

UNIVERSIDAD NACIONAL DE FRONTERA

Facultad de Ingeniería de Industrias Alimentarias y Biotecnología

Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias



**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la
cáscara de *Spondias dulcis* sobre *Colletotrichum spp.***

Autor: Br. Jesus Alejandro Sarango Sanchez

Asesor: Dr. Manuel Jesús Sánchez Chero

Co-asesor: MSc. Jorge Edwin Vega Portalatino

Registro: PY-EPIIA-046

SULLANA - PERÚ

2022

Dedicatoria

Dedico este trabajo Dios que me guía por el buen sendero de la vida, a mi hermana Ana, mi hermano Juan, mi sobrino Martin; mi madrina Elka Carreño, mi madre Hilda que en paz descansa, mi papa Juan R. Sarango, a mis primos; Maricielo, Manuel, Moisés; kelvin, Kim, Gloria, Rosita C.S, tía Digna Atoche, amigos; Cesar, Iván, Viviana; solo quiero decir que muchas gracias por su apoyo incondicional en todo este tiempo.

Agradecimiento

A la Universidad Nacional de Frontera por el respaldo monetario para el desarrollo de esta investigación y por motivar a otros estudiantes a realizar investigaciones que aporten un grano de conocimiento a la sociedad.

Le doy gracias al Dr. Manuel Jesus Sanchez Chero por su dedicación durante el proceso desarrollo de la tesis. Asimismo, mi gratitud al MSc. Edwin Vega Portalatino por compartir sus experiencias que ayudaron mucho al desarrollo de este trabajo.

Al personal de laboratorio de la UNF; Blgo Renato Cueva y a la Ing. Keyla Caicedo por su disposición y apoyo en los trabajos de laboratorio, que Dios los bendiga.

Al Ing. William Daniel Vera Jiménez una persona excepcional que siempre confió en mí y siempre me está guiando por el buen camino para poder ser una mejor persona y a la misma vez decirle que ha sido como un mentor en todo este tiempo.

A la Ing. Rosario Del Pilar Flores Sernaqué por su apoyo incondicional alentándome para poder cumplir mis metas y por su aporte a la ejecución de la tesis.

A los tesisas: Jaime Valdiviezo, Jhoam Saavedra, Luis Ruiz, Mabel Arana, Enrique Mauricio por compartir sus experiencias, brindarme capacitación en manejo de datos y poder absolver mis dudas.

Así mismo a mis tíos Wilmer Alejos Madrid, Maricarmen Guerrero Vines gracias por su apoyo incondicional.

A mis primas Maribel Carmen Sarango y Mitzi Valdivia Sarango por apoyarme en mi época universitaria tanto en lo moral como en lo económico, gracias sobre todo por sus consejos a favor de mi desarrollo personal.

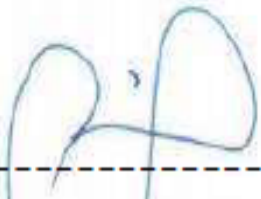
Por último, a mis amigos Cristhiam Moscol, Manuel More, Deyvis Gonzales y Renato Lee, gracias por estar siempre en las buenas y, sobre todo, en las malas.

	UNIVERSIDAD NACIONAL DE FRONTERA Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias				
	ANEXO 3 - C Carta de Compromiso de Asesoramiento de Proyecto de Tesis para obtener el Título Profesional				
	Factor 7: Código Estándar 22-23-34 Acreditación-SINEACE [®]	Criterios 1,3,4,10 de Acreditación-ICACIT ^{SI}	Versión: 001	Aprobado: Resolución N° 168/2021-UNF/CO	Fecha: 25/05/2021

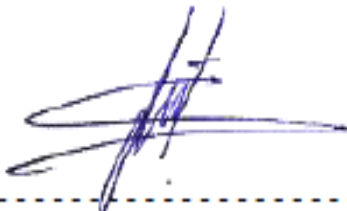
Los suscritos, docentes del Departamento Académico de **Ingeniería de Industrias Alimentarias** de la UNF, de la Facultad de **Ingeniería de Industrias Alimentarias**, con conocimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Frontera, nos comprometemos y dejamos constancia por la presente que asesoraremos en el desarrollo del Proyecto de Tesis, titulado **"Inhibición *in vitro* del extracto etanólico de la cáscara de *Spondias dulcis* sobre *Collectotrichum spp.*"**, presentado por la autor: **Jesús Alejandro Sarango Sánchez**.

En señal de conformidad, firmamos.

Sullana, 20 de agosto de 2021.



 Dr. Manuel Jesús Sánchez Chero
 DNI: 16675940



 MSc. Jorge Edwin Vega Portalatino
 DNI: 45016345

Visto Bueno del Asesor de la tesis

El docente de la Universidad Nacional de Frontera, Dr. Manuel Jesús Sanchez Chero asesor designado según resolución N°194-2021-UNF-VPAC/FIIA, hago constar que he asesorado la tesis titulada “Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la cáscara de *Spondias dulcis* sobre *Colletotrichum spp*”, del bachiller Jesús Alejandro Sarango Sanchez de la facultad de Ingeniería de Industrias Alimentarias y Biotecnología, Escuela profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias.

El suscrito da el visto bueno del mencionado proyecto de investigación dándole pase para que el informe de tesis perfectamente redactado sea sometido a las siguientes etapas correspondientes para la obtención de la constancia de aprobación del informe de investigación por parte de las autoridades correspondientes de la Facultad de Ingeniería de Industrias Alimentarias y Biotecnología.

Sullana, 31 de octubre de 2022.



Manuel Jesús Sanchez Chero

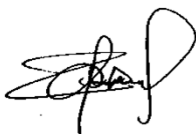
Asesor



MSc. Jorge Edwin Vega Portalatino

Co. Asesor

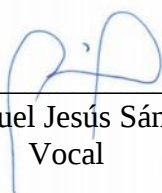
JURADO EVALUADOR



Mg. Deyvi David Cungaía Piedra
Presidente



MBA. Diego Salvador Lachira Estrada .
Secretario



Dr. Manuel Jesús Sánchez Chero.
Vocal

ANEXO 3-K

Acta de evaluación



**UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
FRONTERA**

Acta de Evaluación de Sustentación del Informe de Tesis

Siendo las 14:00 horas del día 02 del mes de diciembre del año 2022 se reunieron en la sala virtual <https://meet.google.com/aar-utnu-omh> de la Universidad Nacional de Frontera, los miembros del Jurado de Tesis para evaluar el Informe de Tesis denominado: “EFECTO INHIBITORIO in vitro DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA CÁSCARA DE *Spondias dulcis* SOBRE *Collectotrichum spp*”

Siendo sustentado en sesión pública por el autor: Br. JESÚS ALEJANDRO SARANGO SÁNCHEZ, como requisito para obtener el Título Profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias.

Terminada la sustentación, se procedió a la defensa del Informe de Tesis, etapa en que los miembros del Jurado de Tesis formularon sus inquietudes y preguntas de manera individual, las que fueron respondidas por el sustentante.

Seguidamente, el Jurado solicitó el retiro de todos los asistentes y del sustentante de la sala virtual o física según sea el caso; el Jurado de Tesis determinó la calificación concedida a la sustentación del Informe de Tesis para la Obtención de Título Profesional, en términos de:

Aprobado (a) con el calificativo de 18 (Dieciocho), levantándose la sesión a: 14: 33 horas del mismo día. Se concluye el acto de sustentación, suscribiendo el acta.

Presidente

Mg. Deyvi David Cunga Piedra

Secretario

MBA. Diego Salvador Lachira Estrada

Chero

Vocal

Dr. Manuel Jesús Sánchez

No.	DESCRIPCIÓN	RECOMENDAR	
		SI	NO
1.	Recomendar para presentar en eventos	X	
2.	Recomendar para publicación	X	
3.	Recomendar para patente		
4.	Recomendar para Meritorio		
5.	Recomendar para Laureado		

Código:



Anexo 2: Informe de similitud del evaluador

DATOS DEL EVALUADOR

Facultad / dependencia	Ingeniería de Industrias Alimentarias y Biotecnología
Nombre del evaluador	Manuel Jesús Sánchez Chero
Cargo del evaluador	Asesor de tesis

DATOS DEL DOCUMENTO EVALUADO

Tipo de documento	Informe de tesis
Título del documento	Efecto inhibitorio in vitro del extracto etanólico de la cascara de <i>Spodias</i>
Autor (es)	dulcis sobre <i>colletotrichum</i> spp. jesús alejandro sarango sánchez
Fecha de presentación	

DE LA EVALUACIÓN DE SIMILITUD

Fecha de revisión	6/12/2022	¿Se aplicaron exclusiones?	☐ SI ☒ NO
-------------------	-----------	----------------------------	--

Detalle de las exclusiones

ITEM	%	JUSTIFICACIÓN

Comentarios / observaciones

--

RESUMEN DE LA EVALUACIÓN

% similitud inicial (sin exclusiones)	
% de exclusiones	
% de similitud final	12

% DE REFERENCIA³

Aceptable	≤ 15%
Con observaciones	> 15 % y ≤ 50%
No aceptable	> 50 %

CONCLUSIÓN

☒	Documento conforme a los criterios de originalidad, sin observaciones. Se otorga Visto Bueno para continuar con los trámites.
☐	Documento conforme a los criterios de originalidad, con observaciones. Se recomienda que el autor realice las subsanaciones correspondientes.
☐	Documento NO conforme a los criterios de originalidad, se rechaza el documento.

Se adjunta reporte de similitud del software Turnitin.

Firma del Evaluador

³ Conforme a lo establecido en la tabla 1, numeral 6.2, de la Directiva para uso del software de similitud de la UNF.

