su expansión y exportación. (<sup>50</sup>Kunstmann, J.P., 2004)

Finalmente los cultivos con más alto potencial de producción en zonas tropicales de África, Asia, Oceanía y parte de la dieta diaria en América y Europa es la malanga (*C. esculenta Schott*), por su gran contenido de almidones y valor nutritivo, no obstante presenta la incidencia de pudrición blanda presentando un problema potencial en el desarrollo de nuevos cultivos en países como México. (<sup>90</sup>Solano, 2010).

### 2.2.7. Fitopatología por acción bacteriana

El grave daño que ocasiona las bacterias fitopatógenas a los cultivos de mayor demanda y aceptación en nuestro país como por ejemplo papa o lechuga fue estudiado en 1920, por E.F. Smith, considerado como el padre de las bacterias fitopatógenas, en su libro "Bacterial diseases of plants", el cual describió las enfermedades conocidas en distintos países.

Por las consideraciones anteriores las bacterias fitopatógenas se desarrollan principalmente como organismos parásitos en plantas hospederas y parcialmente en el suelo como saprófitos. Sin embargo, hay grandes diferencias entre especies, en cuanto al grado de desarrollo en uno u otro ambiente (<sup>100</sup>Vidaber, 2002) empeorando el panorama de los agroecosistemas.

Por otro lado estos organismos en condiciones óptimas exhiben un potencial de multiplicación mayor a cualquier otro organismo, ya que se conoce que una célula bacteriana puede producir en 24 h aproximadamente 17 millones de células (<sup>40</sup>Guevara y otros, 2002).

Sin embargo las plantas han desarrollado mecanismos de resistencia constitutiva y inducible para su defensa produciendo estructuras y sustancias químicas. También es posible utilizar las interacciones antagónicas el cual se le denomina, control biológico. (<sup>62</sup>Mondino, 2001).

### 2.3. Definiciones de términos básicos

- Agroquímicos

Los agroquímicos es la especialización de la química que utiliza productos químicos (como plaguicidas y fertilizantes) en las actividades agrícolas con la finalidad de controlar plagas, maximizar el rendimiento en la cosecha, mejorar la calidad edafológica ocasionando una marcada incidencia ambiental. Son capaces de contaminar en suelos y aguas superficiales y subterráneas, generando intoxicación de seres vivos.

- Bactericida

Son sustancias de origen natural o sintetizadas químicamente que tienen la propiedad de causar la muerte de bacterias en condiciones de empleo definidas. Pueden ser desinfectantes, antisépticos o antibióticos. Son antibióticos cuando su presencia produce la muerte de un microorganismo rápidamente, en resumen los microorganismos no crecen en presencia del antibiótico; pero tampoco mueren de forma inmediata. Si se elimina el antibiótico, los microorganismos pueden recuperarse y volver a crecer.

- Bacterias Fitopatógenas

Son organismos vivos unicelulares, algunos consideran habitantes del suelo generalmente en las proximidades de la planta, algunos son residentes y otros transitorios, se encuentran en un segundo lugar de importancia económica después de los hongos en cuanto a daños a los cultivos.

Estos organismos también ocasionan un gran número de síntomas que dependen de la bacteria, del tipo de huésped y de su estado fisiológico y fenológico. Su daño se presenta como manchas foliares; marchitamiento; hiperplasias y proliferación; roñas o costras; y podredumbres blandas.

- Biocontroladores

Llamado también control biológico, hace referencia a una técnica preventiva, se distingue de otras técnicas porque precisan siempre muestras de algún medio biológico. Introducidos por el hombre para controlar y manejar plagas. Tiene como principal objetivo encontrar enemigos naturales que sean efectivos para limitar la densidad de una invasión en un ambiente nuevo, sin generar rupturas ecológicas. Con esta técnica se obtiene un gran beneficio pues no contaminan el ambiente y disminuyen los costos de producción.

- **Extracto Polifenólico**

Es una mezcla de diferentes compuestos polifenólicos, estos antioxidantes constituyen una clase de metabolitos secundarios que se encuentran distribuidos por todo el reino vegetal.

Su preparación es sencilla, obteniendo como único objetivo inhibir a los microorganismos patógenos. Su aprovechamiento constituye una alternativa eficaz, y amigable con el ambiente a comparación de otros compuestos sintéticos utilizados en la industria.

- **Inhibición**

Es la suspensión, impedimento o retardo por un cierto lapso de tiempo de alguna función orgánica, reacción y molécula orgánica.

- **Metabolitos secundarios**

Son compuestos derivados de las plantas, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentando propiedades biológicas, ecológicas que se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros.

- **Patogenicidad**

Es una cualidad o característica intrínseca del microorganismo de producir enfermedad en un huésped susceptible (humano, animal o vegetal), siendo la virulencia la cuantificación de dicha capacidad. A su vez nos permite comparar diferentes especies microbianas.

- **Polifenoles**

Son derivados de los metabolitos secundarios, y se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, a su vez presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos.

- Plaguicidas

Es una sustancia o mezcla de sustancias destinada a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, llamadas a las especies no deseadas que interfiere en cualquier proceso agrícola, a su vez son destinadas a regular el crecimiento de las plantas, o evitar su prematura caída; es aplicado antes y después de la cosecha para protegerlo del deterioro. Incluyen los acaricidas, bactericidas, funguicidas, herbicidas, insecticidas, etc.

- Toxicidad

Es la descripción de la cantidad de una sustancia química venenosa que bajo un conjunto específico de condiciones produce efectos perjudiciales sobre un ser vivo, al entrar en contacto con él. La toxicidad depende de diferentes factores: dosis, duración, ruta de exposición, forma, estructura de la sustancia química y factores humanos individuales.

- Virulencia

Es la capacidad del microorganismo de causar una enfermedad en común, a menudo se relaciona cantidad mínima de microorganismos patógenos que producen infección en la mitad de una población estudiada. También puede variar como consecuencia de mutaciones, transferencia horizontal de genes, etc.



## CAPÍTULO III VARIABLES E HIPÓTESIS

### 3.1. Variables de la investigación

Variable Independiente

X= Variable Independiente, X= Concentración de los extractos polifenólicos de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola)

Variable Dependiente

Y= Variable Dependiente, Y= Inhibición de *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomona cichorii*.

### 3.2. Operacionalización de variables

Variable	X= Independiente
Concentración de los extractos polifenólicos de cáscara de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) y <i>Averrhoa carambola</i> (carambola)	X1 = Concentración de extracto polifenólico de cáscara de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu)
	X2 = Concentración de extracto polifenólico de cáscara de <i>Averrhoa carambola</i> (carambola)
Variable	Y= Dependiente
Inhibición de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> y <i>Pseudomona cichorii</i> .	Y1 = Inhibición de <i>Pseudomona cichorii</i>
	Y2 = Inhibición de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i>

Dimensión	Tratamiento
Extracto de cáscara <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) con Etanol	T1 = Inhibición al 10% de Etanol
	T2 = Inhibición al 30% de Etanol
	T3 = Inhibición al 50% de Etanol
	T4 = Muestra en blanco

Dimensión	Tratamiento
Extracto de cáscara de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) con Cloroformo	T1 = Inhibición al 10% de Cloroformo
	T2 = Inhibición al 30% de Cloroformo
	T3 = Inhibición al 50% de Cloroformo
	T4 = Muestra en blanco
Extracto de cáscara de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) con Acetona	T1 = Inhibición al 10% de Acetona
	T2 = Inhibición al 30% de Acetona
	T3 = Inhibición al 50% de Acetona
	T4 = Muestra en blanco
Extracto de cáscara de <i>Averrhoa carambola</i> (carambola) con Etanol	T1 = Inhibición al 10% de Etanol
	T2 = Inhibición al 30% de Etanol
	T3 = Inhibición al 50% de Etanol
	T4 = Muestra en blanco
Extracto de cáscara de <i>Averrhoa carambola</i> (carambola) con Cloroformo	T1 = Inhibición al 10% de Cloroformo
	T2 = Inhibición al 30% de Cloroformo
	T3 = Inhibición al 50% de Cloroformo
	T4 = Muestra en blanco
Extracto de cáscara de <i>Averrhoa carambola</i> (carambola) con Acetona	T1 = Inhibición al 10% de Acetona
	T2 = Inhibición al 30% de Acetona
	T3 = Inhibición al 50% de Acetona
	T4 = Muestra en blanco

Dimensión: Es el elemento integrante de las variables que requiere de análisis o descomposición.

Tratamiento: Es un indicio, señal o unidad de medida que permite estudiar o cuantificar la dimensión.

### 3.3. Hipótesis general

Las concentraciones de los extractos polifenólicos de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola) presentan un efecto inhibitorio sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*.

## CAPÍTULO IV METODOLOGÍA

### 4.1. Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación es de carácter experimental cuantitativo de tipo correlacional negativa.

Así mismo la investigación es de tipo correlacional negativa, porque existe una relación entre ambas variables (extracto polifenólico y bacterias fitopatógenas) y a su vez se determina que el aumento de una variable conlleva a la disminución de la otra.

### 4.2. Diseño de la investigación

La presente investigación estuvo basada en un estudio experimental cuantitativo que buscaba encontrar la mayor actividad bactericida representada en halos de inhibición que tuvieran los extractos obtenidos de las especies de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola) y determinar cuál de ellos era el mejor frente a los microorganismos fitopatógenos (*Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*).

En la experimentación se determinaron tres tratamientos diferentes, cada uno con 3 repeticiones.

### 4.3. Población y muestra

Población: Se tiene una variedad de frutos de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola) que varían su concentración polifenólica de acuerdo a la región o país donde son cultivadas.

Encontrándose por ejemplo *Myrciaria dubia* (camu camu) en la Amazonia peruana, u otros países como Colombia, Brasil y Venezuela asimismo *Averrhoa carambola* (carambola) en diversas partes del Perú como por ejemplo Chanchamayo, Tingo maria, Satipo, Pucallpa y países como Tailandia, Brasil y Colombia.

Muestra: La muestra está constituida por los frutos de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola) adquiridas en el mercado de Caqueta, que provienen de los departamentos de Tingo María y Ucayali.

#### 4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

La técnica descrita originalmente por <sup>12</sup>Bauer y Otros (1966) ("*Prueba de sensibilidad utilizando la difusión en agar*"), se utilizó en el presente estudio para representar el poder inhibitorio de los extractos polifenólicos empleando discos de papel filtro de 6 mm de diámetro previamente esterilizados, estos discos se empapó con las diferentes concentraciones de los extractos polifenólicos (10%, 30%, 50%) y un control blanco (agua destilada), incubándose a 30°C por 48 horas y se determinó mediante la medición de diámetros la zona de inhibición (mm) con un vernier digital, evaluando los parámetros sugeridos por (<sup>7</sup>Alves y Otros, 2000):

TABLA 4.1.  
Medición de la actividad antibactericida sugerido por Alves y Otros, 2000

Diámetro	Zona
<9 mm	Inactiva
9-12 mm	Parcialmente activa
13 a 18 mm	Activo
>18 mm	Muy activo

Posteriormente la obtención de extractos polifenólicos se llevó a cabo siguiendo la metodología de <sup>67</sup>Pandey y Otros (2012), la cual consiste en recolectar 500 gr de cáscaras de cada fruto y se deja secar en una estufa a 50°C por 24 horas. Luego el material se pulveriza en un mortero con pistilo hasta obtener un polvo fino, se almacenó en bolsas de plástico con sello hermético en un lugar seco, se elaboró los extractos por maceración en frío, usando disolventes (etanol, cloroformo y acetona) en recipientes de color ámbar por 3 días, seguidamente se filtró con papel Whatman N°41 e inmediatamente se concentra en el rotaevaporador, a presión reducida y temperatura no mayor de 60°C. Una vez evaporado el solvente, se obtuvo el

extracto bruto de cada fruto que fue almacenado a 4°C hasta el momento de su utilización.

La recolección de datos se realizó en base al tipo de investigación que es de carácter experimental, a través de un esquema cuantitativo con el cual valorizaremos estadísticamente el potencial bactericida de los polifenoles contenidos en la composición química de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola).

A su vez se utilizó como técnica la observación la cual consistió en observar los halos de inhibición en las diferentes concentraciones, con el propósito de medirlo; y como instrumento el registro del resultado de las observaciones con lo cual se determinó la efectividad del proceso.

#### 4.5. Plan de análisis estadísticos de datos

Se utilizó el programa SPSS Versión 20-Statistics Data Document con la finalidad de analizar su varianza con el método de ANOVA a través de un diseño de bloques completos aleatorios, con un nivel de confianza de 0.05.

En efecto el análisis de varianza (ANOVA) nos permitió concluir si los extractos polifenólicos de cáscaras de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola) sometidos a distintas concentraciones contrarresta la hipótesis planteada.

Por otra parte para determinar qué medidas en concreto difieren las concentraciones de extractos polifenólicos de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola) se utilizó un tipo particular de contraste denominado comparaciones múltiples con un procedimiento de mayor aceptación como la prueba de la diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey.

## 4.6 Procedimientos de recolección de datos

### 4.6.1 Pruebas Fitoquímicas

#### 4.6.1.a Recolección de las muestras vegetales

La *Myrciaria dubia* "camu camu" y *Averrhoa carambola* "carambola" fueron recolectados en el mes de Enero del 2016, en el Mercado de Frutas, situado en el trébol de Caquetá.

Se colectaron aproximadamente 5kg de cada una de las especies, se lavaron con agua, para luego secarlas a temperatura ambiente y depositarlas en bolsas de polietileno de color negro.

Finalmente fueron transportadas al laboratorio de fisicoquímica de la facultad de Ingeniería Ambiental y de RR.NN de la Universidad Nacional del Callao donde se almacenaron adecuadamente para evitar su descomposición hasta su uso.

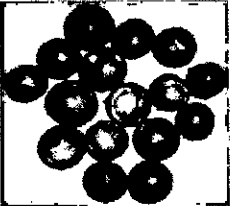
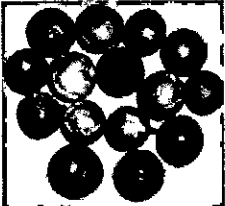
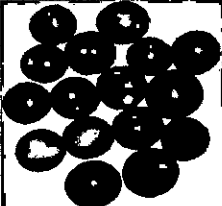
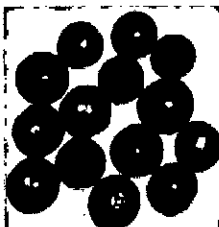
En el proceso de recolección de las muestras se consideraron los siguientes factores:

- Estado vegetativo.
- Estación de recolección.

Tal es el caso, la complejidad de su índice de maduración que el criterio utilizado para su selección es su "color". La materia prima para *Myrciaria dubia* "camu camu" escogida se encuentra entre el grado N°3 (maduro) y N°4 (sobremaduro). La caracterización de los diferentes grados de madurez se pueden observar en la tabla

4. 2.

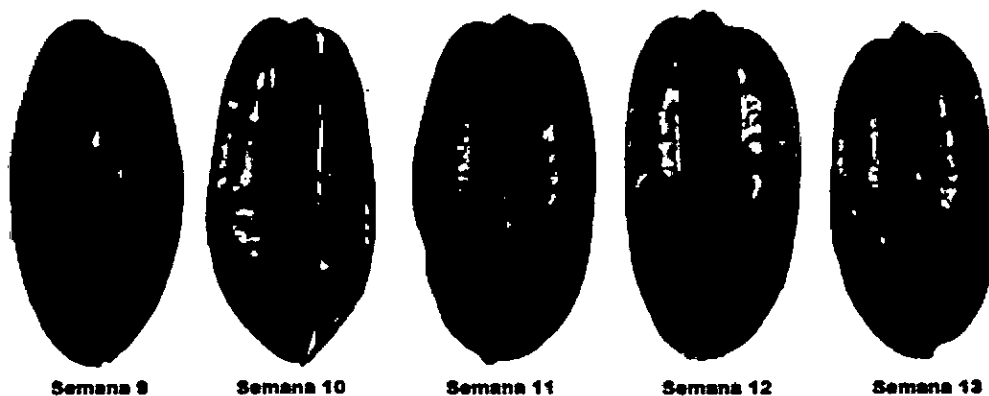
**TABLA 4.2.**  
Atributos físicos empleados para definir los estados de maduración de frutos de camu camu.

Estados de Maduración	Color de la Cáscara	Consistencia del fruto	Fotografía
<b>01</b> <b>(Verde)</b>	0-25% de pigmentación rojiza	Rígida y dura	
<b>02</b> <b>(Pintón)</b>	26-50% de pigmentación rojiza	Rígida	
<b>03</b> <b>(maduro)</b>	75-100% de pigmentación rojiza	Rígida	
<b>04</b> <b>(sobremaduro)</b>	100% de pigmentación roja púrpura	Frágil	

Fuente: <sup>42</sup>Imán, S.; Bravo, L.; Sotero, V.; Oliva, C., 2011

Por otra parte la *Averrhoa carambola* "carambola" es escogida entre la semana 11 y semana 12 (Figura 3) de su estado de maduración.

Figura 3. Carambola cv. B17 en diferentes etapas de maduración marcadas con una semana después del conjunto de frutos.



Fuente: <sup>104</sup>Zainudin, M.A.M., Hamid, A.A., Anwar, F., Osman, A., Saari, N., 2013

En cuanto al estado de recolección, para la *Myrciaria dubia* "camu camu", esta sujeta a la aparición a la demanda en los mercados siendo está estacional, la cual ocurre entre los meses de Diciembre a Marzo cuando la fruta proviene de los rodales naturales. Estas zonas ubicadas en las regiones de Loreto y Ucayali contribuyen económicamente a los pobladores ya que su recolección es manual.

Sin embargo la *Averrhoa carambola* "carambola" se eligió considerando homogeneidad en el tamaño, olor, aspecto (libres de daños por insectos, plagas o deformaciones) en época de recolección generalmente de Junio a Febrero. Cabe resaltar el cambio de color de verde pálido a ligeramente amarillo nos indica una adecuada recolección del fruto, por ende si se deja madurar mucho el proceso de clasificación, empaque y transporte podría dañar la fruta por acciones mecánicas.

#### 4.6.1.b Preparación del pulverizado vegetal

Se recolectó el material vegetal, posteriormente se procedió a la maceración en frío, que consiste en triturar las cáscaras con un mortero hasta conseguir 500g de cada fruta, dejándolas en un frasco de vidrio color ámbar de un litro de capacidad con etanol, acetona y cloroformo químicamente puros tapando el total de la muestra por 72 horas (3 días) agitando regularmente los frascos y protegidos de la luz directa (<sup>67</sup>Pandey y Otros, 2012).



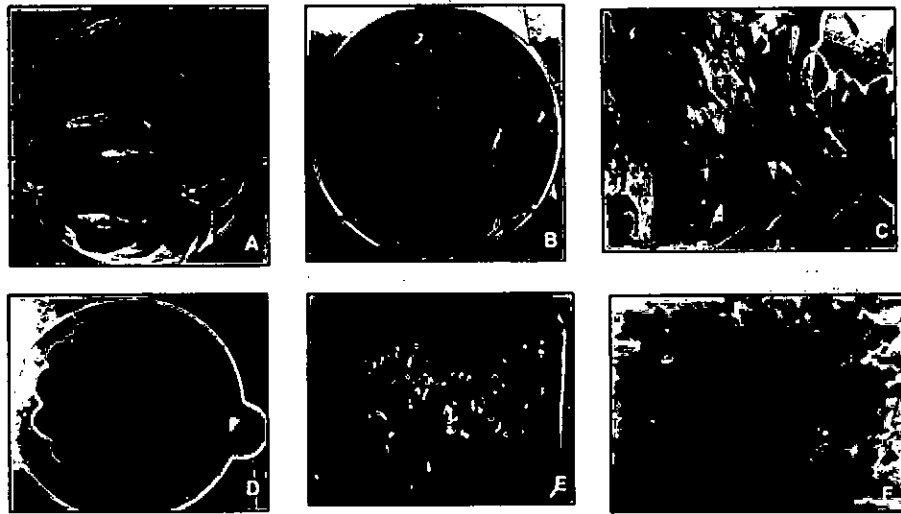


Figura 4. A:Carambola. B: Cáscara de carambola. C: Cáscara seca de carambola. D: Camu camu E: Cáscara de camu camu. F: Cáscara seca de camu camu.

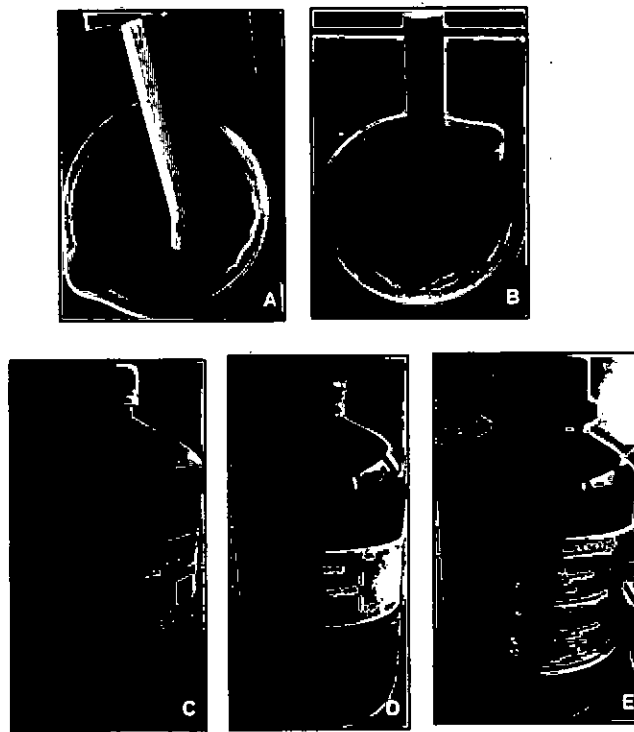


Figura 5. A:Pulverizado de cáscara de carambola. B: Pulverizado de cáscara de camu camu. C: Etanol. D:Acetona. E: Cloroformo

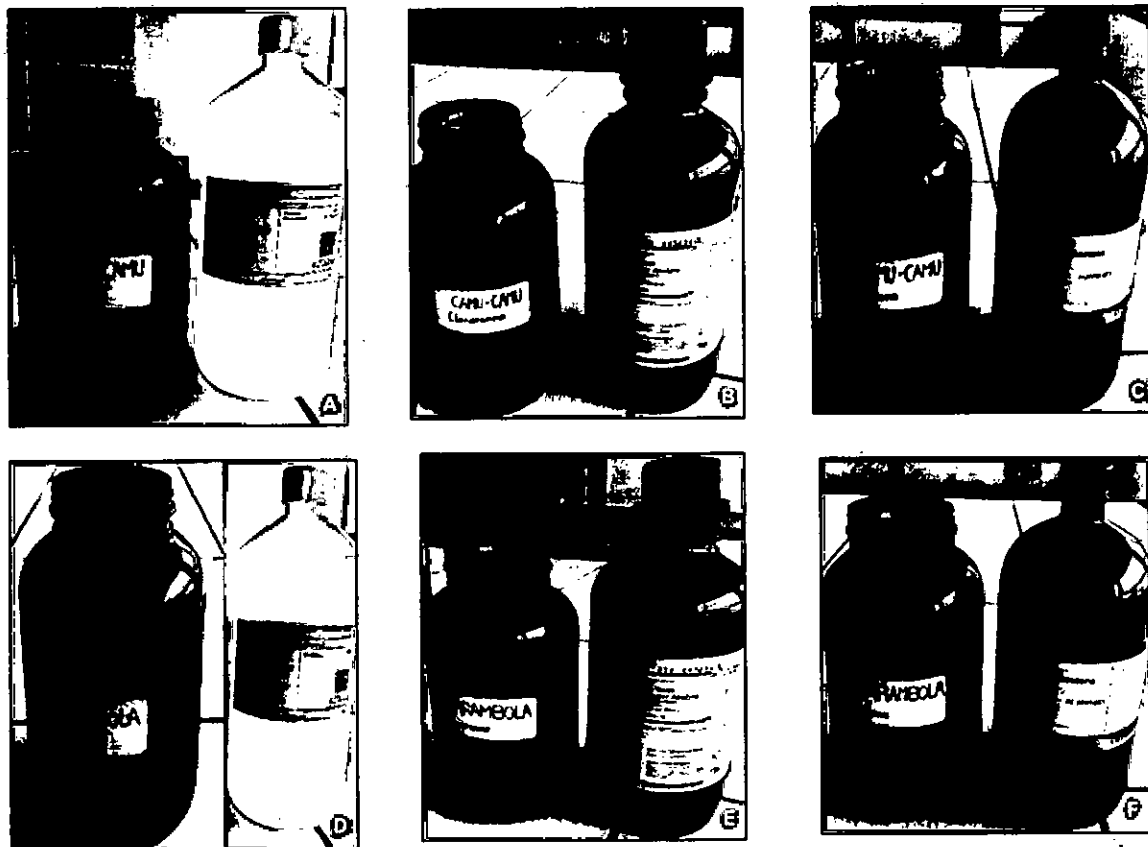


Figura 6. A: Maceración de camu camu con Etanol. B: Maceración de camu camu con Cloroformo. C: Maceración de camu camu con Acetona. D: Maceración de carambola con Etanol E: Maceración carambola con Cloroformo. F: Maceración de carambola con Acetona.

#### 4.6.1.c Preparación de los extractos polifenólicos

La extracción se llevó a cabo de manera secuenciada con disolventes: acetona, etanol y cloroformo, y las cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" y *Averrhoa carambola* "carambola".

Pasado las 72 horas se filtraron las muestras, utilizando papel Whatman número 41, seguidamente se retiró el solvente con ayuda de un rotavapor en el laboratorio de investigación de la Facultad de Ingeniería Química de la misma universidad, a presión reducida, a una temperatura no mayor a 60 °C para cada fruto.



Figura 7. A:Frascos con sus respectivos solventes y cáscaras. B: Papel Whatman número 41

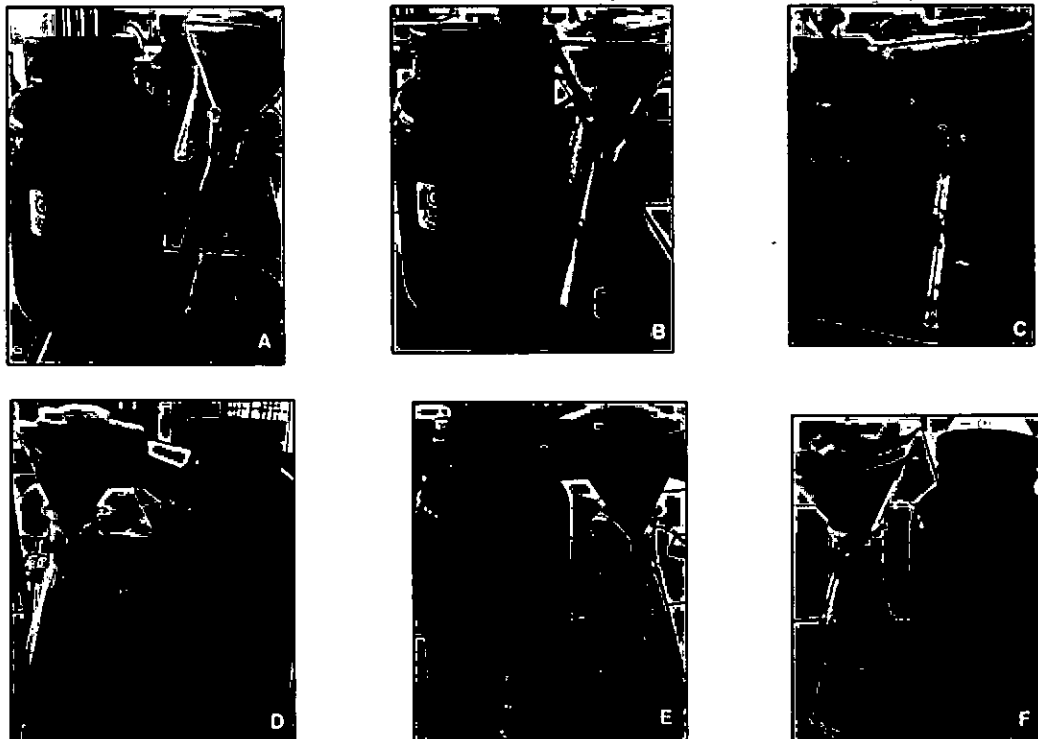


Figura 8. A:Filtración de carambola con cloroformo. B: Filtración de carambola con acetona C: Filtración de carambola con etanol. D: Filtración de camu camu con cloroformo. E: Filtración de camu camu con acetona. F: Filtración de camu camu con etanol.

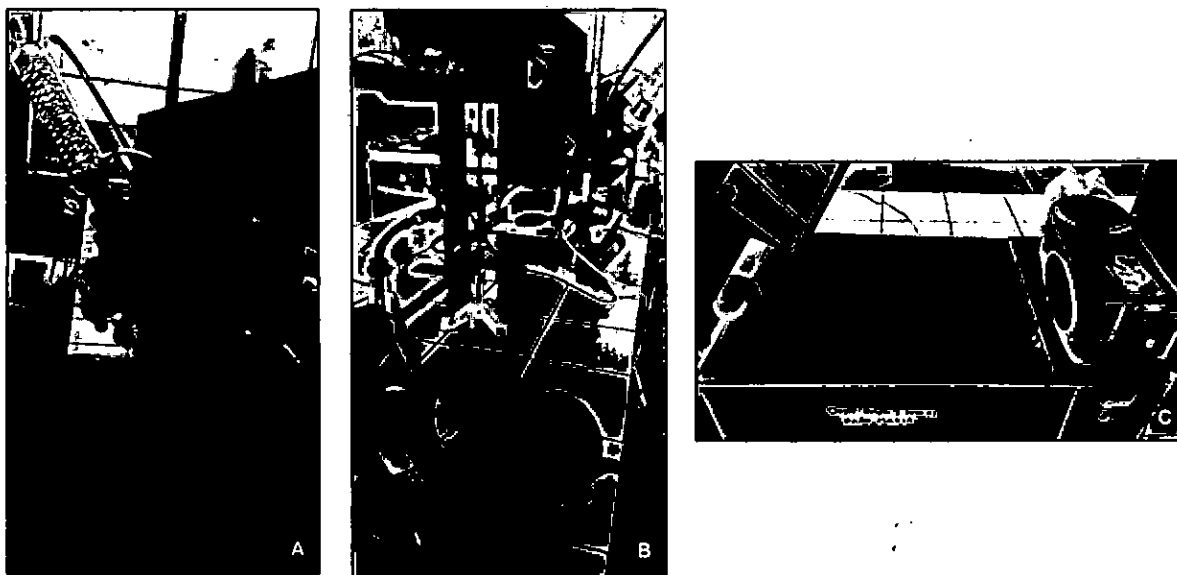


Figura 9. Rotavapor del laboratorio del centro de Investigación de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional del Callao A: Torre de enfriamiento. B: Bomba de vacío C: Tina de baño maria.

Una vez extraído los solventes, se obtuvo el extracto bruto de cada fruto, con una consistencia pastosa, las cuales se almacenaron en frascos color ámbar a 4 °C hasta el momento de su utilización.



Figura 10. A: En la imagen se observa los distintos extractos brutos (polifenoles) extraídos de la maceración.

De estos extractos se sacaron alícuotas para hallar las concentraciones específicas (10%, 30, 50%), evaluando así la actividad antimicrobiana contra las cepas bacterianas.

#### 4.6.1.d Preparación de las Concentraciones

Se procedió a realizar el cálculo de las concentraciones para cada extracto a utilizar. Por ejemplo para las concentraciones de los extractos brutos al 10%, 30% y 50% se procedió de la siguiente manera:

$$\text{Dilución } 1/10 = \frac{1 \text{ ml del extracto bruto}}{1 \text{ ml del extracto bruto} + 9 \text{ ml de agua destilada}} \quad (10\%)$$

$$\text{Dilución } 3/10 = \frac{3 \text{ ml del extracto bruto}}{3 \text{ ml del extracto bruto} + 7 \text{ ml de agua destilada}} \quad (30\%)$$

$$\text{Dilución } 1/2 = \frac{1 \text{ ml del extracto bruto}}{1 \text{ ml del extracto bruto} + 1 \text{ ml de agua destilada}} \quad (50\%)$$

#### 4.6.2 Pruebas Microbiológicas

Las condiciones deben ser constantes de prueba a prueba como: incluir el agar utilizado, la cantidad de organismo utilizado, la concentración química utilizada y las condiciones de incubación (tiempo, temperatura y atmósfera).

##### 4.6.2.a Preparación de los discos de sensibilidad

Los discos de sensibilidad (6 mm) se prepararon utilizando papel Wattman N° 3 empleando un perforador convencional. Estos discos se esterilizarán en una estufa a 180 °C por 1 hora.

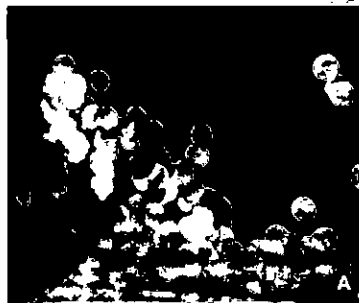


Figura11. A: Discos de sensibilidad esterilizados de 6mm de diámetro

#### 4.6.2.b Conservación de las cepas

Las cepas bacterianas que se utilizaron en la presente investigación fueron proporcionadas por el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) siendo: *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*.

#### 4.6.2.c Preparación de las placas

Para evaluar la sensibilidad de las cepas de microorganismos fitopatógenos se utilizó el método modificado de difusión de discos en agar o Kirby-Bauer, para lo cual se prepararon placas Petri estériles de 60 mm con Agar Nutritivo, siendo un total de #108 microplacas, correspondiéndole #54 para cada cepa.

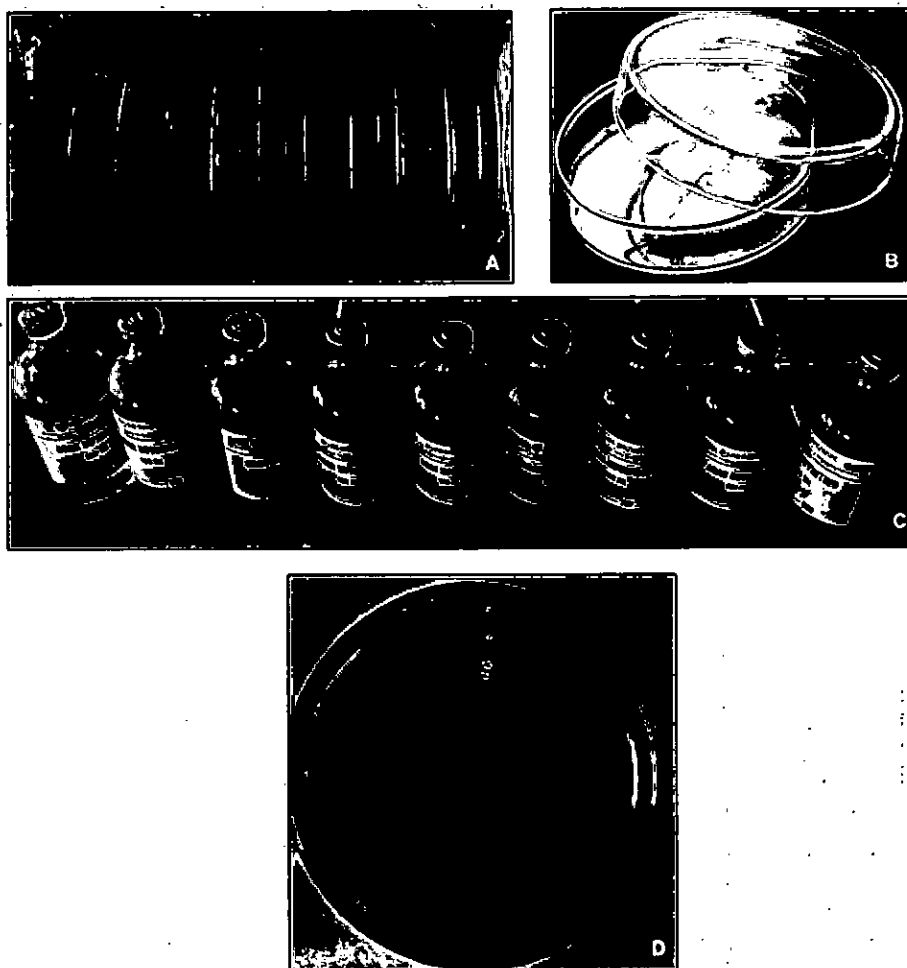


Figura 12. A: Paquete de 10 unidades de placa petri. B Placa petri de 60 mm de diámetro esterilizada. C Agares Nutritivos. D: Placas petri con agar nutritivo

#### 4.6.2.d Estandarización del inóculo bacteriano

Para la estandarización de los inóculos bacterianos según la técnica de Kirby Bauer, se tomaron 4 o 5 colonias de las bacterias proporcionadas y se sembraron en tubos de ensayo con 5ml de solución salina al 0,85% hasta obtener una turbidez equivalente a escala 0,5 de McFarland, que representa aproximadamente  $1.5 \times 10^8$  ufc/ml. En la siguiente tabla se muestra la forma de elaborar la escala de McFarland.

TABLA 4.3.

Escala de McFarland, forma de preparación de cada patrón y correspondencia en turbidez a una población de bacterias expresada en UFC/ml.

Estándar N°	Volumen (ml)		UFC/ml ( $\times 10^8$ )
	BaCl <sub>2</sub> (1,175 %)	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (1%)	
0.5	0.5	99.5	1.5
1	1.0	99.0	3
2	2.0	98.0	6
3	3.0	97.0	9
4	4.0	96.0	12
5	5.0	95.0	15
6	6.0	94.0	18
7	7.0	93.0	21
8	8.0	92.0	24
9	9.0	91.0	27
10	10.0	90.0	30

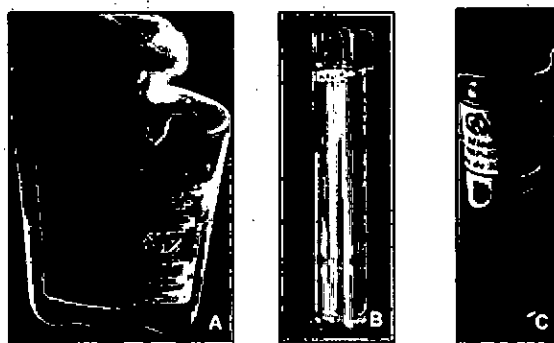


Figura 13. A: Solución salina esterilizada. B Tubo de ensayo esterilizado. C: Escala de McFarland 0.5



Figura 14. A: Recolección de 4 o 5 colonias para la estandarización. B Estandarización con ayuda del asa de siembra esterilizada. C: Turbidez equivalente a escala 0.5 de McFarland con *Erwinia carotovora subsp carotovora*. D: Turbidez equivalente a escala 0.5 de McFarland 0.5 con *Pseudomona cichorii*.

#### 4.6.2.e Evaluación de la actividad antibactericida

Una vez preparado y ajustado el inóculo y las diluciones de los extractos se evaluó la actividad antibacteriana de cada extracto mediante el método: Difusión en agar con discos.



#### 4.6.2.e.1 Técnica de Difusión en agar con discos

El método de difusión de disco en Agar de Kirby- Bauer, se basa en la relación entre la concentración de una sustancia o mezcla de varias sustancias desconocidas de origen vegetal con potencial antibactericida necesaria para inhibir una cepa bacteriana, visualizando a su vez un disco impregnado con una cantidad de sustancia formando un halo de inhibición en la superficie de la placa.

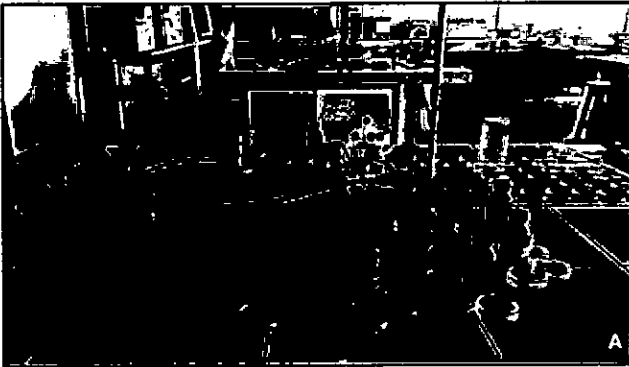
Después de los 15 minutos de haber preparado el inóculo bacteriano (ajustada al patrón 0,5 de McFarland) se impregnó un hisopo de algodón estéril rotando varias veces presionando firmemente la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso del inóculo. Luego se esparció en todas las direcciones sobre el agar nutritivo, hasta que se logró una difusión homogénea. Se realizó la prueba por triplicado.



Figura 15. A: Hisopo impregnado con el inóculo bacteriano. B Sembrado de las bacterias. C: Sembrado de bacterias por triplicado.

Posteriormente se dejó reposar por 15 minutos, colocando 3 discos de sensibilidad humedecidos con las diferentes diluciones de los extractos (10%, 30%, 50%) y 1

disco que contenía el control positivo (agua destilada) sobre la superficie del agar con pinzas estériles aplicando una ligera presión para asegurar el contacto uniforme y distanciados uno del otro aproximadamente 2 cm y a 1 cm del borde de la placa evitando la superposición de las zonas de inhibición.