Índice

1. INTRODUCCIÓN	13
1.1. Mango ciruelo (<i>Spondias dulcis</i>)	14
1.1.1. Origen de mango ciruelo	15
1.1.2. Composición química del mango.....	15
1.2. Extractos vegetales.....	16
1.3. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	17
1.4. Inhibición <i>in vitro</i>	19
1.5. Problema de investigación.....	19
1.6. Objetivos.....	19
1.6.1. Objetivo genereal.....	19
1.6.2. Objetivos especificos.....	19
1.7. Antecedentes	20
1.8. Hipótesis	21
2. MATERIALES Y MÉTODOS	22
2.1. Materiales.....	22
2.1.1. Material vegetal.....	22
2.1.2. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	22
2.1.3. Equipos.....	22
2.1.4. Medios de cultivo e insumos.....	23
2.1.5. Material de laboratorio.....	23

2.1.6. Elementos de proteccion personal.....	23
2.2. Métodos.....	24
2.2.1. Recolección de frutos de <i>Spondias dulcis</i>	24
2.2.2. Identificación taxonómica.....	24
2.2.3. Elaboración del extracto etanolico.....	25
2.2.4. Caracterización fisicoquímica del extracto.....	28
2.2.5. Preparación de las concentraciones del extracto.....	29
2.2.6. Preparación del inculo.....	29
2.2.7. Pruebas de inhibición <i>in vitro</i>	29
2.2.8. Análisis estadístico.....	30
 3. RESULTADOS	 30
3.1. Obtención del extracto	30
3.2. Características fisicoquímicas del extracto.....	31
3.3. Prueba de efecto inhibición sobre el hongo	31
 4. DISCUSIÓN	 33
 5. CONCLUSIÓN	 35
 6. RECOMENDACIONES	 35
 7. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	 36
 8. ANEXOS	 42

Índice de tablas

Tabla. 1 Clasificación taxonómica de <i>Spondias dulcis</i>	14
Tabla. 2 Composición química del fruto de <i>Spondias dulcis</i>	15
Tabla. 3 Cultivos afectados	18
Tabla. 4 Nivel de pH, acidez y contenido de fenoles totales del extracto	318
Tabla. 5 Análisis de varianza para los resultados de la prueba de difusión en placa	32

Índice de figuras

Figura. 01 Producción nacional de <i>Spondias dulcis</i>	16
Figura.02 Procedimiento general del estudio.....	24
Figura. 03 Identificación taxonómica de la especie vegetal	25
Figura. 04 Procedimiento para la elaboración del extracto etanólico	26
Figura. 05 Procedimiento de reactivación de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	29
Figura. 06 Prueba de difusión en placas	31
Figura. 07 Identificación taxonómica	42
Figura. 08 Frutos de <i>Spondias dulcis</i> pelados.....	42
Figura. 09 Cáscara de <i>Spondias dulcis</i>	42
Figura. 10 Molienda de la Cáscara de <i>Spondias dulcis</i>	43
Figura. 11 Macerado de las cáscaras molidas de <i>Spondias dulcis</i> con etanol.....	44
Figura. 12 Filtrado de la solución macerada	47
Figura. 13 Concentracion del extracto en equipo rotavapor	47
Figura. 14 Extracto viscoso almacenado en desecador	47
Figura. 15 Medición de la densidad del extracto.....	47
Figura. 16 Medición del pH del extracto.....	47

Figura. 17 Medición de fenoles totales.....	47
Figura. 18 Reactivación e incubación del hongo	48
Figura. 19 Medición de crecimiento del hongo sobre el extracto día 1	49
Figura. 20 Medición de crecimiento del hongo sobre el extracto día 3	50
Figura. 21 Medición de crecimiento del hongo sobre el extracto día 15	51
Figura. 22 Gestión de autorización de permiso hacia el proveedor para el recojo de muestra vegetal	52

Resumen

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto inhibitorio a nivel *in vitro* del extracto etanólico de la cáscara de *Spondias dulcis* sobre el *Colletotrichum gloeosporioides* que es un hongo causante de la enfermedad conocida como antracnosis la cual afecta la calidad organoléptica y su valor nutricional de diversos frutos como la palta (*Persea americana*), mango (*Mangifera indica*), papaya (*Carica papaya*) generando pérdidas económicas. A causa de este problema se realizó esta investigación para tomar medidas para el control biológico, uno de ellos son los extractos vegetales, como: las cáscaras de mango ciruelo paso por un proceso de deshidratación, se trituro y se tamizo, luego se macero con etanol de 70° por un periodo de 15 días, se aplicó agitación manual por 20 minutos una vez cada 24 horas, se filtró y posteriormente se usó el equipo rotavapor para extraer el solvente (etanol) hasta obtener hasta concentrar la muestra y obtener un extracto viscoso, a partir de ese extracto se prepararon tratamientos utilizando diferentes concentraciones del extracto etanólico (10,30 y 50 %) donde se observó el crecimiento inhibitorio contra el hongo (*Colletotrichum gloeosporioides*) después de distintas evaluaciones la concentración de 50 % se obtuvo una mayor inhibición, concluyendo que mediante estudios a nivel *in vitro* el extracto de la cáscara de mango ciruelo (*Spondias dulcis*) presenta actividad inhibitoria contra el hongo *colletotrichum gloesporioides*.

Palabras clave: Antracnosis, Inhibición *in vitro*, Hongo (*Colletotrichum gloeosporioides*), *Spondias dulcis*.

.

Abstract

The objective of this research was to determine the inhibitory effect at in vitro level of the ethanol extract of *Spondias dulcis* peel on *Colletotrichum gloeosporioides*, a fungus that causes the disease known as anthracnose, which affects the organoleptic quality and nutritional value of various fruits such as avocado (*Persea americana*), mango (*Mangifera indica*) and papaya (*Carica papaya*), generating economic losses. Because of this problem, this research was carried out to take measures for biological control, one of them are plant extracts, such as: mango plum peels went through a dehydration process, crushed and sieved, then macerated with 70° ethanol for a period of 15 days, manual agitation was applied for 20 minutes once every 24 hours, filtered and then used the rotary evaporator equipment to extract the solvent (ethanol) until the sample was concentrated and a viscous extract was obtained, From this extract, treatments were prepared using different concentrations of ethanol extract (10, 30 and 50%) where inhibitory growth was observed against the fungus (*Colletotrichum gloeosporioides*). After different evaluations, the concentration of 50% obtained a greater inhibition, concluding that through studies at in vitro level the extract of mango plum (*Spondias dulcis*) presents inhibitory activity against the fungus *Colletotrichum gloeosporioides*.

Key words: Anthracnose, In vitro inhibition, Fungus (*Colletotrichum gloeosporioides*), *Spondias dulcis*.

.

1. INTRODUCCIÓN

El hongo *Colletotrichum gloeosporioides* es un fitopatógeno, uno de los responsables de causar la antracnosis en el fruto durante su crecimiento en la planta, hasta la postcosecha generando pérdidas hasta un 100% (Landeró et al., 2016). Las especies de *Colletotrichum* por lo general provocan la antracnosis, estas especies abarcan una diversa gama de huéspedes y producen pérdidas económicas en diversos cultivos importantes como; los hortícolas, los arbóreos, los frutales. (Yang et al., 2014). Para controlar la antracnosis, se utilizan múltiples aplicaciones de fungicidas formulados con diferentes ingredientes químicos que podrían traer efectos negativos al ecosistema y la salud humana. Otro inconveniente con el uso de los químicos es su costo relativamente elevado (Valdez et al., 2022). Las plantas del género *Spondias* presentan floración correspondiente al linaje de los anacardos (Anacardiaceae). Esta planta abarca 18 especies distribuidas en las distintas regiones tropicales del mundo (Sameh et al., 2018). La especie a tratar en este trabajo es la del género *Spondias dulcis* conocido popularmente como mango ciruelo que se cultiva en la ciudad de Marcavelica y constituye una fuente significativa de ingresos familiar el periodo correspondiente entre junio a julio donde se obtiene mayores cosechas. Para combatir esta enfermedad se recurren a prácticas convencionales como la aplicación de productos químicos, pero con uso inadecuado ocasionando un desequilibrio ecológico dando al surgimiento de plagas y enfermedades y resistentes a ciertas sustancias de uso cotidianamente (Aguilar et al., 2022). Debido a esto se requieren enfoques alternativos con el fin de mitigar las plagas, cuyas alternativas propuestas por muchos investigadores proponen los extractos vegetales, ya que estos son económicos, seguros bioefectivos y biodegradables para el ambiente (Zakaria et al., 2020). Por tanto, se quiere obtener un producto natural que permita controlar el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*.

1.1. Mango ciruelo (*Spondias dulcis*)

Este fruto usualmente se ubica en lugares de climas templados, tropical y subtropical (Pechyen et al., 2022). Este fruto presenta un color amarillo-anaranjado, varían entre 4-5 cm de largo, posee una forma de ovoide de cáscara fina y lisa, su forma de propagación puede ser vegetativamente o por semillas (Mostacero et al., 2017). La fruta madura se utiliza para elaborar zumos y mermelada; pero también se consume en forma fresco. Las hojas jóvenes se utilizan como condimento o cocinadas como verdura, mientras que las hojas maduras se utilizan en ensaladas (Sinan et al., 2021). El mango ciruelo se puede utilizar para preparar diferentes productos como confitura, paletas de helado, extractos, etc. En la región de Loreto, por ejemplo, es una región productora de bebidas fermentadas a partir de esta fruta (Instituto Tecnológico de la Producción, 2019). En la tabla 1 este árbol pertenece a la familia de anacardiaceae, genero *Spondias*, tal como detallara en la tabla 1.