**Figura 16. A:Placas petri con diferentes concentraciones de extracto. B Distribución de los discos en la placa petri. C:Placas petri con sus respectivos discos.**

Transcurrido 15 minutos se invirtieron las placas y fueron incubadas a 28°C durante 72 horas. Finalmente se realizaron las observaciones para identificar la presencia o ausencia del halo de inhibición alrededor de cada disco y en caso de estar presente tendría mayor efecto inhibitorio el que mostró mayor diámetro, el cual se midió con una regla graduada en mm.



Figura 17. A:Empaquetado de los placas petri. B: Incubación de las bacterias. C:Medición de los halos de inhibición.

Los valores obtenidos se promediaron hallándose el diámetro medio que fue utilizado como índice de actividad antimicrobiana.

#### 4.7 Procedimiento estadístico y análisis de datos

Para evaluar la actividad biológica de los extractos polifenólicos obtenidos de cada fruto, que presentaron un efecto inhibitorio, se utilizó un diseño completamente al azar con 3 réplicas, tomando como variable el diámetro de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano.

El procesamiento y análisis de la información de los datos se consolidaron en el software SPSS V.20 realizando un análisis descriptivo, teniendo en cuenta las tres réplicas para cada dilución con cada una de las bacterias utilizadas.

En primer lugar se calcularon las medias y la desviación estándar de los extractos polifenólicos de las cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" y *Averrhoa carambola* "carambola", tomando los diámetros de inhibición, como medidas de tendencia central, que se presentó mediante tablas y gráficos.

Los datos se procesaron mediante un Análisis de Varianza completamente aleatorizados (ANOVA) con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ ; aplicando el software anteriormente mencionado.

Finalmente, con el objetivo de determinar si existía o no diferencia significativa entre las medias de las concentraciones y/o tratamientos utilizados, se aplicará un tipo particular de contraste denominado comparaciones múltiples o métodos Post Hoc con un procedimiento de mayor aceptación como la prueba de la diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey.

Es de señalar que los análisis estadísticos se realizaron a cada bacteria por separado.

## CAPÍTULO V RESULTADOS

En el siguiente apartado se presentan los resultados obtenidos de las evaluaciones de los extractos polifenólicos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" y *Averrhoa carambola* "carambola" con los diferentes solventes, con respecto a la inhibición de las bacterias; *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomona cichorii*.

### 5.1 Evaluación de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre la inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Al realizar el análisis de los datos obtenidos se encontró que el extracto acetónico (50%) de cáscaras de camu camu tuvieron mayor inhibición en el crecimiento de la bacteria *Erwinia carotovora subsp carotovora* (Tabla 5.2), seguido por el extracto etanólico (50%) (Tabla 5.1) y finalmente el extracto clorofórmico (50%) (Tabla 5.3) teniendo hasta el quinto día de medición un crecimiento estático.

TABLA 5.1.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto etanólico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

<b>MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i></b>				
Número de repeticiones	Concentración del extracto etanólico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	8	11	16	-
2	9	10	19	-
3	7	13	20	-
<b>Promedio</b>	<b>8</b>	<b>11.33</b>	<b>18.33</b>	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>				
	Inactiva	Parcialmente activa	Muy Activo	

En la Figura 18. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora* a las concentraciones ensayadas del extracto etanólico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu"

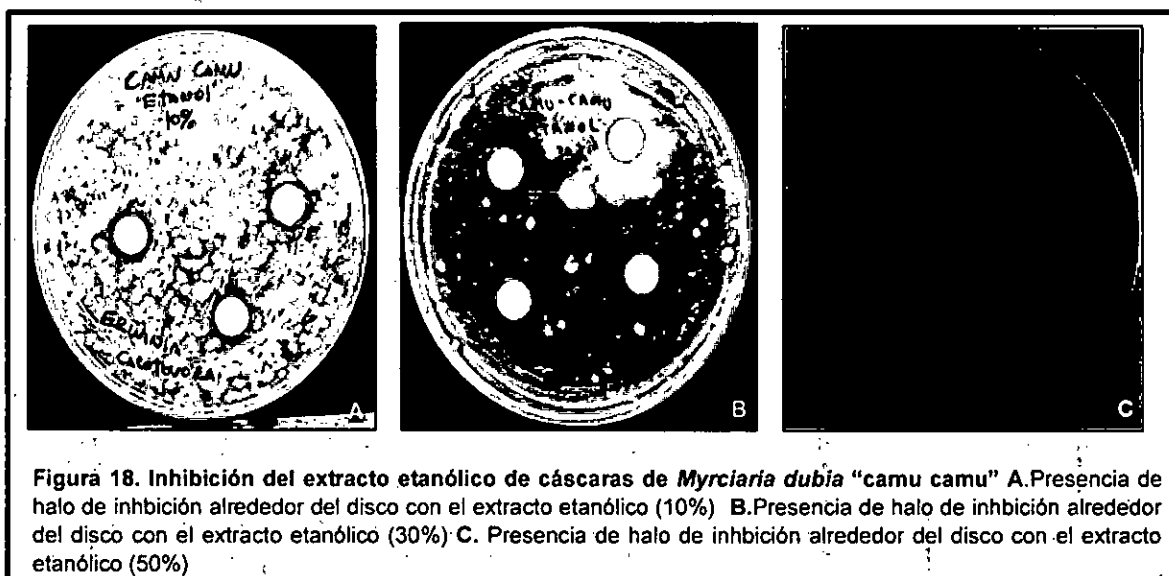


Figura 18. Inhibición del extracto etanólico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" A. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto etanólico (10%) B. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto etanólico (30%) C. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto etanólico (50%)

TABLA 5.2.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto acetónico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i>				
Número de repeticiones	Concentración del extracto acetónico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	7	16	18	-
2	8	14	20	-
3	8	13	19	-
Promedio	7.67	14.33	19	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Inactiva	Activo	Muy Activo	-

En la Figura 19. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora* a las concentraciones ensayadas del extracto acetónico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu"

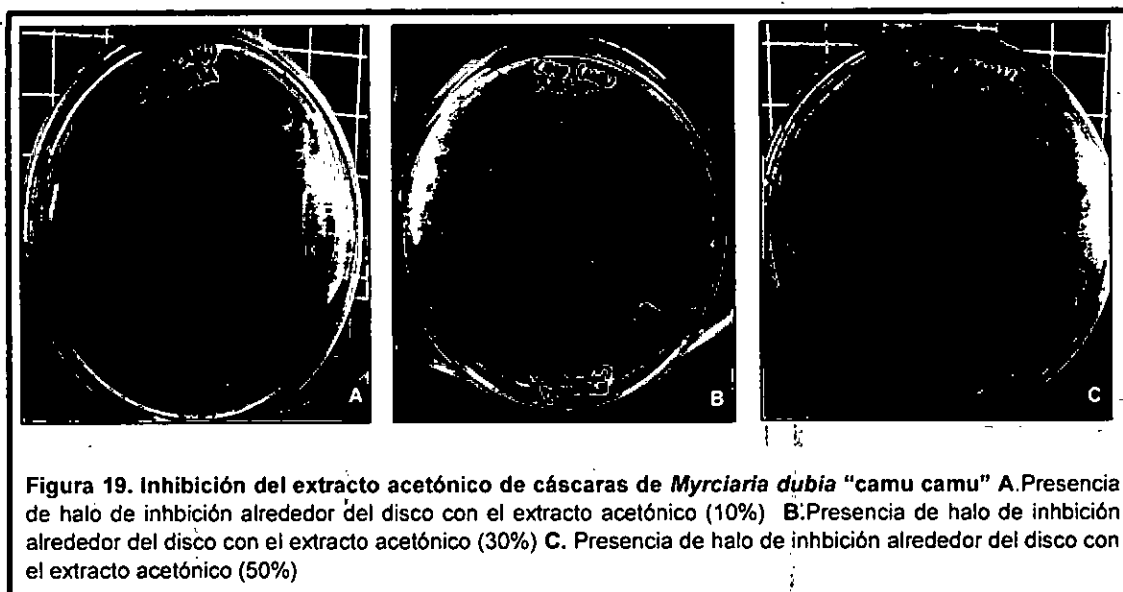


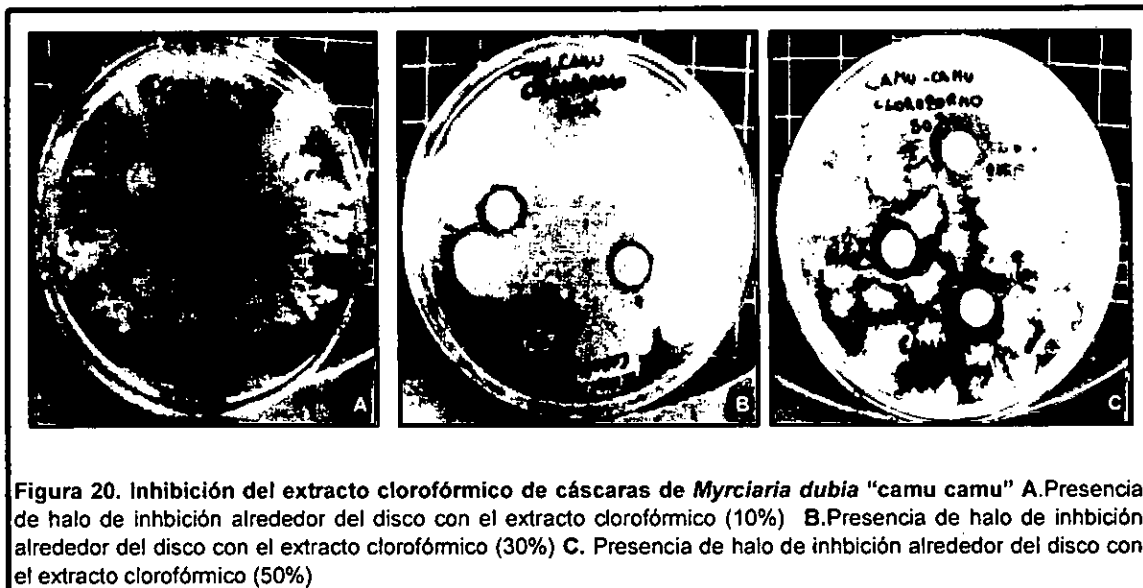
Figura 19. Inhibición del extracto acetónico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" A. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto acetónico (10%) B. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto acetónico (30%) C. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto acetónico (50%)

TABLA 5.3.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto clorofórmico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i>				
Número de repeticiones	Concentración del extracto clorofórmico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	5	12	14	-
2	6	14	15	-
3	7	15	16	-
Promedio	6	13.67	15	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Inactiva	Activo	Activo	-

En la Figura 20. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora* a las concentraciones ensayadas del extracto clorofórmico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu".



Finalmente podemos concluir que las zonas en torno a los discos impregnados con crecimiento bacteriano oscilaron entre 10 y 20 mm de diámetro. Las cepas de *Erwinia carotovora subsp carotovora* con los extractos acetónicos de cáscaras de camu camu mostraron los valores más altos de inhibición.

#### 5.1.1 Análisis Estadístico de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre la inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Con los resultados del apartado anterior, se procedió el respectivo tratamiento estadístico, los mismos que serán mostrados a través de cuadros y gráficos analizados en función a la hipótesis planteada, presentando los valores calculados y el nivel de probabilidad establecido.

En la tabla 5.4 se observa que el nivel de significación de los niveles del factor y de su interacción es menor a 0.05, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir,



existen diferencias significativas entre los extractos analizados y los tamaños de los halos de inhibición.

TABLA 5.4.

Análisis de Varianza para evaluar los bloques (diámetros de halos inhibitorios) y los tratamientos (actividad inhibitoria de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu") sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

ANOVA de un factor					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	523,185	8	65,398	37,569	,000
Intra-grupos	31,333	18	1,741		
Total	554,519	26			

A continuación la tabla 5.5, muestra, para cada grupo y para el total muestral, el número de casos, la media, la desviación típica, el error típico de la media, los límites del intervalo de confianza para la media al 95% y los valores mínimo y máximo.

TABLA 5.5.

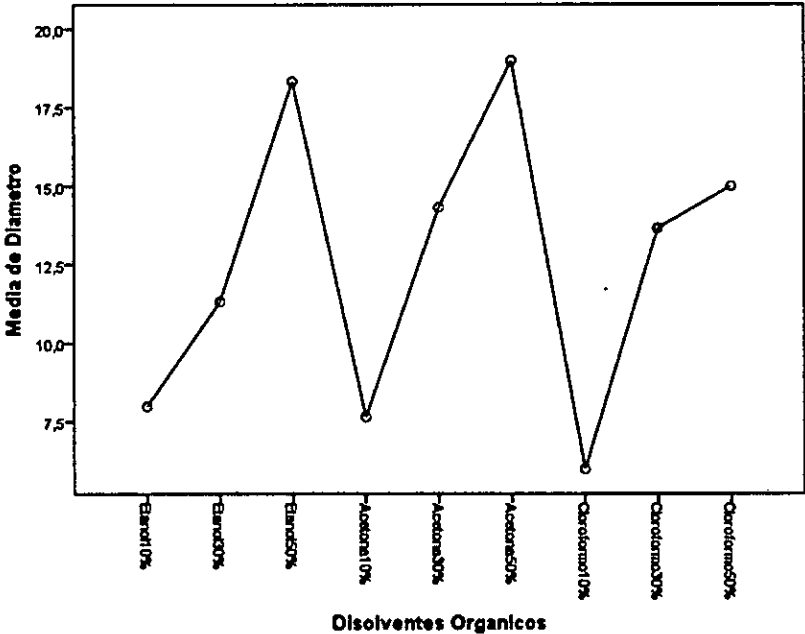
Tabla de estadísticos descriptivos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

Descriptivos

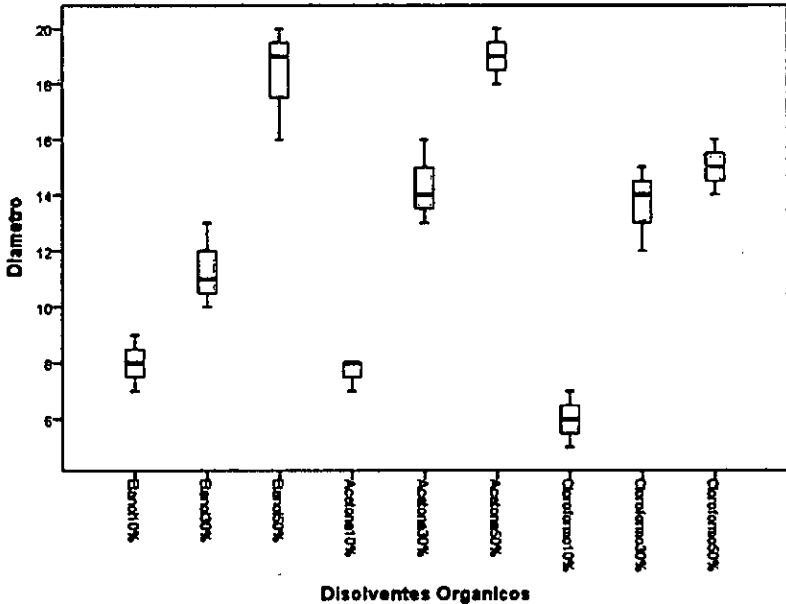
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Etanol10%	3	8,00	1,000	,577	5,52	10,48	7	9
Etanol30%	3	11,33	1,528	,882	7,54	15,13	10	13
Etanol50%	3	18,33	2,082	1,202	13,16	23,50	16	20
Acetona10%	3	7,67	,577	,333	6,23	9,10	7	8
Acetona30%	3	14,33	1,528	,882	10,54	18,13	13	16
Acetona50%	3	19,00	1,000	,577	16,52	21,48	18	20
Cloroformo10%	3	6,00	1,000	,577	3,52	8,48	5	7
Cloroformo30%	3	13,67	1,528	,882	9,87	17,46	12	15
Cloroformo50%	3	15,00	1,000	,577	12,52	17,48	14	16
Total	27	12,59	4,618	,889	10,77	14,42	5	20

Por su parte el Grafico 1 y 2 observamos la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

**GRAFICO 1.** Medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*



**GRAFICO 2.** Gráficos de caja. Describiendo la distribución de la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*



Por último en la tabla 5.6, se muestra la prueba de comparación de medias de Tukey entre extractos; concluyendo que el extracto clorofórmico presenta menor efecto inhibitor, pues presentan los menores promedios de tamaño del halo; no obstante los extractos acetónico y etanólico presentan tamaños de halo progresivamente superiores, con diferencias significativas entre sí.

TABLA 5.6.

Prueba de Tukey de acuerdo al diámetro del halo inhibitorio en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

HSD de Tukey

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Etanol10%	Etanol30%	-3,333	1,077	,109	-7,11	,44
	Etanol50%	-10,333*	1,077	,000	-14,11	-6,56
	Acetona10%	,333	1,077	1,000	-3,44	4,11
	Acetona30%	-6,333*	1,077	,000	-10,11	-2,56
	Acetona50%	-11,000*	1,077	,000	-14,77	-7,23
	Cloroforno10%	2,000	1,077	,648	-1,77	5,77
	Cloroforno30%	-5,667*	1,077	,001	-9,44	-1,89
Etanol30%	Etanol10%	3,333	1,077	,109	-,44	7,11
	Etanol50%	-7,000	1,077	,000	-10,77	-3,23
	Acetona10%	3,667	1,077	,061	-,11	7,44
	Acetona30%	-3,000	1,077	,187	-6,77	,77
	Acetona50%	-7,667	1,077	,000	-11,44	-3,89
	Cloroforno10%	5,333	1,077	,003	1,56	9,11
	Cloroforno30%	-2,333	1,077	,464	-6,11	1,44
Etanol50%	Etanol10%	10,333	1,077	,000	6,56	14,11
	Etanol30%	7,000	1,077	,000	3,23	10,77
	Acetona10%	10,667	1,077	,000	6,89	14,44
	Acetona30%	4,000	1,077	,033	,23	7,77
	Acetona50%	-,667	1,077	,999	-4,44	3,11
	Cloroforno10%	12,333	1,077	,000	8,56	16,11
	Cloroforno30%	4,667	1,077	,009	,89	8,44
Acetona10%	Etanol10%	-,333	1,077	1,000	-4,11	3,44
	Etanol30%	-3,667	1,077	,061	-7,44	,11
	Etanol50%	-10,667	1,077	,000	-14,44	-6,89
	Acetona30%	-6,667	1,077	,000	-10,44	-2,89
	Acetona50%	-11,333	1,077	,000	-15,11	-7,56

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Acetona10%	Cloroformo10%	1,667	1,077	,820	-2,11	5,44
	Cloroformo30%	-6,000*	1,077	,001	-9,77	-2,23
	Cloroformo50%	-7,333*	1,077	,000	-11,11	-3,56
Acetona30%	Etanol10%	6,333*	1,077	,000	2,56	10,11
	Etanol30%	3,000	1,077	,187	-,77	6,77
	Etanol50%	-4,000*	1,077	,033	-7,77	-,23
	Acetona10%	6,667*	1,077	,000	2,89	10,44
	Acetona50%	-4,667*	1,077	,009	-8,44	-,89
	Cloroformo10%	8,333*	1,077	,000	4,56	12,11
	Cloroformo30%	,667	1,077	,999	-3,11	4,44
	Cloroformo50%	-,667	1,077	,999	-4,44	3,11
	Acetona50%	Etanol10%	11,000*	1,077	,000	7,23
Etanol30%		7,667*	1,077	,000	3,89	11,44
Etanol50%		,667	1,077	,999	-3,11	4,44
Acetona10%		11,333*	1,077	,000	7,56	15,11
Acetona30%		4,667*	1,077	,009	,89	8,44
Cloroformo10%		13,000*	1,077	,000	9,23	16,77
Cloroformo30%		5,333*	1,077	,003	1,56	9,11
Cloroformo10%	Cloroformo50%	4,000*	1,077	,033	,23	7,77
	Etanol10%	-2,000	1,077	,648	-5,77	1,77
	Etanol30%	-5,333*	1,077	,003	-9,11	-1,56
	Etanol50%	-12,333*	1,077	,000	-16,11	-8,56
	Acetona10%	-1,667	1,077	,820	-5,44	2,11
	Acetona30%	-8,333*	1,077	,000	-12,11	-4,56
	Acetona50%	-13,000*	1,077	,000	-16,77	-9,23
	Cloroformo30%	-7,667*	1,077	,000	-11,44	-3,89
Cloroformo30%	Cloroformo50%	-9,000*	1,077	,000	-12,77	-5,23
	Etanol10%	5,667*	1,077	,001	1,89	9,44
	Etanol30%	2,333	1,077	,464	-1,44	6,11
	Etanol50%	-4,667*	1,077	,009	-8,44	-,89
	Acetona10%	6,000*	1,077	,001	2,23	9,77
	Acetona30%	-,667	1,077	,999	-4,44	3,11
	Acetona50%	-5,333*	1,077	,003	-9,11	-1,56
	Cloroformo10%	7,667*	1,077	,000	3,89	11,44
Cloroformo50%	Cloroformo30%	-1,333	1,077	,937	-5,11	2,44
	Etanol10%	7,000*	1,077	,000	3,23	10,77
	Etanol30%	3,667	1,077	,061	-,11	7,44
	Etanol50%	-3,333	1,077	,109	-7,11	,44
	Acetona10%	7,333*	1,077	,000	3,56	11,11
	Acetona30%	,667	1,077	,999	-3,11	4,44
	Acetona50%	-4,000*	1,077	,033	-7,77	-,23
	Cloroformo10%	9,000*	1,077	,000	5,23	12,77
Cloroformo30%	1,333	1,077	,937	-2,44	5,11	

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

En ocasiones la prueba de Tukey puede resultar compleja de interpretar y por ello resulta más cómoda de interpretar la salida de la Tabla 5.7, donde se obtiene un cuadro resumen de los subgrupos de medias homogéneas. Las medias que figuran en una misma columna del cuadro forman un subconjunto homogéneo, esto es, cualquier par de ellas no son significativamente diferentes. De hecho, la significación que aparece a pie de columna reproduce el menor nivel crítico encontrado entre todas las comparaciones a pares de medias del subgrupo.

TABLA 5.7.

Tabla de Subgrupos Homogéneos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*. Según Test de Tukey.

HSD de Tukey

Disolventes Orgánicos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Cloroformo10%	3	6,00				
Acetona10%	3	7,67	7,67			
Etanol10%	3	8,00	8,00			
Etanol30%	3		11,33	11,33		
Cloroformo30%	3			13,67		
Acetona30%	3			14,33		
Cloroformo50%	3			15,00	15,00	
Etanol50%	3				18,33	18,33
Acetona50%	3					19,00
Sig.		,648	,061	,061	,109	,999

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

## 5.2 Evaluación de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre la inhibición del crecimiento de *Pseudomonas cichorii*.

En cuanto al crecimiento de *Pseudomonas cichorii*, en las cajas petri, se pudo observar que el tratamiento con extracto etanólico (50%) (Tabla 5.8) de cáscaras de camu camu tuvieron mayor inhibición durante el tercer día de observación, seguido por el extracto acetónico (50%) (Tabla 5.9), y finalmente el extracto clorofórmico (50%) (Tabla 5.10).

TABLA 5.8.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto etanólico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Pseudomona cichorii</i>				
Número de repeticiones	Concentración del extracto etanólico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	4	18	22	-
2	5	17	18	-
3	7	15	20	-
Promedio	5.33	16.67	20	-

Alves y otros (2000)	Inactiva	Activo	Muy Activo
----------------------	----------	--------	------------

En la Figura 21. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Pseudomona cichorii* a las concentraciones ensayadas del extracto etanólico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu".

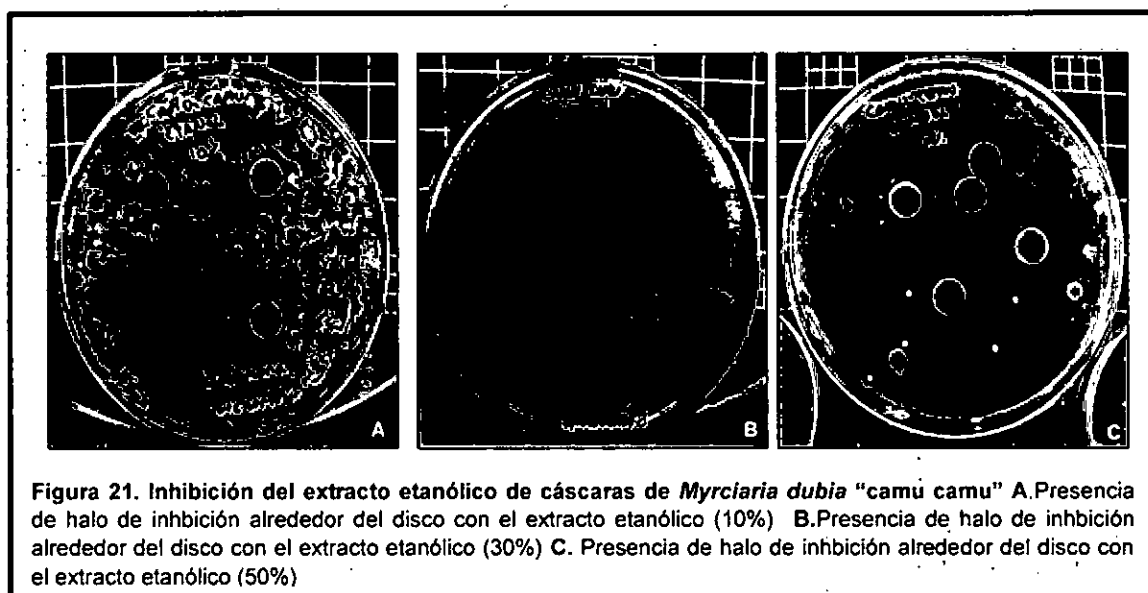


TABLA 5.9.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto acetónico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Pseudomona cichorii</i>				
Número de repeticiones	Concentración del extracto acetónico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	10	16	19	-
2	8	16	20	-
3	11	18	19	-
<b>Promedio</b>	<b>9.67</b>	<b>16.67</b>	<b>19.33</b>	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Parcialmente activa	Activo	Muy Activo	-

En la Figura 22. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Pseudomona cichorii* a las concentraciones ensayadas del extracto acetónico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu".

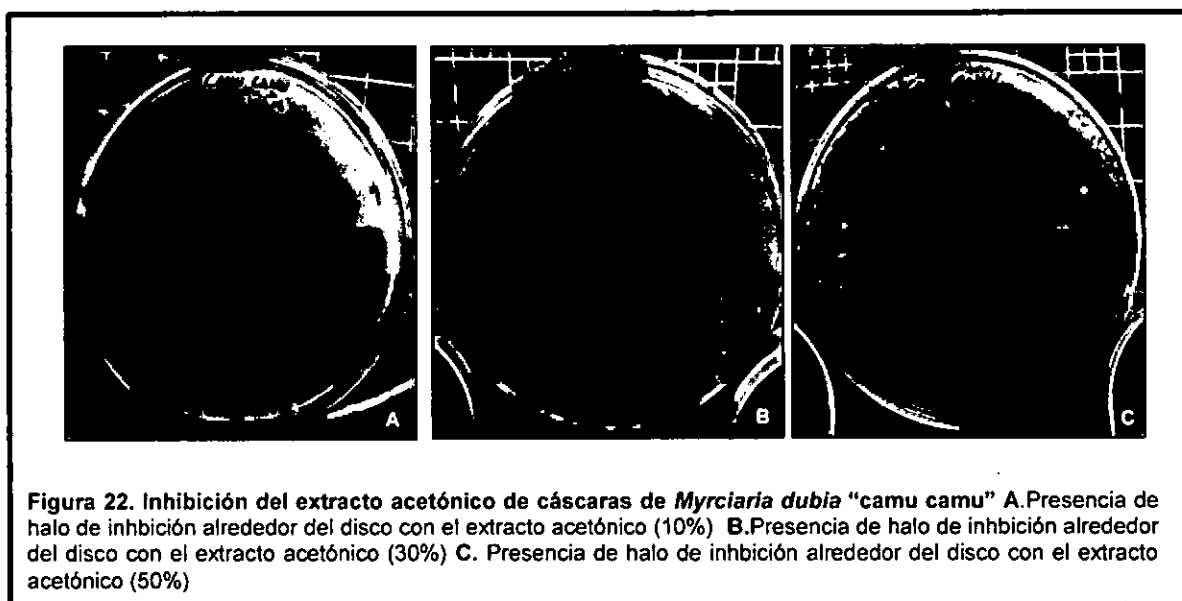
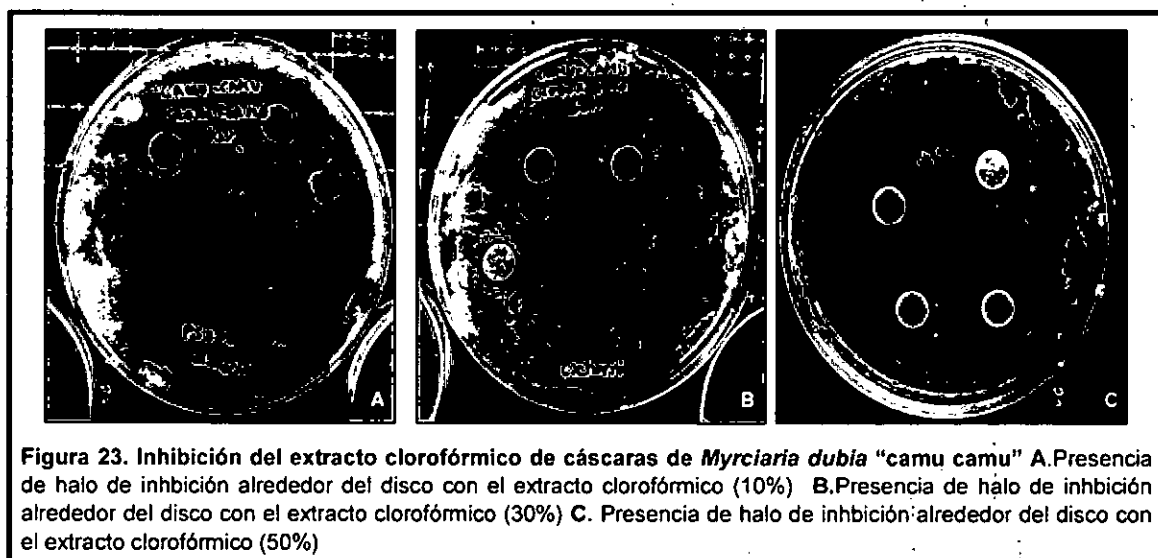


TABLA 5.10.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto clorofórmico de cáscaras *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Pseudomona cichorii</i>				
Número de repeticiones	Concentración del extracto clorofórmico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> "camu camu"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	7	10	17	-
2	9	13	18	-
3	9	11	20	-
Promedio	8.33	11.33	18.33	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Inactiva	Parcialmente Activa	Muy Activo	-

En la Figura 23. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Pseudomona cichorii* a las concentraciones ensayadas del extracto clorofórmico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu".



Finalmente las zonas en torno a los discos impregnados con crecimiento bacteriano oscilaron entre 11 y 22 mm de diámetro. Las cepas de *Pseudomona cichorii* con los



extractos etanólicos de cáscaras de camu camu mostraron valores altos de inhibición.

### 5.2.1 Análisis Estadístico de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre la inhibición del crecimiento de *Pseudomona cichorii*.

Los resultados nos muestran que la tabla 5.11 el nivel de significación para los efectos de los niveles del factor y de su interacción es menor a 0.05, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir, existen diferencias significativas de los tamaños de los halos de inhibición entre los extractos analizados.

TABLA 5.11.

Análisis de Varianza para evaluar los bloques (diámetros de halos inhibitorios) y los tratamientos (actividad inhibitoria de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu") sobre *Pseudomona cichorii*.

**ANOVA de un factor**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	691,630	8	86,454	41,683	,000
Intra-grupos	37,333	18	2,074		
Total	728,963	26			

En la tabla 5.12, muestra, para cada grupo y para el total muestral, el número de casos, la media, la desviación típica, el error típico de la media, los límites del intervalo de confianza para la media al 95% y los valores mínimo y máximo.

TABLA 5.12.

Tabla de estadísticos descriptivos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

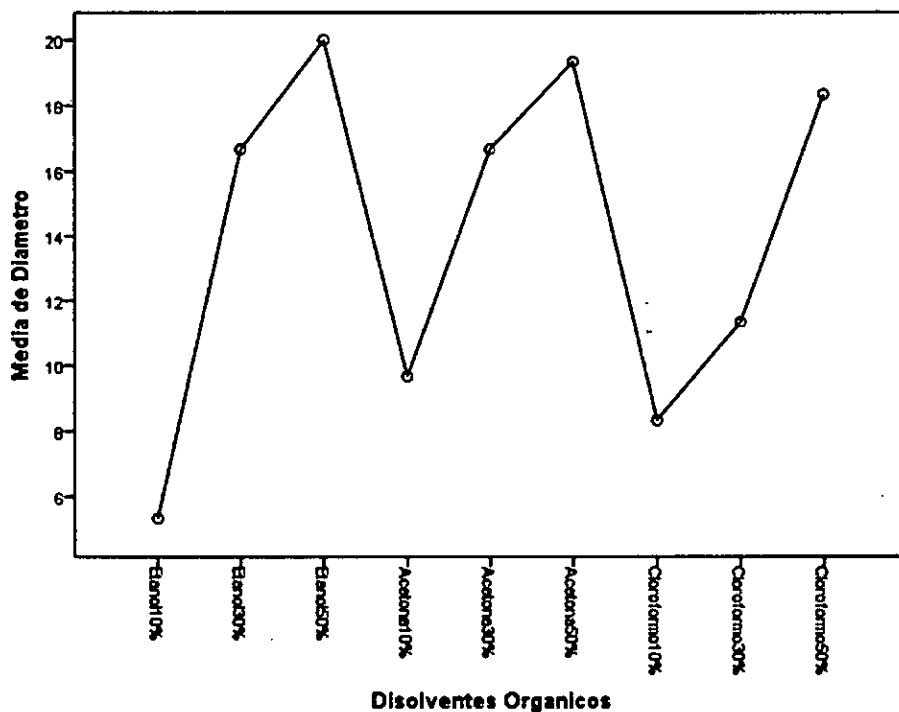
**Descriptivos**

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Etanol10%	3	5,33	1,528	,882	1,54	9,13	4	7

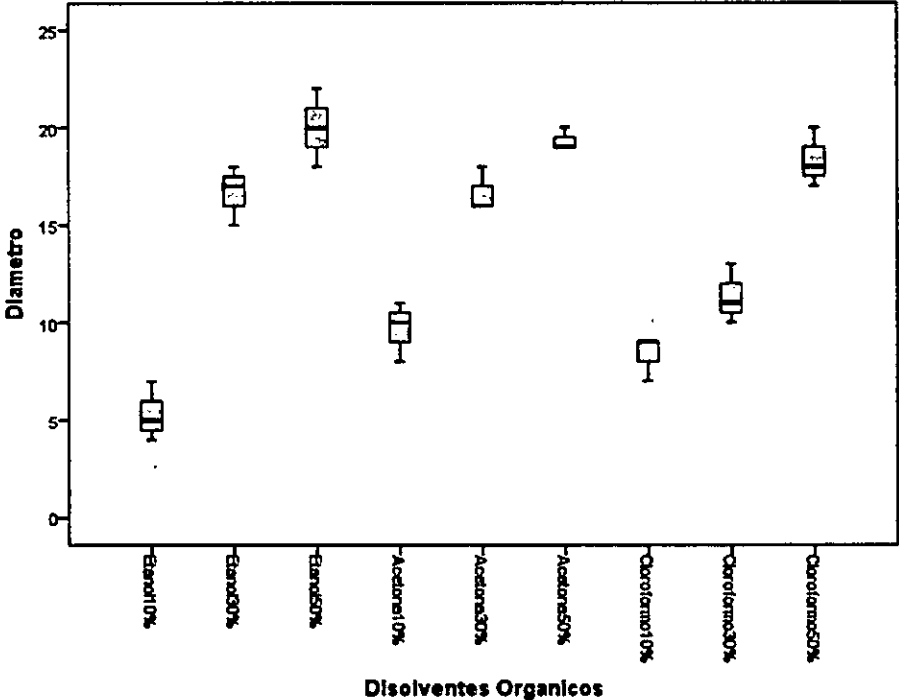
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Etanol30%	3	16,67	1,528	,882	12,87	20,46	15	18
Etanol50%	3	20,00	2,000	1,155	15,03	24,97	18	22
Acetona10%	3	9,67	1,528	,882	5,87	13,46	8	11
Acetona30%	3	16,67	1,155	,667	13,80	19,54	16	18
Acetona50%	3	19,33	,577	,333	17,90	20,77	19	20
Cloroformo10%	3	8,33	1,155	,667	5,46	11,20	7	9
Cloroformo30%	3	11,33	1,528	,882	7,54	15,13	10	13
Cloroformo50%	3	18,33	1,528	,882	14,54	22,13	17	20
Total	27	13,96	5,295	1,019	11,87	16,06	4	22

Por su parte el Grafico 3 y 4 observamos la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

**GRAFICO 3.** Medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.



**GRAFICO 4.** Gráficos de caja. Describiendo la distribución de la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.



Por último en la tabla 5.13, se muestra la prueba de comparación de medias de Tukey entre extractos; concluyendo que el extracto clorofórmico presenta menor efecto inhibitorio, pues presentan los menores promedios de tamaño del halo; no obstante los extractos etanólico seguido por el extracto acetónico presentan tamaños de halo progresivamente superiores, con diferencias significativas entre sí.

**TABLA 5.13.**

Prueba de Tukey de acuerdo al diámetro del halo inhibitorio en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomona cichorii*.

HSD de Tukey

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Etanol10%	Etanol30%	-11,333*	1,176	,000	-15,45	-7,21
	Etanol50%	-14,667*	1,176	,000	-18,79	-10,55
	Acetona10%	-4,333*	1,176	,035	-8,45	-.21

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Etanol10%	Acetona30%	-11,333'	1,176	,000	-15,45	-7,21
	Acetona50%	-14,000'	1,176	,000	-18,12	-9,88
	Clorofomo10%	-3,000	1,176	,272	-7,12	1,12
	Clorofomo30%	-6,000'	1,176	,002	-10,12	-1,88
	Clorofomo50%	-13,000'	1,176	,000	-17,12	-8,88
	Clorofomo30%	8,000'	1,176	,000	3,88	12,12
	Clorofomo50%	1,000	1,176	,993	-3,12	5,12
Etanol30%	Etanol10%	11,333'	1,176	,000	7,21	15,45
	Etanol50%	-3,333	1,176	,172	-7,45	,79
	Acetona10%	7,000'	1,176	,000	2,88	11,12
	Acetona30%	,000	1,176	1,000	-4,12	4,12
	Acetona50%	-2,667	1,176	,408	-6,79	1,45
	Clorofomo10%	8,333'	1,176	,000	4,21	12,45
	Clorofomo30%	5,333'	1,176	,006	1,21	9,45
Etanol50%	Clorofomo50%	-1,667	1,176	,877	-5,79	2,45
	Etanol10%	14,667'	1,176	,000	10,55	18,79
	Etanol30%	3,333	1,176	,172	-,79	7,45
	Acetona10%	10,333'	1,176	,000	6,21	14,45
	Acetona30%	3,333	1,176	,172	-,79	7,45
Etanol50%	Acetona50%	,667	1,176	1,000	-3,45	4,79
	Clorofomo10%	11,667'	1,176	,000	7,55	15,79
	Clorofomo30%	8,667'	1,176	,000	4,55	12,79
Acetona10%	Clorofomo50%	1,667	1,176	,877	-2,45	5,79
	Etanol10%	4,333'	1,176	,035	,21	8,45
	Etanol30%	-7,000'	1,176	,000	-11,12	-2,88
	Etanol50%	-10,333'	1,176	,000	-14,45	-6,21
	Acetona30%	-7,000'	1,176	,000	-11,12	-2,88
	Acetona50%	-9,667'	1,176	,000	-13,79	-5,55
	Clorofomo10%	1,333	1,176	,961	-2,79	5,45
Acetona30%	Clorofomo30%	-1,667	1,176	,877	-5,79	2,45
	Clorofomo50%	-8,667'	1,176	,000	-12,79	-4,55
	Etanol10%	11,333'	1,176	,000	7,21	15,45
	Etanol30%	,000	1,176	1,000	-4,12	4,12
	Etanol50%	-3,333	1,176	,172	-7,45	,79
	Acetona10%	7,000'	1,176	,000	2,88	11,12
	Acetona50%	-2,667	1,176	,408	-6,79	1,45
Acetona50%	Clorofomo10%	8,333'	1,176	,000	4,21	12,45
	Clorofomo30%	5,333'	1,176	,006	1,21	9,45
	Clorofomo50%	-1,667	1,176	,877	-5,79	2,45
	Etanol10%	14,000'	1,176	,000	9,88	18,12
	Etanol30%	2,667	1,176	,408	-1,45	6,79
Acetona50%	Etanol50%	-,667	1,176	1,000	-4,79	3,45
	Acetona10%	9,667'	1,176	,000	5,55	13,79
	Acetona30%	2,667	1,176	,408	-1,45	6,79
Acetona50%	Clorofomo10%	11,000'	1,176	,000	6,88	15,12

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Acetona50%	Cloroformo30%	8,000*	1,176	,000	3,88	12,12
	Cloroformo50%	1,000	1,176	,993	-3,12	5,12
Cloroformo10%	Etanol10%	3,000	1,176	,272	-1,12	7,12
	Etanol30%	-8,333*	1,176	,000	-12,45	-4,21
	Etanol50%	-11,667*	1,176	,000	-15,79	-7,55
	Acetona10%	-1,333	1,176	,961	-5,45	2,79
	Acetona30%	-8,333*	1,176	,000	-12,45	-4,21
	Acetona50%	-11,000*	1,176	,000	-15,12	-6,88
	Cloroformo30%	-3,000	1,176	,272	-7,12	1,12
	Cloroformo50%	-10,000*	1,176	,000	-14,12	-5,88
Cloroformo30%	Etanol10%	6,000*	1,176	,002	1,88	10,12
	Etanol30%	-5,333*	1,176	,006	-9,45	-1,21
	Etanol50%	-8,667*	1,176	,000	-12,79	-4,55
	Acetona10%	1,667	1,176	,877	-2,45	5,79
	Acetona30%	-5,333*	1,176	,006	-9,45	-1,21
	Acetona50%	-8,000*	1,176	,000	-12,12	-3,88
Cloroformo30%	Cloroformo10%	3,000	1,176	,272	-1,12	7,12
	Cloroformo50%	-7,000*	1,176	,000	-11,12	-2,88
Cloroformo50%	Etanol10%	13,000*	1,176	,000	8,88	17,12
	Etanol30%	1,667	1,176	,877	-2,45	5,79
	Etanol50%	-1,667	1,176	,877	-5,79	2,45
	Acetona10%	8,667*	1,176	,000	4,55	12,79
	Acetona30%	1,667	1,176	,877	-2,45	5,79
	Acetona50%	-1,000	1,176	,993	-5,12	3,12
	Cloroformo10%	10,000*	1,176	,000	5,88	14,12
	Cloroformo30%	7,000*	1,176	,000	2,88	11,12

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

En ocasiones el detalle pormenorizado (comparación a comparación) puede resultar complejo de interpretar y por ello resulta más cómoda de interpretar la salida de la Tabla 5.14, donde se obtiene un cuadro resumen de los subgrupos de medias homogéneos.