Tabla 1

Clasificación taxonómica de Spondias dulcis.

Categoría	Nomenclatura
Reino	Plantae
Subreino	Viridiplantae
Infrareino	Streptophyta
Division	Tracheophyta
Subdivision	Spermatophytina
Infradivision	Angiospermae
Clase	Magnoliopsida
Superorder	Rosanae
Order	Sapindales
Family	Anacardiaceae
Genus	Spondias

Nota: adaptado de (sameh et al, 2018).

1.1.1 Origen de mango ciruelo

El fruto de *Spondias dulcis* es originario de Asia específicamente de la Polinesia (Santana et al., 2018). Fue introducido desde el siglo XVIII en el pacífico sur y se planta en los huertos domésticos de todo el neotrópico húmedo (Mitchell & Daly, 2015).

1.1.2 Composición química del mango ciruelo

Este fruto es rico en vitaminas como A y B, fibra, calcio fósforo y hierro, nutrientes esenciales para una vida sana (Santana et al., 2018). En la tabla 2 se detalla su constitución química. Porción por cada 100 gramos de pulpa.

Tabla 2

Composición química del fruto Spondias dulcis.

Composición	Unidades	Porción por cada 100 gramos de pulpa
Agua	G	84.5
Grasa	G	0.3
Carbohidratos	G	14.2
Proteínas	G	0.5
Calcio	Mg	41.0
Fósforo	Mg	27
Ácido ascórbico	Mg	5.9

Nota: Adaptado de (Ministerio de salud, 2017).

Compuestos bioactivos

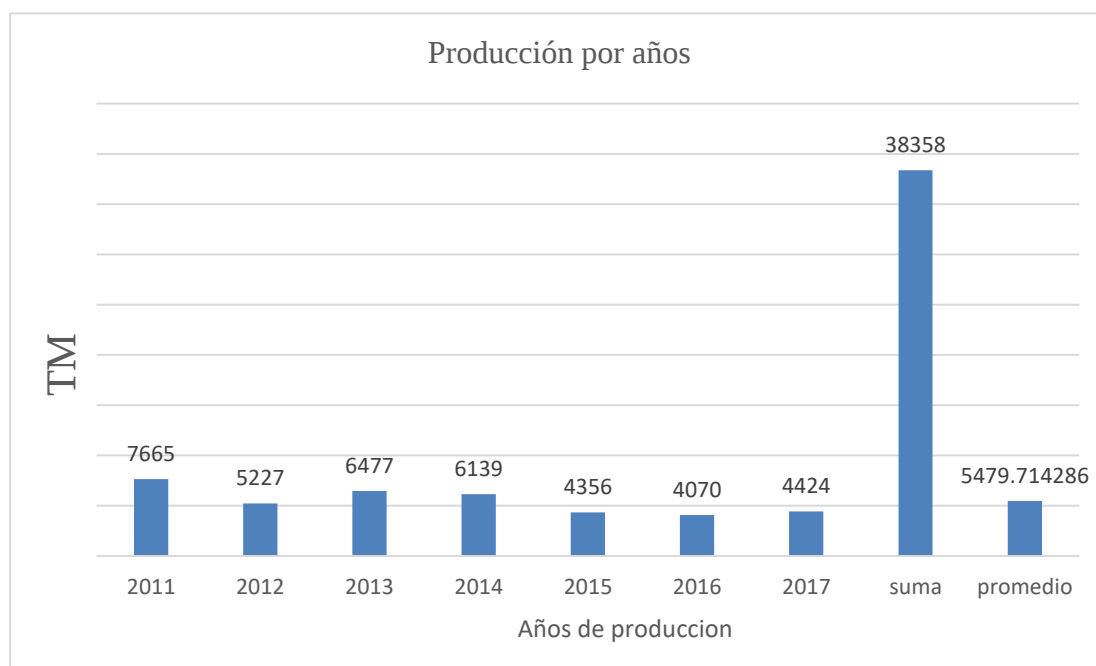
Entre los compuestos mediante análisis de cromatografía líquida de ultra alta resolución-espectrometría de masas de alta resolución (UHPLC-HRMS) ,se evaluó a las *Spondias dulcis* y *Spondias mombin* llegando a identificar cerca de 98 compuestos que muestran que los principales metabolitos secundarios de la planta son los ácidos gálico y elágico y sus derivados como; elagitaninos, hidroxibenzoico, ácidos hidroxicinámicos, acilquínicos y flavonoles, flavanonas y flavanonoles (Sinan et al., 2021).

Producción nacional

La producción nacional de *Spondias dulcis* durante el periodo comprendido entre los años 2011 al 2017 se muestra en la figura 1 donde se observa una tendencia decreciente con un promedio de 5479.71 de TM. (INEI 2018). Asimismo, las principales zonas de producción son Ucayali, Loreto, Huánuco y Piura (MINAGRI ,2018).

Figura 1

Producción a través de los años de Spondias dulcis



Nota. Adaptado del INEI (2018)

1.2. Extractos vegetales

Es la preparación que puede ser cualquier parte de la planta; tallos, hojas, frutos, semillas, cáscaras; estos tejidos son macerados con un solvente (metanol, etanol), posteriormente pasan por un proceso concentración hasta obtener un extracto solido o seco (Marcano & Hasegawa, 2018). Para la obtención de extracto se tienen distinto métodos como; método de sohlex, fluidos supercríticos, expresión, destilación con vapor de agua y solventes volátiles (Bermúdez, 1999). Se podría decir que debido a la presencia de metabolitos secundarios asociados a los extractos vegetales presentan una actividad microbiana. (Zapata et al, 2003). En este estudio se emplea la técnica de extracción por solvente, un modelo de extracción solido-liquido, específicamente “extracción etanoica”, para la obtención de compuestos bioactivos vegetales

se utiliza esta técnica ya que posee un amplio modo de aplicaciones, este proceso consiste homogenizar soluto (material vegetal) y solvente (etanol) en un recipiente de preferencia material ámbar para proteger los compuestos sensibles a la luz solar, este proceso es de acceso fácil de implementar ya que no requiere de un equipamiento sofisticado y permite obtener una cantidad mayor de compuestos de interés sin alterarlos, un inconveniente sería que es un proceso lento que puede tardar varios días (Azwanida, 2015).

1.3. *Colletotrichum gloeosporioides*

Denominado un agente facultativo, en una planta (tallo, hoja, fruto) puede vivir como un patógeno o como un saprofito.(Perez et al., 2017). Este hongo ejerce su crecimiento bajo ciertas condiciones como temperaturas que varían entre 25-28 °C, y pH 5.8-6.5, generalmente, se reporta que su genoma completo aún no está debidamente secuenciado, pero se han detectado distintos genes que intervienen en la patogénesis y la defensa del huésped (Sharma & Kulshrestha, 2015). Por lo tanto, las especies de *Colletotrichum* provocan enfermedades en los cereales, las hierbas, las legumbres, las plantas de ornamentación, las hortalizas y los árboles afruitados. Para introducirse en la planta huésped, desarrollan estructuras de infestación especializadas, denominadas apresorios, que son células individuales melanizadas desarrolladas a partir de conductos germinales de conidios. La formación de apresorios y la invasión del huésped por el género *Colletotrichum* constituyen un mecanismo para evaluar la recepción de señales del entorno y el crecimiento celular de los hongos patógenos(Kubo, 2012). A continuación, mencionaremos algunos cultivos afectados por el género *Colletotrichum spp* ver en la tabla 3.

Tabla 3*Cultivos afectados por el colletotrichum.*

<i>Cultivos</i>	<i>Especie</i>	<i>Referencias</i>
Arveja	<i>C. lindemuthianum</i>	(Aguilar et al., 2021)
	<i>C. truncatum</i>	
Camu camu	<i>C. gloeosporioides</i>	(Perez et al , 2006)
Ñame	<i>C. gloeosporioides</i>	(Weir et al., 2012;
Papaya	<i>C. gloeosporioides</i>	(Suwannart et al., 2017).
Chilli	<i>C. acutatum</i>	(Oo M,2016)
Aguacate o palta	<i>C. gloeosporioides</i>	(Tapia et al., 2020)
Soja	<i>C. truncatum</i>	(Ramos et al., 2010)
Arándanos	<i>C. fructicola</i> , <i>C. siamense</i> y <i>C. kahawae</i> pertenecen al complejo de especies <i>C.</i> <i>gloeosporioides</i>	(Liu et al., 2020)
Mango Tommy Atkins	<i>C. gloeosporioides</i>	(Valdez et al., 2022)
Té	<i>C. camelliae</i> Massee	(Villa et al ,2017; He et al., 2019)
palma de açai	<i>C. gloeosporioides</i>	(Peters et al., 2020)
Astragalus membranaceus	<i>C. spinacia</i>	(Jin et al., 2021)
Fresa	<i>C. gloeosporioides</i>	(Schnabel et al., 2021)
	<i>C. truncatum</i>	

Nota: En la presente tabla se muestran los estudios que reportan el daño por el *Colletotrichum* sp. en principales cultivos.

1.4. Inhibición in vitro

Son aquellos procedimientos de laboratorio que nos permiten determinar la sensibilidad de las bacterias por acciones de sustancias antibacterianas, las pruebas de dilución y difusión son los más empleados en inhibición *in vitro* (Khan et al., 2019).