TABLA 5.14.

Tabla de Subgrupos Homogéneos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" sobre *Pseudomonas cichorii*. Según Test de Tukey.

HSD de Tukey

Disolventes Orgánicos	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
Etanol10%	3	5,33		
Cloroformo10%	3	8,33	8,33	
Acetona10%	3		9,67	
Cloroformo30%	3		11,33	
Etanol30%	3			16,67
Acetona30%	3			16,67
Cloroformo50%	3			18,33
Acetona50%	3			19,33
Etanol50%	3			20,00
Sig.		,272	,272	,172

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

### 5.3 Evaluación de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre la inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora*

Cuando se probaron los extractos de cáscaras de carambola se pudo apreciar que los tratamientos de extractos acetónicos (50%) (Tabla 5.16) de cáscaras de carambola y los extractos acetónicos (30%) difieren del resto por tener una mayor efectividad contra la *Erwinia carotovora subsp carotovora* ya que muestran 100% de inhibición.

TABLA 5.15.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto etanólico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i>				
Número de repeticiones	Concentración del extracto etanólico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	6	7	10	-
2	8	7	11	-
3	6	10	12	-
<b>Promedio</b>	<b>6.67</b>	<b>8</b>	<b>11</b>	-

Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Inactiva	Inactiva	Parcialmente Activa
------------------------------------	----------	----------	---------------------

En la Figura 24. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora* a las concentraciones ensayadas del extracto etanólico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola".

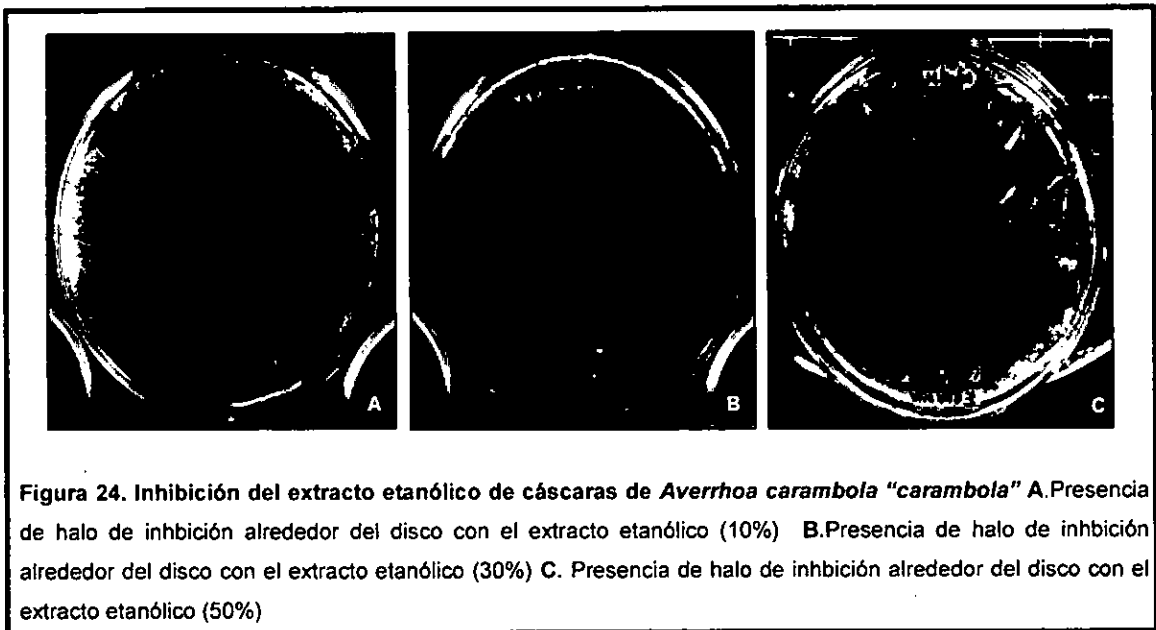


Figura 24. Inhibición del extracto etanólico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" A.Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto etanólico (10%) B.Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto etanólico (30%) C. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto etanólico (50%)

TABLA 5.16.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto acetónico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i>				
Número de repeticiones	Concentración del extracto acetónico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	9	15	18	-
2	6	18	17	-
3	10	18	19	-
<b>Promedio</b>	<b>8.33</b>	<b>17</b>	<b>18</b>	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Inactiva	Activo	Activo	-

En la Figura 25. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora* a las concentraciones ensayadas del extracto acetónico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola".



Figura 25. Inhibición del extracto acetónico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola"

A. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto acetónico (10%) B. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto acetónico (30%) C. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto acetónico (50%)



TABLA 5.17.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto clorofórmico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i>				
Número de repeticiones	Concentración del extracto clorofórmico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	5	8	11	-
2	7	8	9	-
3	8	11	15	-
Promedio	6.67	9	11.67	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Inactiva	Parcialmente activa	Parcialmente activa	-

En la Figura 26. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora* a las concentraciones ensayadas del extracto clorofórmico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola".

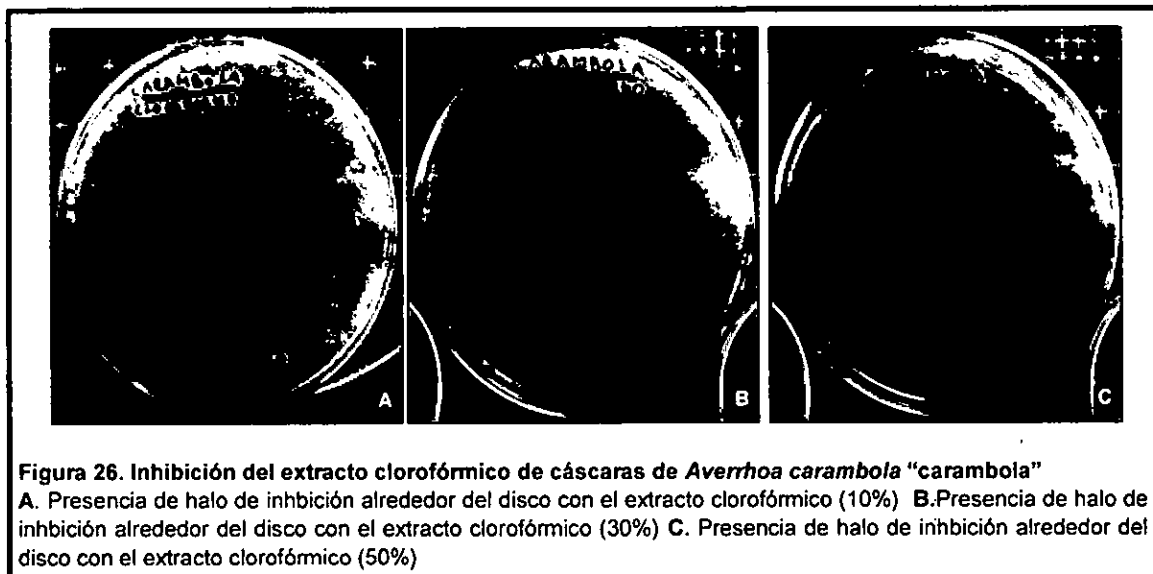


Figura 26. Inhibición del extracto clorofórmico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola"

A. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto clorofórmico (10%) B. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto clorofórmico (30%) C. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto clorofórmico (50%)

Finalmente las zonas en torno a los discos impregnados con crecimiento bacteriano oscilaron entre 15 y 20 mm de diámetro. Las cepas de *Erwinia carotovora subsp*

*carotovora* con los extractos acetónicos (30% y 50%) de cáscaras de carambola mostraron valores altos de inhibición.

### 5.3.1 Análisis Estadístico de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre la inhibición del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

Los resultados nos muestran que la tabla 5.18 el nivel de significación para los efectos de los niveles del factor y de su interacción es menor a 0.05, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir, existen diferencias significativas de los tamaños de los halos de inhibición entre los extractos analizados

**TABLA 5.18.**

Análisis de Varianza para evaluar los bloques (diámetros de halos inhibitorios) y los tratamientos (actividad inhibitoria de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

**ANOVA de un factor**

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	426,963	8	53,370	16,953	,000
Intra-grupos	56,667	18	3,148		
Total	483,630	26			

En la tabla 5.19, muestra, para cada grupo y para el total muestral, el número de casos, la media, la desviación típica, el error típico de la media, los límites del intervalo de confianza para la media al 95% y los valores mínimo y máximo.

**TABLA 5.19.**

Tabla de estadísticos descriptivos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

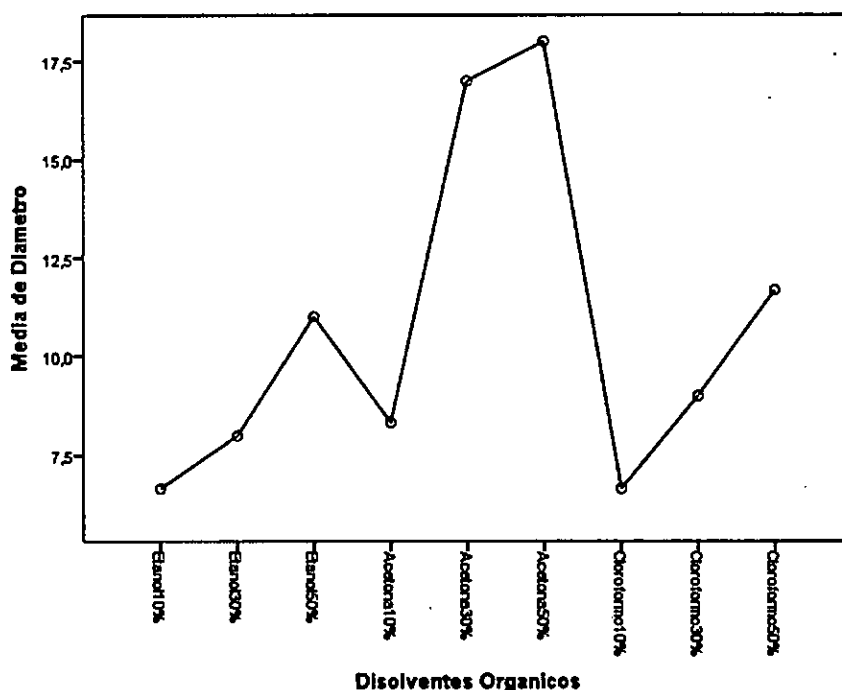
**Descriptivos**

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Etanol10%	3	6,67	1,155	,667	3,80	9,54	6	8

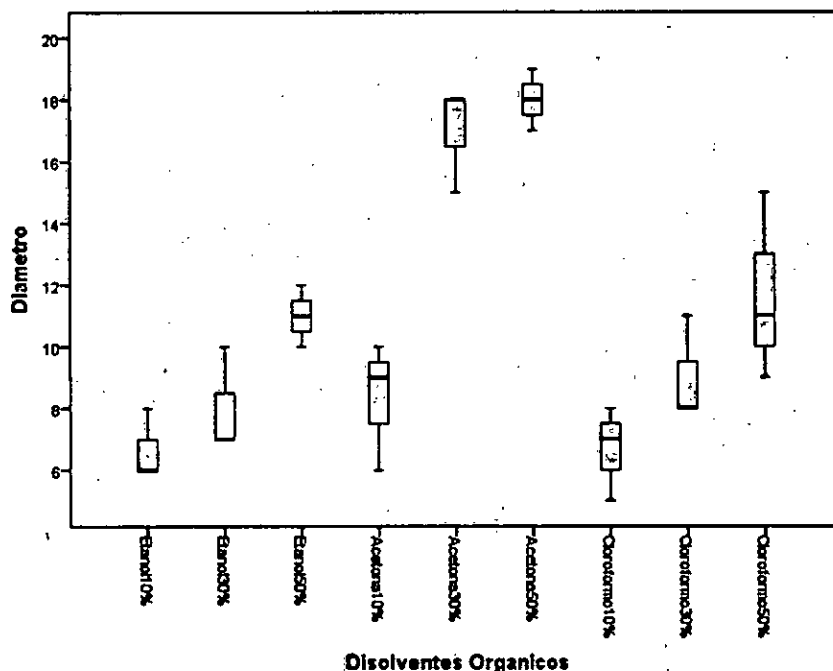
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Etolanol30%	3	8,00	1,732	1,000	3,70	12,30	7	10
Etolanol50%	3	11,00	1,000	,577	8,52	13,48	10	12
Acetona10%	3	8,33	2,082	1,202	3,16	13,50	6	10
Acetona30%	3	17,00	1,732	1,000	12,70	21,30	15	18
Acetona50%	3	18,00	1,000	,577	15,52	20,48	17	19
Cloroformo10%	3	6,67	1,528	,882	2,87	10,46	5	8
Cloroformo30%	3	9,00	1,732	1,000	4,70	13,30	8	11
Cloroformo50%	3	11,67	3,055	1,764	4,08	19,26	9	15
Total	27	10,70	4,313	,830	9,00	12,41	5	19

Por su parte el Grafico 5 y 6 observamos la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

**GRAFICO 5.** Medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*



**GRAFICO 6.** Gráficos de caja. Describiendo la distribución de la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*



Por último en la tabla 5.20, se muestra la prueba de comparación de medias de Tukey entre extractos; concluyendo que los tratamientos de extractos acetónicos (50%) de cáscaras de carambola y los extractos acetónicos (30%) , presentan los mayores promedios de tamaño del halo.

**TABLA 5.20.**

Prueba de Tukey de acuerdo al diámetro del halo inhibitorio en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*.

HSD de Tukey

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Etanol10%	Etanol30%	-1,333	1,449	,989	-6,41	3,74
	Etanol50%	-4,333	1,449	,131	-9,41	,74
	Acetona10%	-1,667	1,449	,957	-6,74	3,41
	Acetona30%	-10,333*	1,449	,000	-15,41	-5,26
	Acetona50%	-11,333*	1,449	,000	-16,41	-6,26
	Cloroforno10%	,000	1,449	1,000	-5,08	5,08

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Etanol10%	Cloroformo30%	-2,333	1,449	,788	-7,41	2,74
	Cloroformo50%	-5,000	1,449	,055	-10,08	,08
Etanol30%	Etanol10%	1,333	1,449	,989	-3,74	6,41
	Etanol50%	-3,000	1,449	,519	-8,08	2,08
	Acetona10%	-,333	1,449	1,000	-5,41	4,74
	Acetona30%	-9,000 <sup>*</sup>	1,449	,000	-14,08	-3,92
	Acetona50%	-10,000 <sup>*</sup>	1,449	,000	-15,08	-4,92
	Cloroformo10%	1,333	1,449	,989	-3,74	6,41
	Cloroformo30%	-1,000	1,449	,998	-6,08	4,08
	Cloroformo50%	-3,667	1,449	,280	-8,74	1,41
Etanol50%	Etanol10%	4,333	1,449	,131	-,74	9,41
	Etanol30%	3,000	1,449	,519	-2,08	8,08
	Acetona10%	2,667	1,449	,658	-2,41	7,74
	Acetona30%	-6,000 <sup>*</sup>	1,449	,014	-11,08	-,92
	Acetona50%	-7,000 <sup>*</sup>	1,449	,003	-12,08	-1,92
	Cloroformo10%	4,333	1,449	,131	-,74	9,41
	Cloroformo30%	2,000	1,449	,891	-3,08	7,08
	Cloroformo50%	-,667	1,449	1,000	-5,74	4,41
Acetona10%	Etanol10%	1,667	1,449	,957	-3,41	6,74
	Etanol30%	,333	1,449	1,000	-4,74	5,41
	Etanol50%	-2,667	1,449	,658	-7,74	2,41
	Acetona30%	-8,667 <sup>*</sup>	1,449	,000	-13,74	-3,59
	Acetona50%	-9,667 <sup>*</sup>	1,449	,000	-14,74	-4,59
	Cloroformo10%	1,667	1,449	,957	-3,41	6,74
	Cloroformo30%	-,667	1,449	1,000	-5,74	4,41
	Cloroformo50%	-3,333	1,449	,390	-8,41	1,74
Acetona30%	Etanol10%	10,333 <sup>*</sup>	1,449	,000	5,26	15,41
	Etanol30%	9,000 <sup>*</sup>	1,449	,000	3,92	14,08
	Etanol50%	6,000 <sup>*</sup>	1,449	,014	,92	11,08
	Acetona10%	8,667 <sup>*</sup>	1,449	,000	3,59	13,74
	Acetona50%	-1,000	1,449	,998	-6,08	4,08
	Cloroformo10%	10,333 <sup>*</sup>	1,449	,000	5,26	15,41
	Cloroformo30%	8,000 <sup>*</sup>	1,449	,001	2,92	13,08
	Cloroformo50%	5,333 <sup>*</sup>	1,449	,035	,26	10,41
Acetona50%	Etanol10%	11,333 <sup>*</sup>	1,449	,000	6,26	16,41
	Etanol30%	10,000 <sup>*</sup>	1,449	,000	4,92	15,08
	Etanol50%	7,000 <sup>*</sup>	1,449	,003	1,92	12,08
	Acetona10%	9,667 <sup>*</sup>	1,449	,000	4,59	14,74
	Acetona30%	1,000	1,449	,998	-4,08	6,08
	Cloroformo10%	11,333 <sup>*</sup>	1,449	,000	6,26	16,41
	Cloroformo30%	9,000 <sup>*</sup>	1,449	,000	3,92	14,08
	Cloroformo50%	6,333 <sup>*</sup>	1,449	,009	1,26	11,41

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Cloroformo10%	Etanol10%	,000	1,449	1,000	-5,08	5,08
	Etanol30%	-1,333	1,449	,989	-6,41	3,74
	Etanol50%	-4,333	1,449	,131	-9,41	,74
	Acetona10%	-1,667	1,449	,957	-6,74	3,41
	Acetona30%	-10,333	1,449	,000	-15,41	-5,26
	Acetona50%	-11,333	1,449	,000	-16,41	-6,26
	Cloroformo30%	-2,333	1,449	,788	-7,41	2,74
	Cloroformo50%	-5,000	1,449	,055	-10,08	,08
Cloroformo30%	Etanol10%	2,333	1,449	,788	-2,74	7,41
	Etanol30%	1,000	1,449	,998	-4,08	6,08
	Etanol50%	-2,000	1,449	,891	-7,08	3,08
	Acetona10%	,667	1,449	1,000	-4,41	5,74
	Acetona30%	-8,000	1,449	,001	-13,08	-2,92
Cloroformo30%	Acetona50%	-9,000	1,449	,000	-14,08	-3,92
	Cloroformo10%	2,333	1,449	,788	-2,74	7,41
	Cloroformo50%	-2,667	1,449	,658	-7,74	2,41
Cloroformo50%	Etanol10%	5,000	1,449	,055	-,08	10,08
	Etanol30%	3,667	1,449	,280	-1,41	8,74
	Etanol50%	,667	1,449	1,000	-4,41	5,74
	Acetona10%	3,333	1,449	,390	-1,74	8,41
	Acetona30%	-5,333	1,449	,035	-10,41	-,26
	Acetona50%	-6,333	1,449	,009	-11,41	-1,26
	Cloroformo10%	5,000	1,449	,055	-,08	10,08
	Cloroformo30%	2,667	1,449	,658	-2,41	7,74

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

En ocasiones el detalle pormenorizado (comparación a comparación) puede resultar complejo de interpretar y por ello resulta más cómoda de interpretar la salida de la Tabla 5.21, donde se obtiene un cuadro resumen de los subgrupos de medias homogéneos.

TABLA 5.21.

Tabla de Subgrupos Homogéneos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora*. Según Test de Tukey.

HSD de Tukey

Disolventes Orgánicos	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Etanol10%	3	6,67	
Cloroformo10%	3	6,67	
Etanol30%	3	8,00	
Acetona10%	3	8,33	
Cloroformo30%	3	9,00	
Etanol50%	3	11,00	
Cloroformo50%	3	11,67	
Acetona30%	3		17,00
Acetona50%	3		18,00
Sig.		,055	,998

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.

#### 5.4 Evaluación de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre la inhibición del crecimiento de *Pseudomonas cichorii*.

Por otra parte los extractos de cáscaras de carambola los cuales se probaron que los tratamientos de extractos etanólicos (50%) (Tabla 5.22) y los extractos clorofórmicos (50%) (Tabla 5.24) difieren del resto por tener una mayor efectividad contra la *Pseudomonas cichorii*.

TABLA 5.22.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto etanólico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Pseudomona cichorii</i> .				
Número de repeticiones	Concentración del extracto etanólico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	4	8	10	-
2	3	9	12	-
3	6	9	10	-
<b>Promedio</b>	<b>4.33</b>	<b>8.67</b>	<b>10.67</b>	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Inactiva	Inactiva	Parcialmente activa	

En la Figura 27. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Pseudomona cichorii* a las concentraciones ensayadas del extracto etanólico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola".

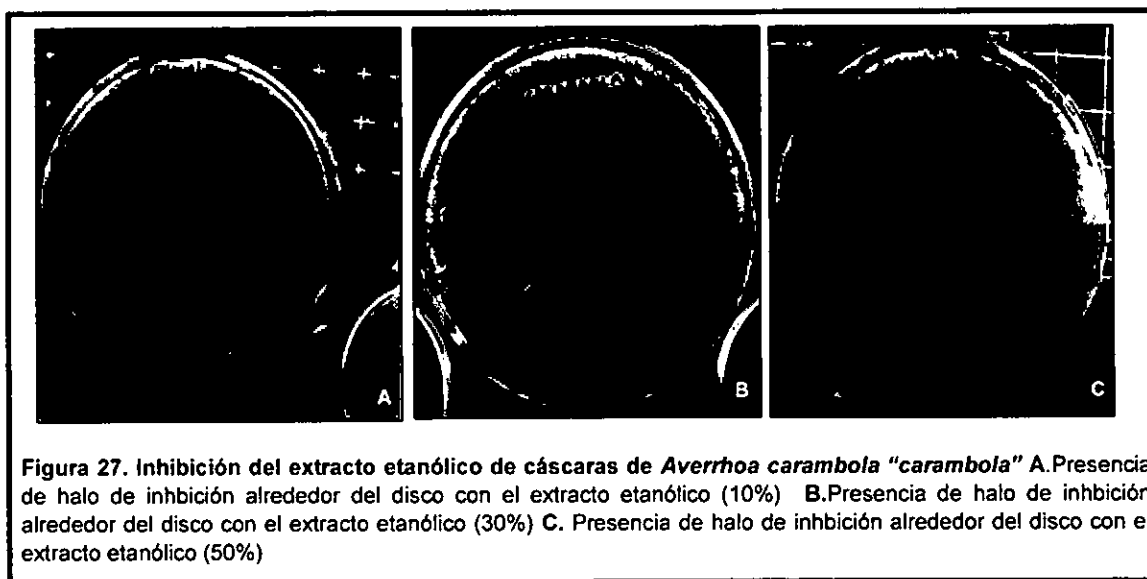


Figura 27. Inhibición del extracto etanólico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" A.Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto etanólico (10%) B.Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto etanólico (30%) C. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto etanólico (50%)



TABLA 5.23.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto acetónico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Pseudomona cichorii</i> .				
Número de repeticiones	Concentración del extracto acetónico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	4	9	9	-
2	6	8	9	-
3	7	9	10	-
<b>Promedio</b>	<b>5.67</b>	<b>8.67</b>	<b>9.33</b>	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Inactiva	Inactiva	Parcialmente activa	-

En la Figura 28. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Pseudomona cichorii* a las concentraciones ensayadas del extracto acetónico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola".

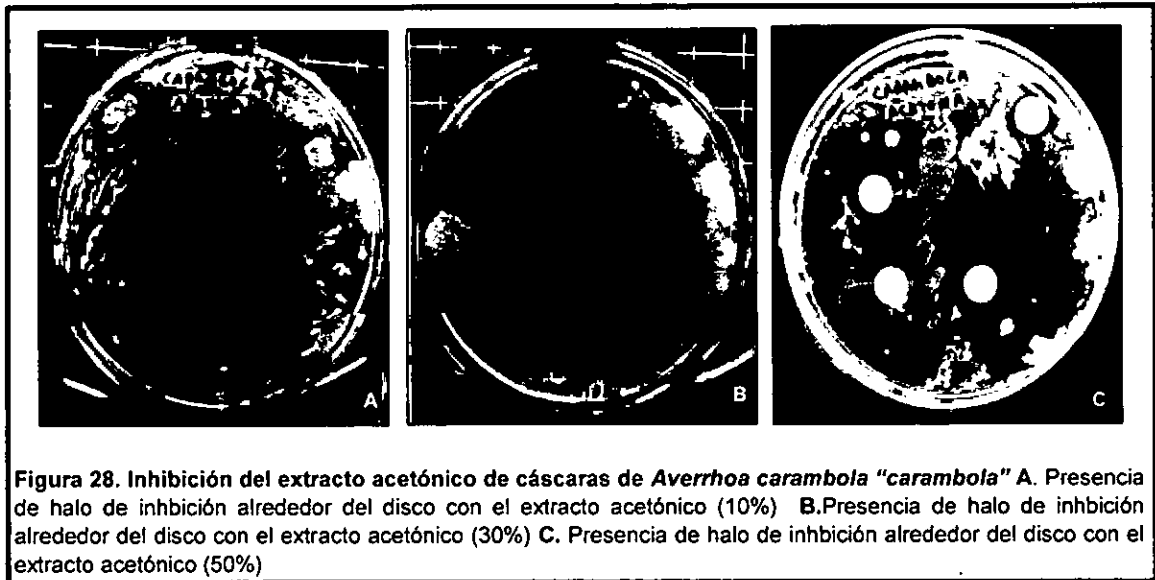


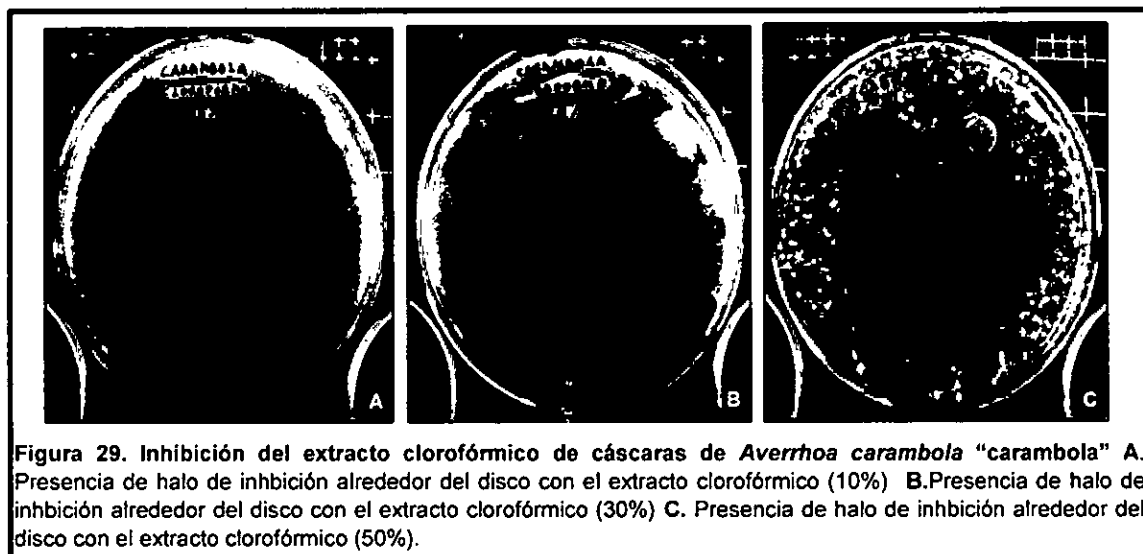
Figura 28. Inhibición del extracto acetónico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" A. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto acetónico (10%) B. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto acetónico (30%) C. Presencia de halo de inhibición alrededor del disco con el extracto acetónico (50%)

TABLA 5.24.

Diámetro de halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones del extracto clorofórmico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.

MEDICIÓN DE LOS HALOS DE INHIBICIÓN (mm) de <i>Pseudomona cichorii</i> .				
Número de repeticiones	Concentración del extracto clorofórmico de cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> "carambola"			Control
	10%	30%	50%	Agua destilada
1	3	7	11	-
2	4	6	13	-
3	4	9	10	-
<b>Promedio</b>	<b>3.67</b>	<b>7.33</b>	<b>11.33</b>	-
Alves y otros, (2000) <sup>7</sup>	Inactiva	Inactiva	Parcialmente activa	-

En la Figura 29. Se presentan los promedios de los halos promedio de inhibición del crecimiento de *Pseudomona cichorii* a las concentraciones ensayadas del extracto clorofórmico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola".



Las zonas en torno a los discos impregnados con crecimiento bacteriano oscilaron entre 8 y 12 mm de diámetro. Las cepas de *Pseudomona cichorii* con los extractos etanólicos (50%) y clorofórmicos (50%) de cáscaras de carambola mostraron valores altos de inhibición.

Finalmente todos nuestros resultados indican que los diferentes compuestos polifenólicos de los extractos de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" y *Averrhoa carambola* "carambola" tienen capacidad antimicrobiana, por lo que es posible la inhibición de las especies bacterianas: *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*.

#### 5.4.1 Análisis Estadístico de la actividad biológica de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre la inhibición del crecimiento de *Pseudomonas cichorii*.

Los resultados nos muestran que la tabla 5.25 el nivel de significación para los efectos de los niveles del factor y de su interacción es menor a 0.05, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, es decir, existen diferencias significativas de los tamaños del halo de inhibición promedio para con los extractos analizados.

TABLA 5.25.

Análisis de Varianza para evaluar los bloques (diámetros de halos inhibitorios) y los tratamientos (actividad inhibitoria de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola") sobre *Pseudomonas cichorii*.

ANOVA de un factor					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	175,185	8	21,898	16,424	,000
Intra-grupos	24,000	18	1,333		
Total	199,185	26			

En la tabla 5.26, muestra, para cada grupo y para el total muestral, el número de casos, la media, la desviación típica, el error típico de la media, los límites del intervalo de confianza para la media al 95% y los valores mínimo y máximo.

TABLA 5.26.

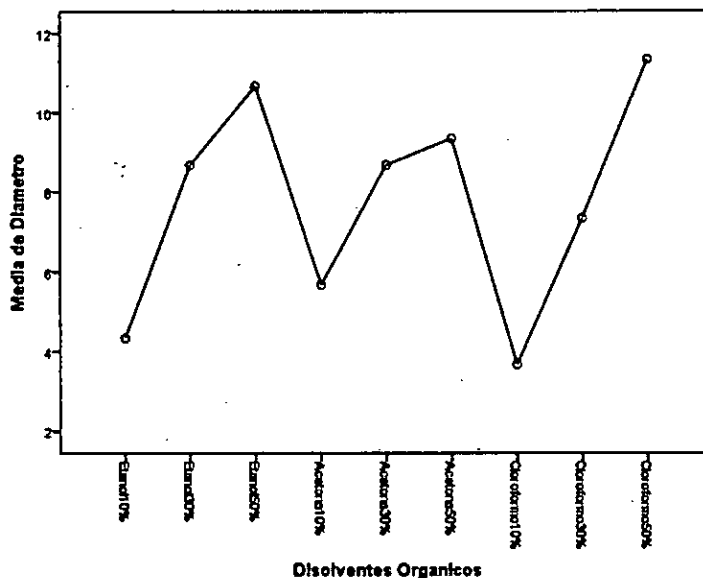
Tabla de estadísticos descriptivos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomonas cichorii*.

Descriptivos

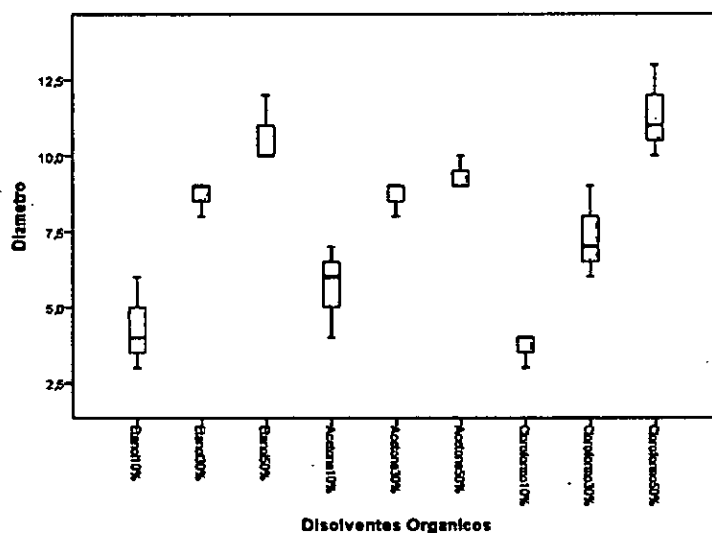
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Etanol10%	3	4,33	1,528	,882	,54	8,13	3	6
Etanol30%	3	8,67	,577	,333	7,23	10,10	8	9
Etanol50%	3	10,67	1,155	,667	7,80	13,54	10	12
Acetona10%	3	5,67	1,528	,882	1,87	9,46	4	7
Acetona30%	3	8,67	,577	,333	7,23	10,10	8	9
Acetona50%	3	9,33	,577	,333	7,90	10,77	9	10
Cloroformo10%	3	3,67	,577	,333	2,23	5,10	3	4
Cloroformo30%	3	7,33	1,528	,882	3,54	11,13	6	9
Cloroformo50%	3	11,33	1,528	,882	7,54	15,13	10	13
Total	27	7,74	2,768	,533	6,65	8,84	3	13

Por su parte el Grafico 7 y 8 observamos la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomonas cichorii*.

GRAFICO 7. Medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomonas cichorii*.



**GRAFICO 8.** Gráficos de caja. Describiendo la distribución de la medida de diámetro de los halos de inhibición en mm en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.



Por último en la tabla 5.27, se muestra la prueba de comparación de medias de Tukey entre extractos; concluyendo que los extractos de cáscaras de carambola los cuales se probaron que los tratamientos de extractos etanólicos y los extractos clorofórmicos presentan tamaños de halo progresivamente superiores,

**TABLA 5.27.**

Prueba de Tukey de acuerdo al diámetro del halo inhibitorio en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomona cichorii*.

Pruebas post hoc

HSD de Tukey

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Etanol10%	Etanol30%	-4,333*	,943	,005	-7,64	-1,03
	Etanol50%	-6,333*	,943	,000	-9,64	-3,03
	Acetona10%	-1,333	,943	,878	-4,64	1,97
	Acetona30%	-4,333*	,943	,005	-7,64	-1,03
	Acetona50%	-5,000*	,943	,001	-8,30	-1,70
	Cloroformo10%	,667	,943	,998	-2,64	3,97
	Cloroformo30%	-3,000	,943	,092	-6,30	,30
	Cloroformo50%	-7,000*	,943	,000	-10,30	-3,70

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Limite inferior	Limite superior
Etanol30%	Etanol10%	4,333 <sup>*</sup>	,943	,005	1,03	7,64
	Etanol50%	-2,000	,943	,490	-5,30	1,30
	Acetona10%	3,000	,943	,092	-,30	6,30
	Acetona30%	,000	,943	1,000	-3,30	3,30
	Acetona50%	-,667	,943	,998	-3,97	2,64
	Cloroformo10%	5,000 <sup>*</sup>	,943	,001	1,70	8,30
	Cloroformo30%	1,333	,943	,878	-1,97	4,64
	Cloroformo50%	-2,667	,943	,174	-5,97	,64
Etanol50%	Etanol10%	6,333 <sup>*</sup>	,943	,000	3,03	9,64
	Etanol30%	2,000 <sup>†</sup>	,943	,490	-1,30	5,30
	Acetona10%	5,000 <sup>*</sup>	,943	,001	1,70	8,30
	Acetona30%	2,000	,943	,490	-1,30	5,30
	Acetona50%	1,333 <sup>*</sup>	,943	,878	-1,97	4,64
	Cloroformo10%	7,000 <sup>*</sup>	,943	,000	3,70	10,30
	Cloroformo30%	3,333 <sup>*</sup>	,943	,047	,03	6,64
	Cloroformo50%	-,667	,943	,998	-3,97	2,64
Acetona10%	Etanol10%	1,333	,943	,878	-1,97	4,64
	Etanol30%	-3,000	,943	,092	-6,30	,30
	Etanol50%	-5,000 <sup>*</sup>	,943	,001	-8,30	-1,70
	Acetona30%	-3,000	,943	,092	-6,30	,30
	Acetona50%	-3,667 <sup>*</sup>	,943	,023	-6,97	-,36
	Cloroformo10%	2,000	,943	,490	-1,30	5,30
	Cloroformo30%	-1,667	,943	,701	-4,97	1,64
	Cloroformo50%	-5,667 <sup>*</sup>	,943	,000	-8,97	-2,36
Acetona30%	Etanol10%	4,333 <sup>*</sup>	,943	,005	1,03	7,64
	Etanol30%	,000	,943	1,000	-3,30	3,30
	Etanol50%	-2,000	,943	,490	-5,30	1,30
	Acetona10%	3,000	,943	,092	-,30	6,30
	Acetona50%	-,667	,943	,998	-3,97	2,64
	Cloroformo10%	5,000 <sup>*</sup>	,943	,001	1,70	8,30
	Cloroformo30%	1,333	,943	,878	-1,97	4,64
	Cloroformo50%	-2,667	,943	,174	-5,97	,64
Acetona50%	Etanol10%	5,000 <sup>*</sup>	,943	,001	1,70	8,30
	Etanol30%	,667	,943	,998	-2,64	3,97
	Etanol50%	-1,333	,943	,878	-4,64	1,97
	Acetona10%	3,667 <sup>*</sup>	,943	,023	,36	6,97
	Acetona30%	,667	,943	,998	-2,64	3,97
	Cloroformo10%	5,667 <sup>*</sup>	,943	,000	2,36	8,97
	Cloroformo30%	2,000	,943	,490	-1,30	5,30
	Cloroformo50%	-2,000	,943	,490	-5,30	1,30
Cloroformo10%	Etanol10%	-,667	,943	,998	-3,97	2,64
	Etanol30%	-5,000 <sup>*</sup>	,943	,001	-8,30	-1,70
	Etanol50%	-7,000 <sup>*</sup>	,943	,000	-10,30	-3,70
	Acetona10%	-2,000	,943	,490	-5,30	1,30

(I) Disolventes Orgánicos	(J) Disolventes Orgánicos	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Cloroformo10%	Acetona30%	-5,000*	,943	,001	-8,30	-1,70
	Acetona50%	-5,667*	,943	,000	-8,97	-2,36
	Cloroformo30%	-3,667*	,943	,023	-6,97	-,36
	Cloroformo50%	-7,667*	,943	,000	-10,97	-4,36
Cloroformo30%	Etanol10%	3,000	,943	,092	-,30	6,30
	Etanol30%	-1,333	,943	,878	-4,64	1,97
	Etanol50%	-3,333*	,943	,047	-6,64	-,03
	Acetona10%	1,667	,943	,701	-1,64	4,97
	Acetona30%	-1,333	,943	,878	-4,64	1,97
	Acetona50%	-2,000	,943	,490	-5,30	1,30
	Cloroformo10%	3,667*	,943	,023	,36	6,97
	Cloroformo50%	-4,000*	,943	,011	-7,30	-,70
Cloroformo50%	Etanol10%	7,000*	,943	,000	3,70	10,30
	Etanol30%	2,667	,943	,174	-,64	5,97
	Etanol50%	,667	,943	,998	-2,64	3,97
	Acetona10%	5,667*	,943	,000	2,36	8,97
	Acetona30%	2,667	,943	,174	-,64	5,97
	Acetona50%	2,000	,943	,490	-1,30	5,30
	Cloroformo10%	7,667*	,943	,000	4,36	10,97
	Cloroformo30%	4,000*	,943	,011	,70	7,30

\*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

En ocasiones el detalle pormenorizado (comparación a comparación) puede resultar complejo de interpretar y por ello resulta más cómoda de interpretar la salida de la Tabla 5.28, donde se obtiene un cuadro resumen de los subgrupos de medias homogéneos.