1.5. Problema de investigación

La antracnosis es provocada por el hongo *Colletotrichum*, el mismo que está presente en muchas subclases, como *gloeosporioides* y *acutatum*. Como síntomas se observan en el fruto ya maduro manchas de color pardo oscuro de forma circular y con una depresión en el fruto, frutos como la palta (*Persea americana*), mango (*Mangifera indica*), papaya (*Carica papaya*) afectando la producción para la exportación y abastecimiento de alimentos. Para el control de este hongo actualmente se usan diversos insumos químicos para su control que afecta a la salud de las personas. por lo tanto, en la búsqueda de alternativas de nuevas fuentes naturales que permiten inhibir el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* es de mucho interés. Ante lo expuesto se plantea como problema: ¿Existirá efecto inhibitorio in vitro estadísticamente significativo aplicando extracto etanólico de la cáscara de *S. dulcis* al 10%, 30% y 50% sobre *Colletotrichum gloeosporioides*?

1.6. Objetivos

1.6.1. Objetivo general

- Determinar si existe efecto inhibitorio in vitro estadísticamente significativo aplicando extracto etanólico de la cáscara de *Spondias dulcis* sobre *Colletotrichum gloeosporioides*.

1.6.2. Objetivos específicos

- Obtener extracto etanólico de la cáscara de *Spondias dulcis*.
- Caracterizar el extracto etanólico de la cáscara de *Spondias dulcis*.
- Determinar la actividad inhibitoria in vitro del extracto sobre el *colletotrichum gloeosporioides*.

1.7. Antecedentes

Se han seleccionado trabajos relacionados con el tema planteado en el presente proyecto de tesis, para lo cual se partió de una búsqueda de literatura científica en diversas bases bibliográficas, así tenemos:

En el trabajo realizado por Bautista et al. (2002), evaluaron la capacidad de inhibición de los extractos acuosos elaborado de hojas y tallos de *Spondias purpurea* sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, los estudios in vitro evidenciaron una moderada actividad antifúngica del extracto acuoso de hojas de *S. purpurea* con un porcentaje de inhibición micelial del 50% y en el caso del extracto del tallo, el efecto fue menor alcanzando tan sólo un 37.5 % de índice de inhibición.

Por su parte , Hernández-Albíter et al. (2007), evaluaron el efecto antifúngica de macerados crudos de 40 plantas tropicales sobre *Colletotrichum gloeosporioides*; de los cuales sólo 12 mostraron actividad inhibitoria contra el hongo objetivo, los mejores efectos inhibitorios se obtuvieron con extractos *Schinus molle* , *Petroselinum sativum*, *Origanum majorana*, *Citrus aurantifolia*, *Citrus aurantium*, *Justicia spicigera*, *Ricinus communis*, *Parthenium hysterophorus*, *Bougainvillea spectabilis* y *Carica papaya*, especies caracterizadas por un alto contenido de fenoles totales.

Por su parte, Silva et al. (2012), caracterizó químicamente los macerados metanólicos de hojas de *Spondias tuberosa* y *Spondias mombin*, determinando un importante contenido de flavonoides expresados en equivalentes a quercetina, ácido elágico y rutina. La mayor cantidad de compuestos bioactivos se obtuvieron con la especie *Spondias mombin* con $24,46 \pm 0,87$ mg / g de quercetina, $169,76 \pm 0,17$ mg / g de ácido elágico y $53,38 \pm 1,71$ mg / g de rutina. La presencia de estas sustancias, se asocian con el potencial microbiano y antioxidante de la planta. En un estudio desarrollado por Marisco et al. (2017), registro el efecto antifúngico de los macerados etanólicos de las hojas *Sondias purpurea*, recolectadas en Bahía-Brasil. El microorganismo diana fue el fitopatógeno *Moniliophthora perniciosa*, el cual afecta principalmente a los cultivos de cacao ocasionando la enfermedad comúnmente conocida como “escoba de bruja”, los resultados evidenciaron una capacidad de inhibición del 60% en base a 10 mg/mL, asimismo, se logró inactivar las hifas a un 90% con un contenido de 8 mg/mL.

Por lo tanto, definitivamente, los antecedentes nos indican que las plantas del género *Spondias* contienen compuestos fitoquímicos importantes como fenoles y flavonoides que otorgan un potencial antioxidante y antimicrobiano a estos productos vegetales, sin embargo, la especie a tratar en el presente proyecto; *Spondias dulcis*, no ha sido adecuadamente explorada en su

actividad antifúngica contra *Colletotrichum gloeosporioides*. por lo que se pretende cubrir este vacío de conocimiento mediante el estudio de una especie vegetal que se encuentra en las zonas de cultivo del Valle del Chira, asimismo, se busca encontrar alternativas viables para el control de *Colletotrichum gloeosporioides*, un hongo que afecta la calidad de las frutas en la etapa postcosecha y que genera pérdidas económicas en las agroexportaciones.

1.8. Hipótesis

- H₀: No existe inhibición in vitro estadísticamente significativa aplicando extracto etanólico de la cáscara de *Spondias dulcis* a concentraciones de 10, 30, 50 % sobre *Colletotrichum gloeosporioides*.
- H₁: Existe inhibición in vitro estadísticamente significativa aplicando extracto etanólico de la cáscara de *Spondias dulcis* a concentraciones de 10, 30, 50 % sobre *Colletotrichum gloeosporioides*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materiales

2.1.1. Material vegetal

Los frutos de *Spondias dulcis* fueron recolectados en el pueblo de mallaritos perteneciente al distrito de Marcavelica, sus coordenadas son; 4°52'54"S 80°42'12"O y altitud 48 msnm de la provincia de Sullana.

Se esterilizó el recipiente, el cual se manipulo exclusivamente para recolectar los frutos de mango ciruelo; una vez listo adquiridos los frutos en el distrito de Marcavelica, Sullana-Piura. Posteriormente se trasladaron hacía las instalaciones del laboratorio de análisis de Alimentos de la Universidad Nacional de Frontera ubicado en Av. Perú Canadá S/N, Nuevo Sullana, para su procesamiento y obtención de las cáscaras, el material vegetal fue identificado taxonómicamente en el Herbarium Truxilliense con registro N° 63636.

Criterios de inclusión: Frutos maduros, libres de daños físicos, mecánicos, o con evidencias de ataque por hongos, procedentes de campos de cultivo ubicados en el distrito de Marcavelica.

Criterios de exclusión: Frutos inmaduros, con daños físicos, mecánicos y con ataque por hongos, procedentes de campos de cultivo ubicados en zonas que no pertenecen al distrito de Marcavelica.

2.1.2. *Colletotrichum gloeosporioides*.

Se colectó el hongo aislado purificado e identificado de un trabajo de investigación previo (Saavedra, 2022) desarrollado en los laboratorios de la UNF.

2.1.3. Equipos

- Rota evaporador
- Cámara de bioseguridad
- Estufa de laboratorio
- Autoclave
- Refrigerador
- Molino de cuchillas
- Espectrofotómetro UV-Visible
- Balanza de precisión

2.1.4. Medios de cultivo e insumos

- Agar papa dextrosa (PDA)
- Etanol de 70°
- Agua destilada
- Folin
- Carbonato de sodio

2.1.5. Material de laboratorio

- Tubos de ensayo de vidrio con tapa rosca
- Tamizador # 20
- Micropipeta automática
- Puntas para micropipeta
- Cubetas descartables para espectrofotometría
- Papel Whatman # 1, de 125 mm de diámetro
- Placas Petri de borosilicato
- Frascos de vidrio color ámbar de 100 ml con tapa rosca
- Pinza estéril
- Asa bacteriológica con mango
- Palitos de madera estériles
- Picnómetro
- Termómetro
- pH-metro portátil
- Vernier digital

2.1.6. Elementos de protección personal

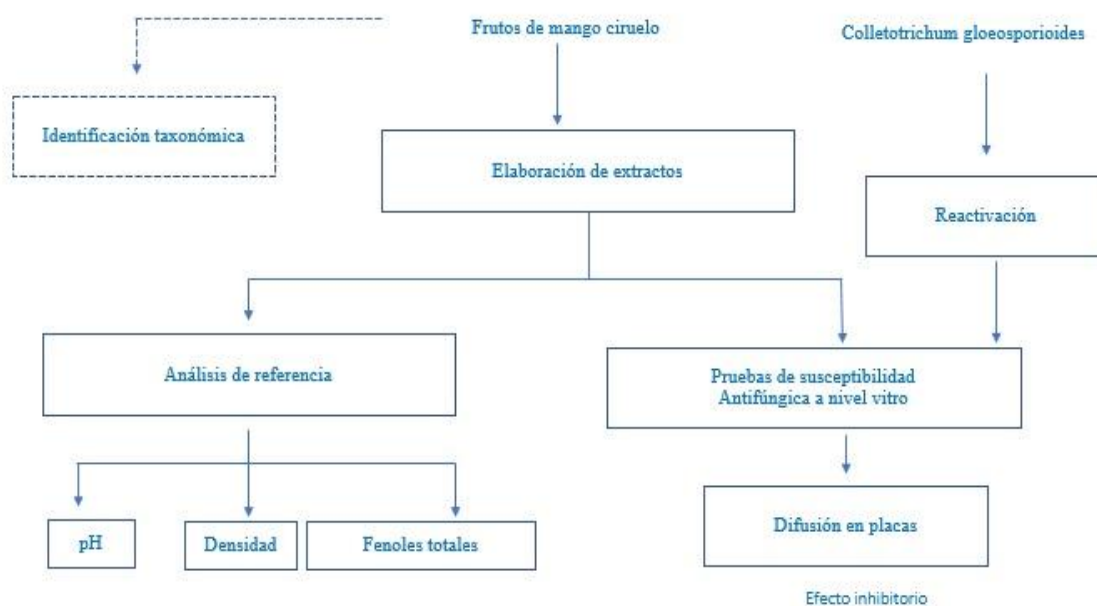
- Toca descartable
- Guantes de látex
- Tapa boca descartable
- Guardapolvo

2.2. Métodos

La presente investigación fue de tipo experimental y fue realizado en los laboratorios de la Universidad Nacional de Frontera. La metodología aplicada en este estudio se muestra en la Figura 2, la misma que se detalla en las siguientes secciones y subsecciones.