TABLA 5.28.

Tabla de Subgrupos Homogéneos del procedimiento ANOVA de un factor en función de tres concentraciones de los extractos de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" sobre *Pseudomonas cichorii*. Según Test de Tukey.

HSD de Tukey

Disolventes Orgánicos	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Cloroformo10%	3	3,67				
Etanol10%	3	4,33	4,33			
Acetona10%	3	5,67	5,67	5,67		
Cloroformo30%	3		7,33	7,33	7,33	
Etanol30%	3			8,67	8,67	8,67
Acetona30%	3			8,67	8,67	8,67
Acetona50%	3				9,33	9,33
Etanol50%	3					10,67
Cloroformo50%	3					11,33
Sig.		,490	,092	,092	,490	,174

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3,000.



## CAPÍTULO VI DISCUSIÓN DE RESULTADOS

### 6.1 Contratación de hipótesis con los resultados

De lo hasta aquí desarrollado a lo largo de la presente investigación, con la información expuesta en los capítulos anteriores y la data estadística presentada; hemos podido demostrar la hipótesis planteada al inicio del presente trabajo como respuesta tentativa a esta investigación.

El análisis y contratación de las variables independientes y dependientes correspondientes a la hipótesis objeto de la presente tesis, nos permitió determinar lo siguiente:

Los extractos polifenólicos a partir de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" y *Averrhoa carambola* "carambola" inhibieron el crecimiento de las bacterias *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*. Por lo tanto existe una asociación entre el extracto y el crecimiento bacteriano.

### 6.2 Contratación de resultados con otros estudios similares

Para explicar mejor el poder inhibitorio de los extractos polifenólicos de *Myrciaria dubia* "camu camu" y *Averrhoa carambola* "carambola" a base de cáscaras frente a las cepas es su concentración moderada o alta de polifenoles, en comparación con otros frutos o plantas.

En ese sentido *Myrciaria dubia* "camu camu" no presenta antecedentes de efecto inhibitorio sobre bacterias fitopatógenas, sin embargo <sup>14</sup>Castillo. C (2013), reportó que los polifenoles del *Myrciaria dubia* "camu camu" tuvieron efecto inhibitorio con bacterias de alimentos y esto se tomó como base para probar sobre las diferentes bacterias que se evaluaron ya que contiene un gran cantidad de polifenoles. Demostrando su potencial para aplicaciones alimentarias y de salud humana debido a sus propiedades funcionales ricos bioactivos vinculados con alta actividad antioxidante (<sup>31</sup>Fujita y otros, 2015; <sup>11</sup>Baldeón y otros, 2015).

Igualmente la *Averrhoa carambola* "carambola", según <sup>9</sup>Avinash y otros, 2012; <sup>38</sup>Gheewala y otros, 2012; <sup>56</sup>Manda y otros, 2012, reportaron que los polifenoles en *Averrhoa carambola* "carambola" se encontraban entre los más altos en el grupo de estudio a ser una fuente sustancial de antioxidantes fenólicos, por lo que puede presentar beneficios de salud potentes (<sup>1</sup>Abadie. R y otros, 2014); tomando en consideración para probar sobre las diferentes bacterias que se evaluaron ya que contiene un gran cantidad de polifenoles.

Por otra parte la actividad antibactericida ha sido reconocida por otros autores como:

<sup>92</sup>Stefanova. M y otros (2005) probaron el efecto de varios extractos, entre ellos de la Bixa orellana, y comprobaron que el desarrollo de las colonias del agente causal de la bacteriosis de la cebolla (*Xanthomonas sp.*) fue inhibido entre 90 y 100%.

<sup>70</sup>Peralta-Bello (2006) reporta que hay inhibición del crecimiento de las bacterias *Pseudomona cichorii*, *Xanthomonas axonopodis pv. phaseoli* y *Erwinia carotovora pv atroseptica*, con disolventes de diferente polaridad; hexano, éter, etanol, a partir de las hojas frescas de *Flourensia cernua* D.C.

<sup>66</sup>Osorio. E (2007) observó que el extracto inhibidor fue la gobernadora siendo las cepas mas susceptibles la *Pseudomona cichorri* y *Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria* con diferentes concentraciones al 10%, 5%, 2.5%, 0.25 y el Testigo. Seguido del extracto de la nuez y la granada inhibiendo en menor grado.

<sup>4</sup>Aguilar y otros (2013), utilizaron extracto de nuez y granada obteniendo resultados positivos, se observa que ha mayor concentración es mayor la inhibición frente a *Pectobacterium carotovora subsp. Carotovora*, *Xanthomonas axonopodis pv. Phaseoli*, *Xanthomonas axonopodis pv. Vesicatoria* y *Pseudomonas cichorii*. Extractos de plantas con altos contenido de taninos como la corteza de mimosa han reportado tener una gran actividad antibactericida.

En trabajos similares realizado por <sup>13</sup>Briceño y otros (2012), se evaluó el efecto de extractos etanólicos provenientes de las plantas de Nim, utilizadas para el control de bacterias fitopatógenas del género *Erwinia sp.*, logrando un control efectivo frente a *Erwinia sp.*, aislada del cultivo de berenjena. Los autores constataron la inhibición del microorganismo con una concentración del 30% del extracto.

<sup>2</sup>Acero y otros (2001). Encontró que las bacterias saprófitas como *Erwinia carotovora* son inhibidas por los extractos de Chile (*capsicum sp.*). En ese mismo sentido <sup>15</sup>Chirinos y otros (2007) asegura que el poder de inhibición de cada extracto esta relacionado con la especie de bacteria que afecta un determinado cultivo.

Otro estudio de <sup>76</sup>Ramírez y Marín (2009) evalúan la actividad bacteriana realizando estudios donde se someten varias cepas bacterianas frente a diferentes extractos etanólicos y aceites esenciales provenientes de diferentes plantas, utilizando el método de dilución en pozo.

Todo parece indicar que las concentraciones tienen un efecto marcado en el crecimiento de las colonias de *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomona cichorii*. Por ello se presume por <sup>101</sup>Viveros y Castaño (2006) que la acción de los extractos sobre los patógenos a estudiar depende directamente de la cantidad y tipo de metabolitos secundarios que pueda poseer el extracto.

Estos interfieren en el crecimiento microbiano por privación del sustrato o por destrucción de la membrana celular (la membrana del microorganismo). Siendo más específicos según <sup>25</sup>Domingo y López-Brea (2003); nos menciona que los fenoles simples actúan en la inhibición enzimática de compuestos oxidados; las quinonas actúan formando complejos con los aminoácidos hidrofílicos de las proteínas, lo que genera una inactivación de esta biomolécula. Las cumarinas presentan su actividad antimicrobiana a través de la interacción con el DNA eucariota. Por último se tiene alcaloides, que actúan mediante intercalación entre la pared celular y el DNA del microorganismo.

Bajo estas circunstancias la *Myrciaria dubia* "camu camu" se han reportado compuestos fenólicos en la semilla y la cáscara significativamente más abundantes que otras frutas tropicales (<sup>60</sup>Myoda y Otros, 2010). Entre ellos como flavonoides, antocianinas, pro-antocianinas, elagitaninos y derivados del ácido elágico y gálico con actividad bactericida (<sup>28</sup>Fracassetti y Otros, 2013).

De igual manera la *Averrhoa carambola* "carambola" demostró una fuente potencial antioxidantes polifenólicos primarios y secundarios tales como alcaloides, flavonoides, saponinas y taninos (<sup>9</sup>Avinash y otros, 2012; <sup>38</sup>Gheewala y otros, 2012) con actividad antimicrobiana.

Por ende pueden ser utilizados exitosamente en el control o inhibición de bacterias fitopatógenos, además de constituirse en una herramienta para integrar un manejo agroecológico del cultivo.

## CAPÍTULO VII CONCLUSIONES

- Con base en los resultados que se obtuvieron en el análisis de varianza con un factor (ANOVA) y con la prueba de comparaciones múltiples o métodos Post Hoc de diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey, se observaron diferencias significativas entre los extractos utilizados como tratamientos.
- Las concentraciones de 50% del extracto acetónico, etanólico y clorofórmico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" tienen un mayor efecto significativo del crecimiento de *Erwinia carotovora subsp carotovora*, observando unos diámetros de halo promedio entre 15 y 19 mm que representan una zona Activa según lo parámetros sugeridos por <sup>7</sup>Alves y Otros (2000).
- Los extractos etanólico, acetónico y clorofórmico de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" tuvo un efecto inhibitorio del crecimiento de *Pseudomona cichorii* a las concentraciones del 50%, mostrando halos de inhibición promedio entre 18 y 20 mm de diámetro representando una zona Muy Activa según lo parámetros sugeridos por <sup>7</sup>Alves y Otros (2000).
- Para la *Averrhoa carambola* "carambola" se mostró que los extractos acetónicos (30% y 50%) manifestaron el mayor efecto de inhibición sobre *Erwinia carotovora subsp carotovora* representando halos de inhibición entre 15 y 20 mm de diámetro, significando una zona Activa.
- Para las pruebas de actividad bactericida empleando la fitobacteria *Pseudomona cichorii* mediante el método de difusión de discos en agar permitió establecer que los extractos etanólico y clorofórmico de cáscaras de *Averrhoa carambola* "carambola" a las concentraciones del 50% obtuvieron halos de inhibición entre 8 y 12 mm de diámetro representando una zona Parcialmente activa.

- La aplicación de los extractos polifenólicos a base de cáscaras de *Myrciaria dubia* "camu camu" y *Averrhoa carambola* "carambola" como agentes de control, proponen una alternativa para el manejo de la agricultura orgánica que garantice la sustentabilidad del suelo y seguridad ambiental. Siendo una excelente opción, debido a su fácil degradación, no generan residuos; y sobre todo compuestos de origen natural no perjudiciales para la salud humana y ambiente.

## CAPÍTULO VIII RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar otros estudios para ampliar el espectro de actividad antibactericida de *Myrciaria dubia* “camu camu” y *Averrhoa carambola* “carambola” con el objetivo de utilizar los extractos obtenidos en la formulación de nuevos productos con potencial bactericida.
- Se recomienda realizar otros tipos de extractos de *Myrciaria dubia* “camu camu” y *Averrhoa carambola* “carambola” para comparar los resultados y determinar su efectividad antibactericida.
- Se recomienda continuar con los ensayos realizados, utilizando otros frutos o plantas, para incrementar el conocimiento sobre la actividad antibactericida en cultivos de importancia agrícola.
- Se recomienda realizar pruebas *in situ* para valorar la efectividad que pueden proporcionar los componentes de *Myrciaria dubia* “camu camu” y *Averrhoa carambola* “carambola” con la finalidad de determinar la estabilidad de los extractos obtenidos frente a agentes físicos y químicos que puedan interferir en la actividad antimicrobiana descrita en el presente trabajo.
- Se recomienda extender los estudios expuestos en esta tesis a fin de calcular la dosis óptima de los extractos para mejorar el rendimiento de las cosechas, la calidad del suelo y la salud de las personas y animales. Lo cual permitirá minimizar el uso indiscriminado de agroquímicos en la actualidad.

## CAPÍTULO IX REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- <sup>1</sup> Abadie, R., Medina, R., Ruiz, L., Tresierra, A. Actividad antibacteriana de extractos vegetales frente a cepas intrahospitalarias, Iquitos-Perú. Revista ECI-Perú. CIRNA-UNAP. 2014; 11(1):31-38.
- <sup>2</sup> Acero, C., Dorantes, L., Hernández, H y Jaramillo, M. Efecto de un extracto isopropanólico de chile (*capsicum* sp.) sobre diversos microorganismos de importancia en alimentos. Veracruz, En: IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. XIII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. II Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica. México. 2001. P. 1-120.
- <sup>3</sup> Agrios, G. (2005). fitopatología. Mexico: Palma. Aquino Bolaños, T., Ruiz Vega, J., Giron, P. S., Pérez Pacheco, R., Martínez, T. S., & Silva Rivera, M. (2011). Interrelationships Of The Agave Weevil *Scyphophorus acupunctatus* (Gyllenhal), *Erwinia carotovora* (Dye), Entomopathogenic Agents And Agrochemicals. African Journal Of Biotechnology, 10 (68), 15402-15406.
- <sup>4</sup> Aguilar, C., Osorio-Hernandez, E., Ventura-Sobrevilla, J., Flores-Davila, M., Lara, F., Rodriguez-Herrera y Hernández-Castillo. Efectividad biológica de extractos polifenólicos contra bacterias fitopatógenas. Coahuila, México. 2013. En: Polibotanica. P. 200-298.
- <sup>5</sup> Akter, M., Oh, S., Eun, J., & Ahmed, M. (2011). Nutritional compositions and health promoting phytochemicals of camu-camu (*Myrciaria dubia*) fruit: A review. Food Research International, 44, 1728-1732.
- <sup>6</sup> Alcázar, M.D.; J. E. Belda.; P. Barranco & T. Cabello. 2000. Lucha integrada en cultivos hortícolas bajo plástico en Almería. Vida Rural 118: 51-55.
- <sup>7</sup> Alves, T.M.A., Silva, A.F., Brandao, M., Grandi, T.S.M., Smania, E.F.A., Smania Jr., A., Zani, C.L., 2000. Biological screening of Brazilian medicinal plants. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz 95, 367–373.
- <sup>8</sup> ANDRADE, R.A.; MARTINS, A.B.G. Aspectos morfológicos de folhas na diferenciação de variedades de carambola. Revista Brasileira de Fruticultura, v.29, n.2, p.386-388. 2007.



- <sup>9</sup>. Avinash, P., Swapneel, K., Anita, P., 2012. A comprehensive review of an important medicinal plant – *Averrhoa carambola* L. *Pharmacog. Commun.* 2, 26–39
- <sup>10</sup>. Bala, A., Kar, B., Haldar, P.K., Mazumder, U.K., Bera, S., 2010. Evaluation of anticancer activity of *Cleome gynandra* on Ehrlich's ascites carcinoma treated mice. *J. Ethnopharmacol.* 129, 131–134.
- <sup>11</sup>. Baldeón, E.; Alcañiz, M.; Masot, R.; Fuentes, E.; Barat, J.; Grau, R. 2015. Voltammetry pulse array developed to determine the antioxidant activity of camu–camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. McVaug) and tumbo (*Passiflora mollissima* (Kunth) L.H. Bailey) juices employing voltammetric electronic tongues. *Food Control* 54: 181–187.
- <sup>12</sup>. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966 Apr;45(4):493–496.
- <sup>13</sup>. Briceño. G; García. J; Maselli. A y Rosales. L. Efecto de extractos etanólicos de ruda y neem sobre el control de bacterias fitopatógenas del género *Erwinia*. Maracay 2012. En: *Agronomía Trop.* Vol.61, nº2. P.141-148.
- <sup>14</sup>. Castillo, C. 2013. "Efecto inhibitorio in vitro de *Myrciaria dubia* "camu-camu" sobre *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*". Tesis para optar el grado de Bachiller en Medicina, Universidad Nacional de Trujillo.
- <sup>15</sup>. Chirinos. J; Leon. Y; y Vallenilla. Y;. Evaluación de malojillo, verdolaga, nim, manzanilla y orégano como extractos acuosos en el control de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Pseudomonas* sp. y *Xanthomonas* spp. que ocasionan daños en yuca, pimentón, perejil y firjol. En *XX Congreso Venezolano de Fitopatología*. San Felipe, Venezuela. Memorias. Universidad de Yaracuy. 2007. 130p.
- <sup>16</sup>. Chirinos, R., Galarza, J., Betalleluz-Pallardel, I., Pedreschi, R., & Campos, D. (2010). Antioxidant compounds and antioxidant capacity of Peruvian camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruit at different maturity stages. *Food Chemistry*, 120, 1019-1024.

- <sup>17</sup>. Cañizares A., Bonafine O., & Vargas A. (2012). Frutales no tradicionales. Aprovechamiento industrial del tamarindo estrella o carambola. INIA Divulga. Revista de Difusión de Tecnología Agrícola, pecuaria, pesquera y acuícola, 23, 2-9.
- <sup>18</sup>. Castilla, N. 2007. Invernaderos de Plástico. Tecnologías y manejo. Madrid: Editorial Aedos, s.a. Recuperado el 06 de Abril de 2013.
- <sup>19</sup>. Contreras - Calderon, J., L. Calderon, E. Guerra y B. Garcia, Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia, Food Research International: 44 (7), 2047-2053 (2010).
- <sup>20</sup>. Cortes, J. (2008). Evaluación del efecto de extractos etanólicos de própolis sobre el control *Alternaria solani* en cultivo ecológico de tomate, (*Solanum lycopersicum*.) (tesis de pregrado). Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España.
- <sup>21</sup>. D'Archivio, M., Filesì, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 43, 348–361.
- <sup>22</sup>. Das, 2012. Antimicrobial and antioxidant activities of green and ripe fruits of *Averrhoa carambola* Linn. and *Zizyphus mauritiana* Lam. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 5 (2012), pp. 102–105
- <sup>23</sup>. De Souza, M., Raga, A., & Zucchi, A. (2000). Incidencia de *Anastrepha obliqua* (Macquart) y *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) en carambola (*Averrhoa carambola* L.) en ocho localidades del estado de Sao Paulo, Brasil. *Anales de la Sociedad de Entomología. Brasil*, 29(2), 367-371. <http://www.fao.org/waicent/faoinfo/sustdev/RTdirect/RTre0009.htm>.
- <sup>24</sup>. De Oliveira., L.J. Ward., V.Duarte., S.H. De Boer. Characterization of atypical *Erwinia carotovora* strains causing blackleg of potato in Brazil. *The Society for Applied Microbiology, Journal of Applied Microbiology* 2003, 96, 535–545.
- <sup>25</sup>. Domingo, D., & López-Brea, M. (2003). Plantas con Acción Antimicrobiana. *Rev Esp Quimioterap*, 16(4), 385-393.

- <sup>26</sup>. FAO/OMS. 2002. Principles and guidelines for incorporating microbiological risk assessment in the development of food safety standards, guidelines and related texts. Informe de una reunión Consulta mixta FAO/OMS. Kiel (Alemania), 18-22 de marzo de 2002 (disponible en <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/006/y4302e/y4302e00.pdf>)
- <sup>27</sup>. FAO, 2012 (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura); IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). Perspectivas de la agricultura y del desarrollo rural en las Américas: una mirada hacia América Latina y el Caribe 2013. Santiago, CL. Disponible en <http://bit.ly/Z12hN1>
- <sup>28</sup>. Fracassetti, D., Costa, C., Moulay, L., & Tomás-Barberan, F. (2013). Ellagic acid derivatives, ellagic tannins, proanthocyanidins and other phenolics, vitamin C and antioxidant capacity of two powder products from camu-camu fruit (*Myrciaria dubia*), *Food Chemistry*, 139, 578-588.
- <sup>29</sup>. Franco, Yuliet; Marusia Stefanova; María F. Coronado: «Patogenicidad y virulencia de aislamientos de *Erwinia* sp. de semillas de papa de importación», *Fitosanidad* 8(4):45-47, 2004
- <sup>30</sup>. Fujita, A., Borges, K., Correia, R., Franco, B., & Genovese, M. (2013). Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). *Food Research International*, 54, 495-500.
- <sup>31</sup>. Fujita, A.; Sarkar, D.; Wu, S.; Kennelly, E.; Shetty, K.; Genovese, M. 2015. Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh (Myrtaceae)) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. *Food Research International* 77(2): 194-203.
- <sup>32</sup>. García-Estrada, R. S., C. Juárez-Reyes, J. A. Carrillo-Fasio, R. Allende-Molar, I. Márquez-Zequera y M. D. Muy-Rangel. 2000. Marchitez bacteriana en chile bell causada por *Erwinia carotovora* subsp *carotovora* Rev. Mex. Fitopatol. 18: 120-124

- <sup>33</sup>. GARRITY, GM; STALEY, JT; BOONE, DR; BRENNER, DJ; VOS, P; GOODFELLOW, M; KRIEG, NR; RAINEY, FA; SCHLEIFER, KH. 2005. Proteobacteria. In: BRENNER, DJ; KRIEG, NR; STALEY, JT. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. New York: Michigan State University. p.575-623.
- <sup>34</sup>. Gaspar, J. (2008). Actividad antimicrobiana de extractos de orégano (*Lippia graveolens*) contra microorganismos fitopatógenos (tesis de pregrado). Universidad Autónoma de Querétaro, México.
- <sup>35</sup>. Genovese, M., Pinto, M., Gonçalves, A., & Lajolo, F. (2008). Bioactive compounds and antioxidant capacity of exotic fruits and commercial frozen pulps from Brazil. *Food Science and Technology International*, 14, 207-214.
- <sup>36</sup>. Gómez, A. 2000. Agricultura Orgánica en el Codex Alimentarius. Seminario Protección del Consumidor desde las ONG's y el Codex Alimentarius. CEADU. Montevideo.
- <sup>37</sup>. Gonçalves, A., Lajolo, F., & Genovese, M. (2010). Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of Brazilian native fruits and commercial frozen pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4666–4674.
- <sup>38</sup>. Gheewala, P., Kalaria, P., Chakraborty, M., Kamath, J.V., 2012. Phytochemical and pharmacological profile of *Averrhoa carambola* Linn.: an overview. *Int. Res. J. Pharm.* 3, 88–92.
- <sup>39</sup>. Guevara, Y., Maselli, A. y M. Sánchez. 2000. Efecto de extractos vegetales sobre bacterias fitopatógenas. *Manejo Integrado de Plagas* 56:38-44.
- <sup>40</sup>. Guevara, Y., Maselli, A., Mireles, M., Figueroa, R., Marcano, M., & Rondón, A. (2002). Evaluación De Cuatro Productos Para El Control De La Bacteriosis (*Erwinia* spp.) En Frutos De Mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana De Fitopatología.*, 20 (1), 110-113
- <sup>41</sup>. Hii, C.L. y J.F. Ogugo. 2014. Effect of pre-treatment on the drying kinetics and product quality of star fruit slices. *J. Eng. Sci. Technol.* 9(1), 122-134.
- <sup>42</sup>. Imán, S.; Bravo, L.; Sotero, V.; Oliva, C., 2011. Contenido de vitamina C en frutos de camu camu *Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh, en cuatro estados de

- maduración, procedentes de la Colección de Germoplasma del INIA Loreto, Perú. *Scientia Agropecuaria* 2(2011) 123 – 130.
- 43. INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONÍA PERUANA (IIAP). 2006. Diagnóstico de los productores de camu camu pertenecientes a ADIPROCAY. Pucallpa.
  - 44. Isabelle, M., Lee, B.L., Lim, M.T., Koh, W.-P., Huang, D., Ong, C.N., 2010. Antioxidant activity and profiles of common fruits in Singapore. *Food Chem.* 123 (1), 77–84.
  - 45. Janick, J y R. Paull. 2008. *The encyclopedia of fruit and nuts*. CABI Publishing, Wallingford, UK.
  - 46. Jones, P., Vogt, T., 2001. Glycosyltransferases in secondary plant metabolism: tranquilizers and stimulant controllers. *Planta* 213, 164–174.
  - 47. Khanam Z, Ching C. H., Zakaria N. H. B. M., Sam K H., Bhat I.U.H. Phytochemical analyses and DNA cleavage activity of *Citrus maxima* fruit. International Conference on Chemistry and Environmental Sciences Research (ICCESR), 17-18 September, 2015. organised by Chemistry unit, Department of Applied Sciences, Universiti Technology Mara Pulau Pinang, 13500 Permatang Pauh, Penang, Malaysia.
  - 48. Khattak, K. F., Simpson, T. J., & Ihasnullah (2008). Effect of gamma irradiation on the extraction yield, total phenolic content and free radical-scavenging activity of *Nigella sativa* seed. *Food Chemistry*, 110, 967–972.
  - 49. Koduru S, Grierson D S y Alfolayan, A J. 2006. Antimicrobial Activity of *Solanum aculeastrum*. *Pharmaceutical Biology*. 44(4): 283-286.
  - 50. Kunstmann Porcile, Juan P. Determinación de subespecies de *Erwinia carotovora* (Dye) Hall como agentes causales de “pudrición blanda” en *cala* (*Zantedeschia* spp.), Tesis para optar el grado de licenciado, Universidad Austral de Chile, Valdivia 2004.
  - 51. Kuppusamy S, Thavamani P, Megharaj M, Naidu R. Bioremediation potential of natural polyphenol rich green wastes: A review of current research and recommendations for future directions. *Environmental Technology & Innovation* (2015).

- <sup>52</sup>. Leong, L.P., Shui, G., 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem.* 76 (1), 69–75.
- <sup>53</sup>. Lopera, Y.E., Fantinelli, J., González-Arbeláez, L.F., Rojano, B., Ríos, J.L., Schinella, G. y S. Moscam Antioxidant Activity and Cardioprotective Effect of a Non-Alcoholic Extract of *Vaccinium meridionale* Swartz During Ischemia-Reperfusion in Rat. *Evid Based Compl Alt*: 2013, 1 – 10 (2013)
- <sup>54</sup>. LÓPEZ A. 2006. Perfil del PIP: Asistencia Técnica en el establecimiento y manejo sostenible de camu camu injerto (*Myrciaria dubia* H.B.K.) en las provincias de Coronel Portillo y Padre Abad. Pucallpa. 76 pp.
- <sup>55</sup>. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Re´me´sny, C., Jime´nez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* 79, 727–747.
- <sup>56</sup>. Manda H, Vyas K, Pandya A, Singhal G. 2012. A complete review on: *Averrhoa carambola*. *World J Pharm Pharmac Sci* 1: 17 - 33.
- <sup>57</sup>. María del Pliar Guauque, Castaño J. & Gomez M. (2010); Detección de metabolitos secundarios en *Ambrosia peruviana* Willd y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica; *Infect.* Vol.14.nº3 Bogotá July/Sept. 2010.
- <sup>58</sup>. Maselli, A., L. C. Rosales y Y. Guevara. 2006. Uso de extractos vegetales sobre *Xanthomonas phaseoli*, causante de la quemazón en *Phaseolus vulgaris* L. *Revista Digital CENIAP HOY* N° 12. Maracay, Venezuela. Consultado el: 05/02/2008
- <sup>59</sup>. Maselli, A., R. Méndez, J. García, G. Briceño, A. Solano, L. Alemán, L.C. Rosales y L. Velázquez. 2008. Evaluación de extractos vegetales para el control de Bacterias fitopatógenas de los géneros *Xanthomonas* y *Erwinia*. *Fitosanidad* 12(3):164.
- <sup>60</sup>. Myoda, T., Fujimura, S., Park, B., Nagashima, T., Nakagawa, T., & Nishizawa, M. (2010). Antioxidative and antimicrobial potential of residues of camu-camu juice production. *International Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8, 304–307.

- <sup>61</sup>. Molina, N. (2001). Uso De Extractos Botánicos En Control De Plagas Y Enfermedades. Manejo Integrado De Plagas. Avances En El Fomento De Productos Fitosanitarios No-Sintéticos. (59), 76-77.
- <sup>62</sup>. Mondino, P. 2001. Control biológico de enfermedades de plantas. En Perfil Ambiental del Uruguay 2001, Ana Domínguez y Rubén Prieto (coordinadores) 199-206.
- <sup>63</sup>. Montgomery, D.R., 2007, Soil erosion and agricultural sustainability: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America , v. 104, p. 13,268–13,272
- <sup>64</sup>. Ndhkala, A. R., Chitindingu, K., Mupure, C., Murenje, T., Ndhkala, F., Benhura, A. M., et al. (2008). Antioxidant properties of methanolic extracts from *Diospyros mespiliformis* (jackal berry), *Flacourtia indica* (Batoka plum), *Uapaca kirkiana* (wild loquat) and *Ziziphus mauritiana* (yellow berry) fruits. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 284–288.
- <sup>65</sup>. Oliveira, G. (2014). Capacidad antioxidante de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistema generadores de radicales libres. (tesis de maestría). Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- <sup>66</sup>. Osorio, E. (2007). Actividad Antifúngica y Antibacteriana de Extractos Polifenólicos Contra Microorganismos Fitopatógenos (tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Coahuila, México.
- <sup>67</sup>. PANDEY, A., MITTAL, A., GUPTA, A., & SARDANA, S. (2012). Antimicrobial activity of leaves of *Cassia occidentalis*. Linn. (Caesalpiniaceae) *Intrjpharmsci*, 3(1): 27-28.
- <sup>68</sup>. PENN, J. 2006. Estudio del potencial e impactos de la agro-industria del camu-camu en las regiones de Loreto y Ucayali. Facultad de Geografía y Planificación Grand Valley State University. Allendale,, Michigan. Conferencia en IIAP. 38 p.
- <sup>69</sup>. Pérez, M.H., y Vázquez, V. (2004). Carambolo (*Averrhoa carambola* L.) su cultivo y producción en Nayarit. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Santiago Ixcuintla, Nayarit, México: Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro.

- <sup>70</sup>. Peralta-Bello, J E. 2006. Evaluación de la actividad de extractos de hojas en *Flourensia cernua* D.C. *in vitro* en el control de las bacterias fitopatógenas; *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* (Smith) Dye., *Erwinia carotovora* pv. *atroseptica* (Van may) Dye y *Pseudomonas cichorii* (Swingle) Stapp. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 55-62 pp.
- <sup>71</sup>. Pino, O., F. J. Lazo, Y. Sánchez, A. Iglesias, L. García y B. P. Khambag. 2008. La flora cubana como fuente de bioplaguicidas. *Fitosanidad* 12(3):163.
- <sup>72</sup>. Pinedo, M., Armas, M. El camu camu y sus usos populares como planta medicinal. En LEISA revista de agroecología, diciembre 2007.
- <sup>73</sup>. PUENTE Isidró, Mayra; ALLAERT, Kathleen; HERRERA Isla, Lidcay; SUÁREZ, Norma; TORRES, Sinesio; PÉ- REZ, Carlos; RODRÍGUEZ, Mireya (2003). Determinación de la actividad alelopática de extractos vegetales sobre algunos hongos fitopatógenos del suelo. *Centro Agrícola*. Cuba, Vol 30: 64-68
- <sup>74</sup>. Quiroga., I, 2012. M.sC. Impactos del cambio climático en la incidencia de plagas y enfermedades de los cultivos. *Fisiología de cultivos*. Universidad Nacional de Colombia
- <sup>75</sup>. Rahman M.M., Ali M.E., Khan A.A., Akanda A.M., Uddin M.K., Hashim U., Abd Hamid S.B. Isolation, characterization, and identification of biological control agent for potato soft rot in bangladesh. *Scientific World Journal*. 2012: 723-293.
- <sup>76</sup>. Ramirez. L y Marin. D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Pereira*. Agosto 2009. Vol. 15, nº 42. P. ISSN 0122-1701 263.
- <sup>77</sup>. Rengifo, Elsa., 2009: Monografía: Camu camu- *Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh. Perúbiodiverso. Lima, Perú.
- <sup>78</sup>. Reynertson, K. A., Yang, H., Jiang, B., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. (2008). Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible myrtaceae fruits. *Food Chemistry*, 109, 883–890.
- <sup>79</sup>. Rincón, A.; Vásquez, M.; Padilla, F. Composición química y compuestos bioactivos de las harinas de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina



- (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, v. 55, p. 305-310, 2005.
- <sup>80</sup>. Rodríguez, D. y M. Sanabria, 2005. Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la mancha sureña del maíz y los patógenos que las causan. INCI. 30(12):739-744.
  - <sup>81</sup>. Rodríguez, F.; M. Stefanova: «Control biológico del tizón temprano (*Alternaria solani*) en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de campo», Fitosanidad 9 (4):35-37, 2005.
  - <sup>82</sup>. Rodrigues R., Papagiannopoulos M., Maia J., Yuyama K., Marx F. Antioxidant capacity of camu-camu [*Myrciaria dubia* (H. B. K.) McVaugh] pulp. Ernährung/Nutrition 2006;30:357–362
  - <sup>83</sup>. Rosas R., Antonio. (2003). Agricultura Orgánica Práctica. Alternativas Tecnológicas para la agricultura del futuro. Bogotá: Ediciones Aristides Gómez S. 285p.
  - <sup>84</sup>. Rufino, M., Alves, R., Brito, E., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F. & Mancini Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. Food Chemistry, 121, 996–1002.
  - <sup>85</sup>. Ruiz, F., Betancourt, G., (2014). EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA DE FRACCIONES ENRIQUECIDAS EN FLAVONOIDES A PARTIR DE: *Psidium guajava* L. (GUAYABA), *Calendula officinalis* L. (CALÉNDULA), L. (ROMERO) Y *Matricaria chamomilla* L. (MANZANILLA) SOBRE: *Erwinia carotovora* (Dye) (tesis de pregrado). Universidad del Tolima, Ibagué, Colombia.
  - <sup>86</sup>. Ruiz Giraldo Martha C, Susunaga Susunaga Clara M. 2000. Actividad antimicrobiana presente en partes aéreas de las especies *Bursera simaoruba* y *Bursera graveolens* (BURSERACEAS), frente a microorganismos como: *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia carotovora*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma viride* y *Botrytis cinérea*. Carrea Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Departamento Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Trabajo Pregrada. Bogota D.C, Pag.40

- <sup>87</sup>. Shui, G., Leong, L.P., 2004. Analysis of polyphenolic antioxidants in star fruit using liquid chromatography and mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1022, 67–75.
- <sup>88</sup>. Shui, G., Leong, L.P., 2006. Residue from star fruit as valuable source for functional food ingredients and antioxidant nutraceuticals. *Food Chem.* 97, 277–284
- <sup>89</sup>. Shofian, N.M., Hamid, A.A., Osman, A., Saari, N., Anwar, F., Pak Dek, M.S., Hairuddin, M.R., 2011. Effect of freeze-drying on the antioxidant compounds and antioxidant activity of selected tropical fruits. *Int. J. Mol. Sci.* 12 (7), 4678–4692.
- <sup>90</sup>. Solano., M.T., 2010. Aislamiento, caracterización e identificación de bacterias causantes de pudrición blanda en malanga (*Colocasia esculenta* Schott). Tesis para optar Licenciatura en Biología en la Universidad Veracruzana. México.
- <sup>91</sup>. Stauffer, B. A., A. Orrego y A. Aquino. 2000. Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. *Revista de Ciencia y Tecnología* 1(2):29-33
- <sup>92</sup>. Stefanova Nalimova, M; Rizo Peña, SG; Coronado Izquierdo, MF. 2005. Efecto in vitro de extractos de plantas sobre especies bacterianas del género *Xanthomonas*. *Fitosanidad* 9 (3): 49 - 51.
- <sup>93</sup>. Toledo, D. B. (2004). Evaluación in vitro del efecto de cepas nativas de la bacteria *Bacillus* sp. en el biocontrol de la bacteria *Erwinia carotovora* (memoria de título). Universidad de Talca, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela de Agronomía, Chile.
- <sup>94</sup>. Toth I.K., Bell K.S., Holeva M.C., Birch P.R. Soft rot erwiniae: from genes to genomes. *Mol. Plant Pathol.* 2003. 4: 17-30
- <sup>95</sup>. TRANTAS, EA; SARRIS, PF; MPALANTINAKI, EE; PENTARI, MG; VERVERIDIS, FN; GOUMAS, DE. 2013. A new genomovar of *Pseudomonas cichorii*, a causal agent of tomato pith necrosis. *European Journal of Plant Pathology* 137: 477-493.

- <sup>96.</sup> Vasconcelos, C., Araujo, M., Silva, B., & Conde-García, E. (2005). Negative inotropic and chronotropic effects on the guinea pig atrium of extracts obtained from *Averrhoa carambola* L. leaves. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38(7), 1113-1122.
- <sup>97.</sup> Vasconcelos, L., Gondim, S., Cruz, S., Mafra, A., Silva, A., & Conde-García, A. (2008). Aqueous leaf extract of *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) reduces both the inotropic effect of BAY K 8644 on the guinea pig atrium and the calcium current on GH3 cells. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(4), 539-543.
- <sup>98.</sup> Vázquez, L. 2007. Adopción de prácticas agroecológicas para el manejo de plagas por los agricultores cubanos. *Revista de Agricultura Orgánica. Asociación Cubana de Técnicos Agrícolas y Forestales (ACTAF) 2*, 37-40.
- <sup>99.</sup> Ventura, G. (2007). Identificación de bacterias fitopatógenas en cultivos de papaya (carica papaya) en las fincas El Pantanal y El Subín, ubicadas en el Departamento de El Petén, Guatemala (informe de tesis). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala
- <sup>100.</sup> Vidaver, A. M. (2002). Uses Of Antimicrobials In Plant Agriculture. *Papers In Plant Pathology*, 34 (3), 106-110.
- <sup>101.</sup> Viveros, J; Castaño, J. 2006. Evaluación in vitro de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. *Agronomía*.
- <sup>102.</sup> Vidaver, A. K. y Lambrecht, P. A. (2004). Las bacterias como patógenos vegetales. En A. M. Romero (Trad.), *The plant health instructor*.
- <sup>103.</sup> YU, SM. 2012. First report of *Pseudomonas cichorii* associated with leaf spot on soybean in South Korea. *Plant Disease* 96: 142.
- <sup>104.</sup> Zainudin, M.A.M., Hamid, A.A., Anwar, F., Osman, A., Saari, N., 2013. Variation of bioactive compounds and antioxidant activity among three cultivars (B2 B10 and B17) of carambola (*Averrhoa carambola* L.) fruits. *Agrochimica* 57 (3), 264–278.
- <sup>105.</sup> Zhou Y., Choi Y.L., Sun M., Yu Z. Novel roles of *Bacillus thuringiensis* to control plant diseases. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008. 80: 563-572.

ANEXOS

• MATRIZ DE CONSISTENCIA

Título: INHIBICIÓN DE BACTERIAS FITOPATÓGENAS A PARTIR DE EXTRACTOS POLIFENÓLICOS DE CÁSCARAS DE CAMU CAMU Y CARAMBOLA PARA LA AGRICULTURA ORGÁNICA					
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General	Variables	Indicadores	Metodología
¿Se producirá inhibición de crecimiento bacteriano de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> y <i>Pseudomona cichorii</i> por las concentraciones de los extractos polifenólicos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) y <i>Averrhoa carambola</i> (carambola)?	Evaluar la inhibición del crecimiento bacteriano de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> y <i>Pseudomona cichorii</i> producida por las concentraciones de los extractos polifenólicos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) y <i>Averrhoa carambola</i> (carambola).	Las concentraciones de extractos polifenólicos utilizando cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) y <i>Averrhoa carambola</i> (carambola) presentan un efecto inhibitorio sobre <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> y <i>Pseudomona cichorii</i> .	<b>Variable Independiente</b> X= Variable Independiente,  X=Concentración de los extractos polifenólicos de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu) y <i>Averrhoa carambola</i> (carambola)	Inhibición de bacterias fitopatógenas.  I1: Inhibición con extracto polifenolico al 10% de Etanol.  I2: Inhibición con extracto polifenolico al 30% de Etanol.  I3: Inhibición con extracto polifenolico al 50% de Etanol.  I4: Inhibición con extracto polifenolico al 10% de Acetona.  I5: Inhibición con extracto polifenolico al 30% de Acetona.  I6: Inhibición con extracto polifenolico al 50% de Acetona.  I7: Inhibición con extracto polifenolico al 10% de Cloroformo.  I8: Inhibición con extracto polifenolico al 30% de Cloroformo.  I9: Inhibición con extracto polifenolico al 50% de Cloroformo.	<b>Tipo de investigación:</b>  El presente trabajo es de carácter experimental  <b>Diseño de la investigación:</b>  La investigación es de tipo correlacional negativa, determinándose la varianza con el método de ANOVA, incluyendo la prueba de la diferencia significativa honesta (DSH) de Tukey.  <b>Población y muestra:</b>  La población lo constituye una gran diversidad de bacterias fitopatógenas.  La muestra está constituida por las especies fitopatógenas ( <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> y <i>Pseudomona cichorii</i> )
	<b>Objetivos Específicos</b>		<b>Variable Dependiente</b> Y= Variable Dependiente,  Y= Inhibición de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> y <i>Pseudomona cichorii</i>		
	Determinar la concentración del extracto de polifenólico de cáscaras de <i>Myrciaria dubia</i> (camu camu), para inhibir el crecimiento de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> y <i>Pseudomona cichorii</i>  Determinar la concentración del extracto de polifenolico de las cáscaras de <i>Averrhoa carambola</i> (carambola), para inhibir el crecimiento de <i>Erwinia carotovora subsp carotovora</i> y <i>Pseudomona cichorii</i> .				

• ESQUEMA TENTATIVO DE LA TESIS

- Cáscara de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Averrhoa carambola* (carambola).
- Solventes: Acetona, Cloroformo y Etanol.
- Bacterias Fitopatógenas: *Erwinia carotovora subsp carotovora* y *Pseudomonas cichorii*