Figura 2

Procedimientos generales del estudio



Nota. Elaboración propia (2022).

2.2.1. Recolección frutos de *Spondias dulcis*

Los frutos de mango ciruelo fueron adquiridos en el pueblo de Mallaritos perteneciente al distrito de Marcavelica, una vez recolectado los frutos se trasladó hacia las instalaciones del laboratorio de análisis de Alimentos de la Universidad Nacional de Frontera ubicado en Av. Perú Canadá S/N, Nuevo Sullana, para su procesamiento y obtención de la cáscara.

2.2.2. Identificación taxonómica

Se recaudó varias muestras de ramas con hojas y flores que son caracteres anatómicos foliares de la planta de mango ciruelo, las mismas que se preno y deshidrato expuestas a la radiación solar, luego se montó y etiqueto en un cartón de acuerdo a las indicaciones del proveedor del servicio y se ingresaron a la colección botánica del Herbarium Truxillense de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación. El material

en estudio fue identificado como *Spondias dulcis*, tal como se muestra en la Figura 2 con el Registro N°63636 del Herbarium Truxillense.

Figura 3

*Identificación taxonómica de la especie vegetal. Este material vegetal identificado como *Spondias dulcis* depositado en la colección del Herbarium Truxillense*



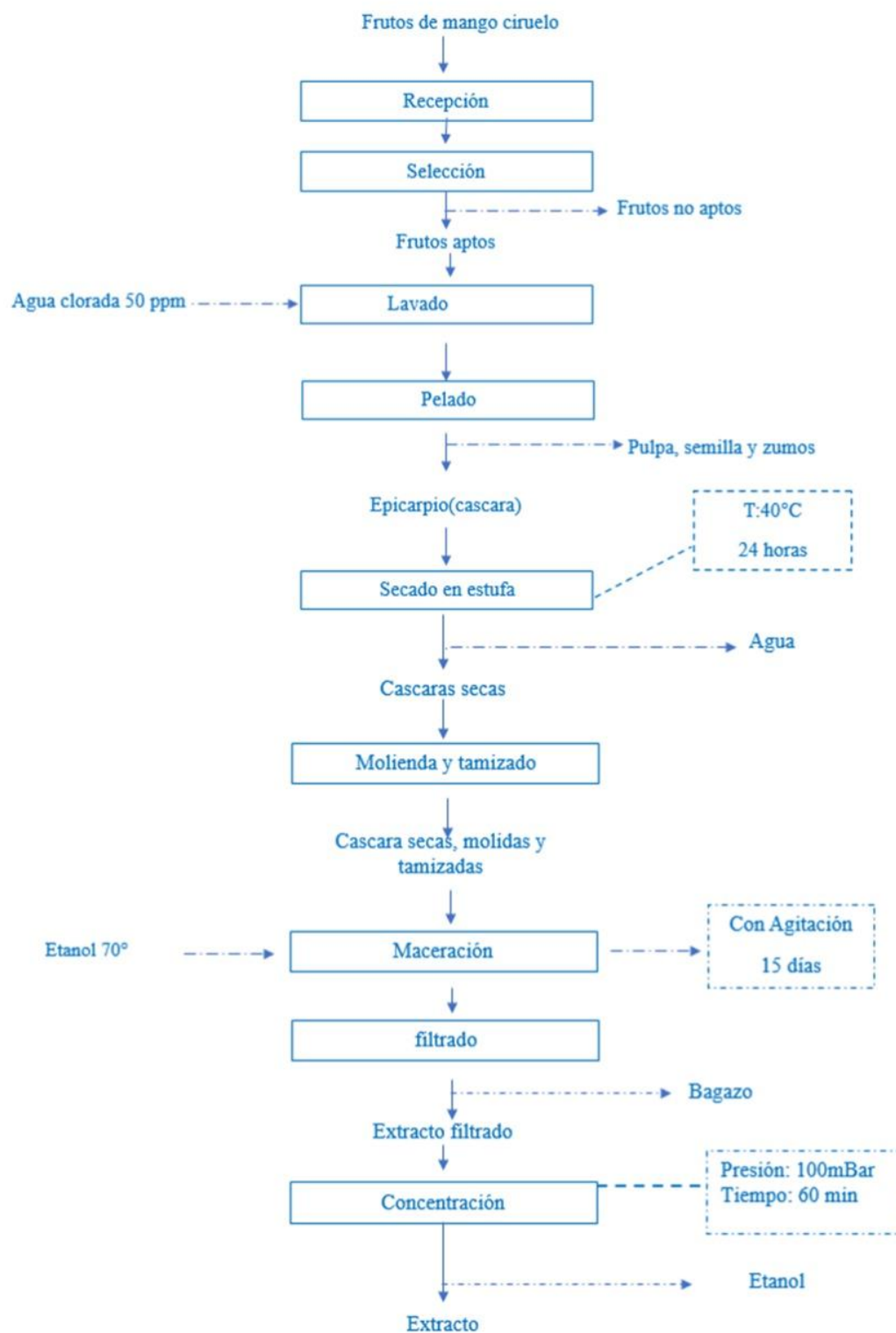
Nota: El ejemplar ingreso con el registro N°63636 del Herbarium Truxillense.

2.2.3. Elaboración del extracto etanólico

El extracto etanólico de *Spondias dulcis* se elaboró de acuerdo a lo descrito por Linares et al (2018) con algunas modificaciones; las cáscaras de mango ciruelo se llevó a un proceso de deshidratado, se trituro, luego se macero con disolvente de etanol de 70° por 15 días agitando manualmente por 20 minutos una vez cada 24 horas se filtró y concentró en equipo rotavapor para extraer el solvente (etanol) hasta obtener un extracto viscoso. El procedimiento experimental de este proceso se muestra en la Figura 4 y cada una de las etapas del proceso, se detallan en las subsecciones siguientes:

Figura 4

Procedimiento para la elaboración del extracto etanólico de Spondias dulcis



Nota: La figura muestra la secuencia, materiales, insumos y parámetros que intervinieron en la obtención del extracto etanolico. Elaboración propia (2022).

A continuación, se detalla se detallará el proceso de la obtención del extracto basando en el proceso descripto por Linares et al. (2018), con ciertas modificaciones del autor:

Recepción: frutos de *Spondias dulcis* se llevó a los Laboratorio de Tecnología de los Alimentos de la Universidad Nacional de Frontera, para su procesamiento inmediato.

Selección: En este proceso, por medio de un reconocimiento, visual, se seleccionaron manualmente los frutos verificando específicamente sin signos de estropeo durante el transporte, los frutos severamente estropeados se consideraron como no aptos para el proceso y se descartó. Los frutos calificados como aptos cumplán con los criterios de inclusión como se indican en la subsección 2.1.1.

Lavado: Los frutos que se encontró aptos fueron lavados con agua clorada a 50 ppm por un tiempo de 2 minutos para eliminar las impurezas físicas y principalmente microbiológicas que puedan estar presentes en la superficie de los frutos.

Pelado: Luego del lavado se dejó reposar los frutos por 5 minutos, inmediatamente después se les retiró la cáscara, mientras que la pulpa, semillas y zumo, se recolectaron de forma separada para una adecuada disposición por no ser de utilidad en el presente estudio.

Deshidratado en estufa: Las cáscaras del mango ciruelo se pesó y colocó en estufa a 40°C hasta que el peso de la muestra seca se estabilizó. Este proceso requirió un tiempo de 24 horas. Para comprobar el peso de las cáscaras se utilizó una balanza de precisión.

Molienda y tamizado: Las cáscaras secas se trituro en un molino eléctrico y se tamizó con malla n° 70 para estandarizar el tamaño de las partículas y favorecer el proceso de liberación de metabolitos durante el proceso de macerado.

Macerado: Se pesó 200 g de polvo seco y se colocaron en un frasco de vidrio color ámbar de 500 ml, luego se agregaron 400 ml de etanol de 70 °, se tapó el frasco y se ubicó en un lugar oscuro, protegido de la radiación luz para evitar pérdida de compuestos antioxidantes. En estas condiciones, se dejó macerar por 15 días, aplicando agitación manual por 20 minutos cada 24 horas.

Filtrado: La solución macerada en etanol se filtró usando papel Whatman # 1, esta operación permitió separar gran parte de los sólidos en suspensión, descartando así los

sólidos conocidos comúnmente como bagazo.

Concentración: El extracto filtrado se concentró en un equipo rotavapor con el fin de eliminar el solvente, las condiciones de operación fueron a una presión reducida (100 mbar), temperatura de 40 °C por un tiempo de 60 minutos. El extracto en forma de pasta se colocó en un frasco estéril, luego se almacena en un desecador provisto con gel sílice hasta su uso, el desecador se cubrió con papel aluminio con fin de impedir el paso de la luz solar.

2.2.4. Caracterización fisicoquímica del extracto

Se realizó la caracterización del extracto en base a los siguientes indicadores; densidad, pH y contenido de fenoles totales.

Densidad:

La densidad se determinará por el método de picnómetro descrito por Oliag (2020), cuyo cálculo se rige de acuerdo a la fórmula siguiente:

$$\rho_E = \frac{W_e}{V_e} \quad (1)$$

Donde: ρ_E corresponde a la densidad del extracto; W_e representa el peso del extracto y V_e es el volumen del extracto.

Potencial de hidrogeno -pH:

Para obtener lectura de pH se hará según lo especificado en la norma mexicana para determinación de pH en alimentos (NMX-F-317-S-1978) para lo cual se usó el equipo pHmetro digital debidamente calibrado con soluciones buffer de 4.0 y 7.0, luego se introducirá el electrodo en un recipiente que contendrá la solución del extracto y se realizará la lectura.

Contenido de fenoles totales:

Para hallar el contenido de Fenoles totales se empleará el método Folin-Ciocalteu, empleando espectrometría de UV visible, según el procedimiento descrito por Blainski et al (2013), los resultados serán expresados en equivalentes de ácido gálico.

2.2.5. Preparación de las concentraciones del extracto

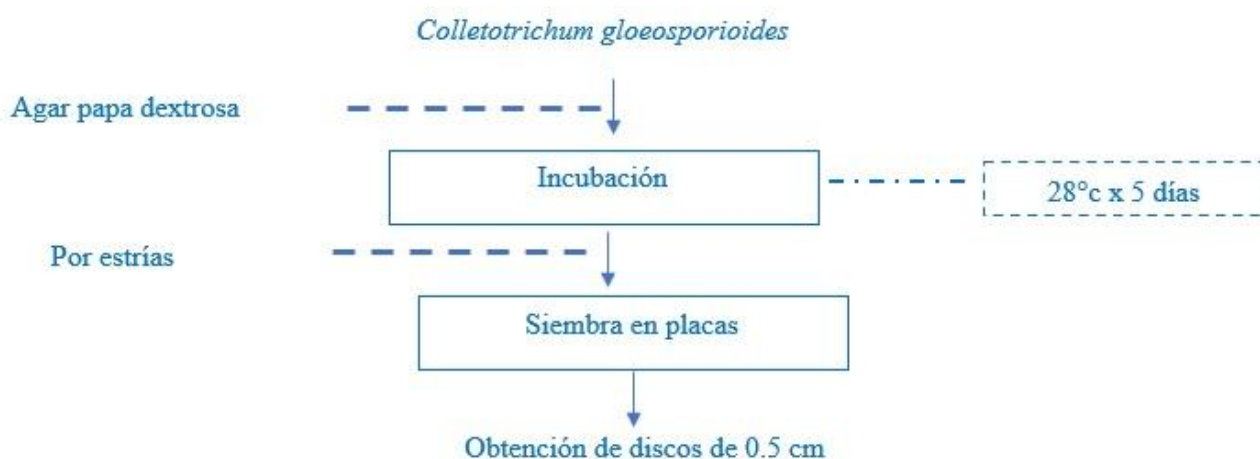
Se preparó una solución madre, donde se pesó 9 g extracto, como diluyente se utilizó 28.8 de agua destilada, 1.2 ml de dimetilsulfóxido (DMSO), en un matraz esterilizado, seguidamente se midió en las concentraciones; al 10 %, 30 % y 50 %.

2.2.6. Preparación del inóculo.

Primero, se reactivó el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, en agar papa dextrosa usando la técnica siembra por estrías en placas Petri incubándose a 28 °C por 5 días hasta alcanzar su crecimiento correspondiente.

Figura 5

Procedimiento de reactivación de Colletotrichum gloeosporioides



Nota: La reactivación del hongo se realizó según lo descrito por Saavedra (2022).

2.2.7. Pruebas de inhibición de crecimiento a nivel in vitro

Se realizaron 4 pruebas a nivel in vitro incluyendo el control; 1 Se realizarán la prueba in vitro de sensibilidad antifúngica de acuerdo a los procedimientos establecidos por la Organización Panamericana de la Salud (1992).

Determinación del efecto antifúngico

Con la ayuda de una pipeta se midió la solución madre para cada concentración del extracto la cantidad de ml que se necesita y se vertió en un matraz pequeño junto con 20 ml de PDA; se agitó hasta que todo quede homogéneo la mezcla y se vertió en la placa Petri previamente

esterilizada, este paso se repitió para las demás concentraciones. Posteriormente solidificado el medio se colocó en cada cuadrante de la placa, 4 discos de 5 mm del hongo *Colletotrichum gloesporioides*; todas las placas fueron selladas por film e incubadas a una temperatura de 28°C y se evaluó al 1, 3, 5, 7, 10 y a los 15 días.

Cálculo de porcentaje de inhibición

Para realizar el cálculo del porcentaje de inhibición se consideró el promedio del halo, menos (-) el tamaño del disco (0.5 cm) generando el tamaño real del halo. (Guo et al., 2006).

Fórmula:

$$I = \left[\frac{C - T}{C} \right] \times 100$$

2.2.8. Análisis estadístico

Los datos fueron procesados en software IBM SPSS Statistics, se aplicó la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) y la prueba de rangos múltiples para determinar diferencias significativas entre los tratamientos.

3. RESULTADOS

3.1. Obtención del extracto

Se obtuvo el extracto etanólico de aspecto viscoso con las siguientes características; macerado con un solvente en este caso etanol de 70°, el extracto presente un color marrón oscuro, con su olor característico muy intenso. Para la elaboración del extracto se utilizó 20.119 Kg de frutos de mango ciruelo; la cáscara constituyó aproximadamente el 23% del peso total del fruto, obteniéndose a partir de 4.631 kg de cáscaras frescas, las cuales fueron deshidratadas en una estufa a 40° por 24 horas, donde se obtuvo un peso de 1.579 kg, las mismas que presentaron un alto contenido de humedad (66 %). Durante el proceso de molido y tamizado de las cáscaras secas se produjo una merma del 14 %, obteniendo 1.357 Kg de polvo seco. Por cada 100 g de polvo seco macerado en 200 ml de etanol al 70% se obtuvieron 15.67g de extracto seco.

3.2. Características fisicoquímicas del extracto

En la Tabla 4 se muestran las características fisicoquímicas del extracto etanólico de la cáscara de *Spondias dulcis* (mango ciruelo). En esta tabla se muestra el promedio de los parámetros de pH, densidad y fenoles totales. Se evidencia que el pH del extracto es de tipo muy ácido, tiene una alta densidad y presenta un considerable contenido de fenoles totales.

Tabla 4.

Nivel de pH, acidez y contenido de fenoles totales del extracto.

Nivel de pH, y contenido de fenoles totales del extracto			
Parámetro	Unidad	Promedio	Desv. Est.
pH	A*	3.35	0.18
Densidad	g/ml	0.84	0.04
Fenoles totales	mg AGE/100g **	48.95	2.71

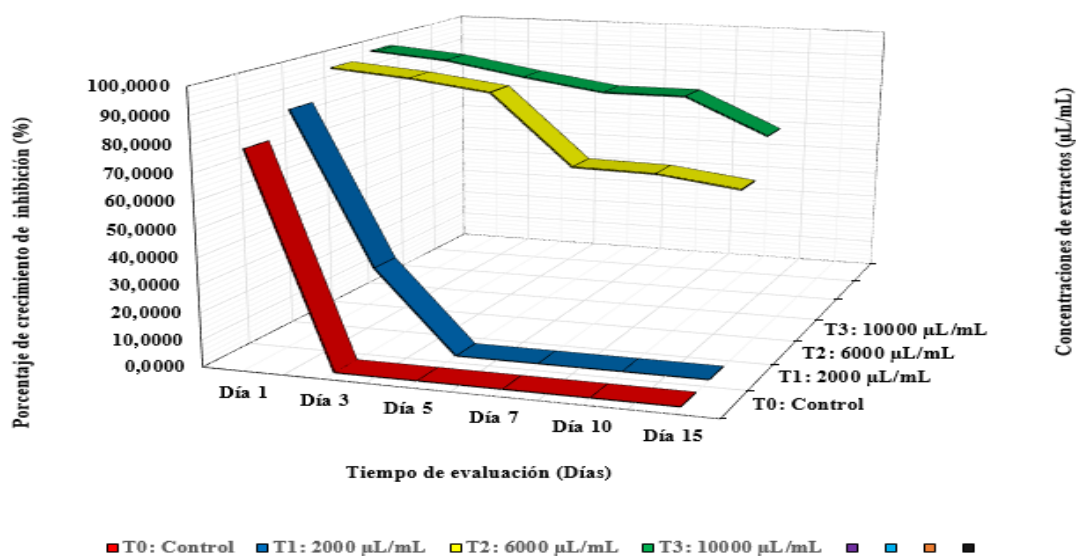
Nota: (*) El valor es adimensional, (**) expresado como equivalente a ác, gálico por cada 100 g de extracto.

3.3. Prueba de efecto inhibición sobre el hongo

Se evaluó la medida de diámetro de los halos de inhibición generados por el extracto etanólico de la cáscara de mango ciruelo, en concentraciones de 10 30 y 50%. Como control se empleó hongo con agar sin extracto.

Figura 6

Pruebas de difusión en placa; medida del porcentaje inhibición de crecimiento de hongo



Nota. La concentración más alta de 50% presento un mayor efecto de inhibición de crecimiento durante los días.

Tabla 5.

Análisis de varianza para los resultados de la prueba de difusión en placa

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
PRIMER_DÍA_PORC_INH	Entre grupos	9134,180	7	1304,883	541,703	,000
	Dentro de grupos	57,813	24	2,409		
	Total	9191,992	31			
TERCER_DÍA_PORC_INH	Entre grupos	56616,992	7	8088,142	2344,035	,000
	Dentro de grupos	82,813	24	3,451		
	Total	56699,805	31			
QUINTO_DÍA_PORC_INH	Entre grupos	58762,305	7	8394,615	3684,037	,000
	Dentro de grupos	54,688	24	2,279		
	Total	58816,992	31			
SEPTIMO_DÍA_PORC_INH	Entre grupos	61724,219	7	8817,746	11286,714	,000
	Dentro de grupos	18,750	24	,781		
	Total	61742,969	31			
DECIMO_DÍA_PORC_INH	Entre grupos	59662,500	7	8523,214	5454,857	,000
	Dentro de grupos	37,500	24	1,563		
	Total	59700,000	31			
DECIMOQUINTO_DÍA_PORC_INH	Entre grupos	59762,500	7	8537,500	9366,857	,000
	Dentro de grupos	21875,000	24	,911		
	Total	59784375,000	31			

Nota. En esta tabla 5 se evidencia que se encontró diferencias significativas entre los grupos por lo tanto el extracto puede inhibir el desarrollo del hongo. Fuente: ANÁLISIS POR IBM SPSS STATISTICS 22.

4. DISCUSIÓN

Los análisis realizados en este trabajo con respecto al contenido de polifenoles totales arrojaron un promedio de 48 mg AGE/100g de extracto etanólico obtenido del macerado de la cáscara de mango ciruelo (*Spondias dulcis*), véase en la tabla 4, mientras que Rodríguez, (2021) reporto un promedio menor de 18mg AGE/100g en extractos elaborados a partir de la pulpa de *Spondias dulcis*, por lo tanto, se podría decir que el tiempo de macerado influye en los resultados. Por lo tanto, a más tiempo de macerado se podría obtener mayores resultados. Por otro lado, tiburski. et al (2011) reporto un promedio de 260 mg AGE/ 100g en pulpa de *Spondias mombin* un familiar de los anacardos.

En el trabajo de (Pechyen et al., 2022) en su metodología detalla que su muestra de cáscara de *Spondias dulcis* lo llevo a un proceso de hervor con agua desionizada durante una hora ,en sus resultado de fenoles totales obtuvo un promedio de $10,27 \pm 0,46$ mg CAE/g de extracto. Siendo un valor menor reportado con respecto a este estudio podríamos decir que la temperatura y el tipo de solvente puede que influya de manera significativa.

Neto y De Melo (2019) reportaron un valor promedio de pH=2,28 de frutos de madurez comercial mientras que en lo reportado en este caso que es la cáscara macerada en etanol nos da un promedio de pH=3.35, donde se podría decir que la cáscara tiene un valor elevado de pH. En los resultados del presente estudio el extracto etanólico de la cáscara sub producto de *Spondias dulcis* en un principio solo se diluyo el extracto con DMSO y se mezcló con 20 ml de PDA, al pasar los días de medición solo el hongo creció el en el tratamiento control (PDA+*C.gloesporioides*), debido a la acidez del extracto, por lo tanto se reformulo una nueva solución madre (PDA+extracto+agua destilada) y a partir de esta solución se realizaron 3 tratamientos:T1(10% de solución madre+PDA), T2(30% de solución madre + PDA), T3(50% de solución madre + PDA) más un control T4 (PDA + *gloesporioides*), donde el T3 mostro un 75 % de inhibición. De igual modo Bautista et al. (2002), evaluó el porcentaje de inhibición micelial del extracto acuoso de hojas y tallos de *Spondias purpurea* sobre *Colletotrichum gloesporioides* encontrando un porcentaje de inhibición de un 50% y 37.5 % respectivamente. Se podría decir que la cáscara de *Spondias dulcis* presenta un mayor porcentaje de inhibición que las hojas y tallos de las demás especies pertenecientes al género *Spondias*. Así mismo se ha reportado que los extractos acuosos de hojas de *Citrus limon* L. (limon), *Persea americana* Mill. (palta), mostraron porcentajes de inhibición miceliar del 100 %, mientras *Tamarindus indicus* L. (tamarindo) y *Pouteria sapota* (Jacq) mostraron un porcentaje de inhibición de 65 y 52.5% respectivamente, por otro lado, los extractos acuosos de tallos *Tamarindus indicus* L.

(tamarindo), *Achras sapota* L. (zapote), mostraron un porcentaje de inhibición de 42.5 % en cambio la *Carica papaya* L.(papaya) y *Dyospiros ebenaster* Retz. (Zapote negro) presentaron un porcentaje de inhibición menor de 35% (Bautista et al. 2002).

En otro estudio desarrollado por Marisco et al. (2017), donde evaluaron el efecto antifúngico de los extractos etanólicos de las hojas de *Spondias purpurea*, recolectadas en Bahía-Brasil. El microorganismo diana fue el fitopatógeno *Moniliophthora perniciosa*, el cual afecta principalmente a los cultivos de cacao ocasionando la enfermedad comúnmente conocida como “escoba de bruja”, los resultados evidenciaron una capacidad de inhibición del 60% a una concentración de 10 mg/mL. El hongo sufre estrés oxidativo debido a la presencia de terpenos dentro del extracto de *Spondias purpurea*.

Así también Beg et al. (2022) evaluaron el porcentaje de inhibición micelar de 32 de diferentes partes de 19 árboles angiospérmicos contra el hongo *Fusarium lycopersici* Sacc. Donde los extractos de hojas de *Spondias pinnata* (Linn.F) Kurz presentaron un porcentaje menor de inhibición de 26.20 % y el extracto de corteza presento un porcentaje inferior del 14.90% pudiendo demostrar que el extracto de la cáscara de *Spondias dulcis* podría tener un mayor efecto contra diversos hongos fitopatógeno, de igual forma se ha encontrado que diversas plantas presentan propiedades antifúngicas contra el hongo *Fusarium lycopersici* Sacc donde los extractos acuosos de hoja de *Psidium guajava*, perteneciente a la familia Myrtaceae, presento una mayor inhibición del 89,56%. En sgundo lugar el extracto de hojas de *Azadirachta indica* de la familia Meliaceae presento un porcentaje de inhibición del 73,84% en tercer lugar los extractos de hojas de *Polyalthia longifolia* (70,84%), *Acacia arabica* (69,20%) y *Citrus lemon* (69,13%), presentaron un porcentaje de inhibición menor que extracto etanólico de cáscaras de *Spondias dulcis* (Beg et al. 2022). Por lo tanto, se observa que la inhibición micelial puede cambiar según la familia y especie. Así mismo Field et al., (2006) y Giordani et al., (2008) mencionan que actividad antifúngica de los extractos acuosos de las plantas antes mencionadas es debido a la presencia varios compuestos bioactivos.

5. CONCLUSIÓN

- Se obtuvo 15.67 g del extracto etanólico a partir de la cáscara de *Spondias dulcis*, el cual presento una coloración marrón oscuro, un olor característico, aspecto viscoso. Posteriormente se prepararon tratamientos utilizando diferentes concentraciones del extracto etanólico (10,30 y 50 %), compuesto por extracto, DMSO y agua destilada.
- Se logró caracterizar el extracto donde se obtuvo un pH promedio de 3.35 y acidez de 1.28 (dato no mostrado), en cuanto al contenido de fenoles totales se obtuvo un promedio de 48 mg expresado en AGE, con una densidad de 0.84 g/ml por cada 100g de extracto.
- Se logró determinar la actividad inhibitoria del extracto etanólico a nivel *in vitro* sobre el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, mediante la prueba de difusión en placa, donde se evidencio que el hongo objetivo frente al extracto a una concentración del 50 % luego de 15 días se observó una mayor inhibición micelar del 75 %, mientras que el extracto a una concentración del 30 % logro un porcentaje de inhibición micelar del 65%, concluyendo que mediante estudios a nivel *in vitro* el extracto de la cáscara de mango ciruelo (*Spondias dulcis*) presenta actividad inhibitoria contra el hongo *Colletotrichum gloeosporioides*.

6. RECOMENDACIONES

- Se recomienda determinar el nivel de capacidad antioxidante del extracto de *Spondias dulcis* por métodos como DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo)
- Se recomienda aplicar el extracto en otros tipos de microorganismos que estén ligados de interés alimentario.
- Se recomienda estudiar el hueso en extracto etanólico de este fruto para cubrir ese espacio vacío de conocimiento.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar Pérez, D. A., Ramírez González, S. I., López Báez, O., & Prieto Méndez, J. (2022). Control in vitro de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) aislado de *annona muricata* l. con extractos vegetales. *Espacio I + D, Innovación más Desarrollo*, 11(31), 36-53. <https://doi.org/10.31644/IMASD.31.2022.a02>.
- Aguilar, R., Rafael-Rutte, R., Martínez-Santos, H., & Apaza-Apaza, S. (2021). Causal agent of anthracnose in the pea crop (*Pisum sativum* L.) in northern of Perú: Symptomatology, isolation and identification, pathogenicity and control. *Scientia Agropecuaria*, 12(1), 7-14 <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2021.001>.
- Azwanida, N.N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants* 4(3), 196. doi:10.4172/2167-0412.1000196.
- Bautista, S.B., Barrera, L.L.N., Bravo, L.L., & Bermúdez, K.T (2002). Antifungal activity of leaf and stem extracts from various plant species on the incidence of *Colletotrichum gloeosporioides* of papaya and mango fruit after Storage. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20(1), 8-12. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61220102>
- Beg, M.A., Singh, S.K. & Beg, M.J. (2022). Antifungal screening of some tree plants against *Fusarium lycopersici* Sacc. *International Journal of Recent Scientific Research*, 13(06), 1481-1483.
- Bermúdez, A., & Velázquez, J. (1999). *Enfoques metodológicos para la investigación etnobotánica sobre plantas medicinales*. Memorias del Instituto de Biología Experimental.
- Blainski, A., Lopes, G. C., & Mello, J. C. P. De. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *limonium brasiliense* l. *Molecules*, 18(6), 6852-6865. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES18066852>.
- Chao, F.J.M. (2013). Método teórico para la predicción del índice de refracción en refractometría. *Boletín Científico Técnico INIMET*, (2), 1-18. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223029286002>.
- Chaves Neto, J. R., & Silva, S. de M. (2019). caracterização física e físico-química de frutos de *spondias dulcis* parkinson de diferentes microrregiões do estado da paraíba. *Colloquium Agrariae*. 15(2) 1809-8215. <https://journal.unoeste.br/index.php/ca/article/view/27>

- da Silva, A.R.A., de Moraes, S.M., Mendes, M.M.M., de Oliveira, D.F., Costa B.C., de Almeida, R.R., Pinto I.G.V. & Florindo, M.I.G. (2012). Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of two Spondias species from Northeastern Brazil. *Pharmaceutical Biology*, 50(6), 740-746. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.627347>.
- Field, B., Jordán, F., & Osbourn, A. (2006). First encounters--deployment of defence-related natural products by plants. *The New Phytologist*, 172(2), 193-207. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01863.x>.
- Giordani, R., Hadeif, Y., & Kaloustian, J. (2008). Compositions and antifungal activities of essential oils of some Algerian aromatic plants. *Fitoterapia*, 79(3), 199-203. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2007.11.004>.
- Guo, Z., Chen, R., Xing, R., Liu, S., Yu, H., Wang, P., Li, C., & Li, P. (2006). Novel derivatives of chitosan and their antifungal activities in vitro. *Carbohydrate Research*, 341(3), 351-354. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2005.11.002>.
- He, S., An, T., Runa, A., & Liu, S. (2019). Validation of reliable reference genes for RT-qPCR studies of target gene expression in *Colletotrichum camelliae* during Spore Germination and mycelial growth and interaction with host plants. *Frontiers in Microbiology* 10, 2055. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02055>.
- Hernández-Albíter, R.C., Barrera-Necha, L.L., Bautista-Baños, S., & Bravo-Luna, L. (2007). antifungal potential of crude plant extracts on conidial germination of two isolates of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc. *Revista mexicana de fitopatología*, 25(2), 180-185. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018533092007000200013&lng=es&tlng=e
- Instituto Nacional de Estadística e Informática [INEI] (2018). Compendio Estadístico del Perú 2018. https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1655/libro.pdf
- Jin, M., Yang, C., Yang, L., Cui, L., & Wei, L. (2021). Isolation and identification of a new *Colletotrichum* species causing anthracnose of *Astragalus membranaceus*. *Crop Protection*, 143, 105470. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105470>.
- kahn, Z.A., siddiqui, M.F., & Park, S. (2019) Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing. *Diagnósticos (Basilea)*, 9 (2), 49 <https://doi.org/10.3390%2Fdiagnostics9020049>

- kubo, Y. (2012). Appressorium function in *Colletotrichum orbiculare* and prospect for genome based analysis. En J. Pérez Martín & A. Di Prieto (Eds.), *Morphogenesis and Pathogenicity in Fungi* (pp.115–131). Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Landero-Valenzuela, N, Lara-Viveros, F.M., Andrade-Hoyos, P., Aguilar-Pérez, L.A. & Rodríguez, G.J.A. (2017). Alternativas para el control de *Colletotrichum* Spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 7(5), 1189-1198. <https://doi.org/10.29312/remexca.v7i5.245>.
- Linares, C.R., Quiñones-Gálvez, J., Pérez A.T.M., Carvajal, C.C.O., Rivas, M.P., Cid, G.A.V, Pérez, L.G., La Rosa, S.G., & Capdesuñer, Y.K.R. (2018). Obtención de extractos fenólicos foliares de *Moringa oleifera* Lam mediante el uso de diferentes métodos de extracción. *Biotecnología Vegetal*, 18(1), 47-56. <https://revista.ibp.co.cu/index.php/BV/article/view/575>
- Liu, X., Zheng, X., Khaskheli, M. I., Sun, X., Chang, X., & Gong, G. (2020). Identification of *colletotrichum* species associated with blueberry anthracnose in sichuan, china. *Pathogens*, 9(9), 718. <https://doi.org/10.3390/pathogens9090718>.
- Marcano, D. & Hasegawa. M. (2018). Fitoquímica Orgánica (3.a ed.). Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. <http://saber.ucv.ve/omp/index.php/editorialucv/catalog/book/18>
- Marisco G., Santos, R.X., Aguiar, R., Brendel, M. & Pungartnik, C. (2017). Antifungal potential of terpenes from *Spondias purpurea* L. leaf extract against *Moniliophthora perniciosa* that causes witches broom disease of *Theobroma cacao*. *International Journal of Complementary & Alternative Medicine*, 7(1), 00215. <https://doi.org/10.15406/ijcam.2017.07.00215>
- Ministerio de Agricultura y Riego [MINAGRI]. (2018). Anuario Estadístico de Producción Agrícola 2018. https://siea.midagri.gob.pe/portal/phocadownload/datos_estadisticas/anuarios/agricola/agricola_2018.pdf
- Ministerio de salud [MINSA]. (2017). Tablas Peruanas de Composición de los Alimentos <https://repositorio.ins.gob.pe/xmlui/bitstream/handle/INS/1034/tablas-peruanas-QR.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Mitchell, J. D., & Daly, D. C. (2015). A revision of *Spondias* L. (Anacardiaceae) in the neotropics. *PhytoKeys*, 55(1), 1-92. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.55.8489>.
- Mostacero, J., Mejía, F., Gastañadui, D., & De La Cruz, J. (2017). Taxonomic, phytogeographic, and ethnobotanical inventory of native fruit trees of northern Peru.

- Scientia Agropecuaria*, 8(3), 215-224. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2017.03.04>.
- Oo, M.M. & Oh, SK. (2016). Chilli anthracnose (*Colletotrichum* spp.) disease and its management approach. *Korean Journal of Agricultural Science* 43(2), 153-162. <http://dx.doi.org/10.7744/kjoas.20160018>.
- Pechyen, C., Ponsanti, K., Tangnorawich, B., & Ngernyuang, N. (2022). Biogenic synthesis of gold nanoparticles mediated by *Spondias dulcis* (Anacardiaceae) peel extract and its cytotoxic activity in human breast cancer cell. *Toxicology Reports*, 9, 1092-1098. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2022.04.031>.
- Pérez, C.A., Chamorro, A.L, & Vitola, R.D. (2017). Caracterización química y evaluación de la actividad antifúngica del aceite esencial foliar de lippia alba contra colletotrichum gloeosporioides. *Revista Peruana De Biología*, 24(2), 211-16. <https://doi.org/10.15381/rpb.v24i2.13499>.
- Perez, D., & Iannaccone, J. (2006). Control químico de la antracnosis causado por *Colletotrichum gloeosporioides* en el cultivo del Camu Camu (*Myrciaria dubia* Myrtaceae) en Ucayali, Perú. *Fitopatologia Brasileira*, 31(5), 518. <https://doi.org/10.1590/S0100-41582006000500015>.
- Peters, L. P., Prado, L. S., Silva, F. I. N., Souza, F. S. C., & Carvalho, C. M. (2020). Selection of endophytes as antagonists of *Colletotrichum gloeosporioides* in açai palm. *Biological Control*, 150, 104350. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104350>.
- Ramos, A. M., Gally, M., García, M. C., & Levin, L. (2010). Producción de enzimas pectinolíticas por *Colletotrichum truncatum*, agente causal de antracnosis en soja. *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(4), 186-190. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.06.002>.
- Rodríguez, L. F.C, (2021). *Compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del fruto Spondias dulcis Parkinson "mango ciruelo"*. (Tesis para obtener el título profesional de licenciada en nutrición). Universidad Cesar Vallejo.
- Saavedra, J.A G. (2022). *Efecto inhibidor del extracto etanólico de semillas de Mangifera indica L. sobre Colletotrichum gloeosporioides* (Tesis para obtener el título profesional de ingeniero de industrias alimentarias). Universidad Nacional de Frontera.
- Sameh, S., Al-sayed, E., Labib, R. M., & Singab, A. N. (2018). Genus *Spondias*: a phytochemical and pharmacological review. *Medicina alternativa y complementaria basada en la evidencia*, 2018, 13. <https://doi.org/10.1155/2018/5382904>.
- Santana, E. T. D., Soares, D. F., & Faria, A. M. (2018). Development of a methodology for the determination of pesticide residues in caja´-manga pulp (*Spondias dulcis* L.) using Solid-

- Liquid Extraction with low-temperature. partitioning. *Hindawi Journal of Chemistry*, 2018, 10 <https://doi.org/10.1155/2018/6012503>.
- Schnabel, G., Tan, Q., Schneider, V., & Ishii, H. (2021). Inherent tolerance of *Colletotrichum gloeosporioides* to fludioxonil, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 172, 104767. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104767>.
- Secretaria de Patrimonio y Fomento Industrial [SPFI]. (1978) Norma Oficial Mexicana "determinación de pH en alimentos" de 1997. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4704689&fecha=23/05/1978#gsc.tab=0
- Sharma, M., & Kulshrestha S. (2015) *Colletotrichum gloeosporioides*: An anthracnose causing pathogen of fruits and vegetables. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 12(2), 8178. <https://www.biotech-asia.org/vol12no2/colletotrichum-gloeosporioides-an-anthrachnose-causing-pathogen-of-fruits-and-vegetables/>
- Sinan, K.I., Zengin, G., Zheleva-Dimitrova, D., Gevrenova, R., Picot-Allain, M.C.N., Dall'Acqua, S., Behl, T., Goh, B.H., Ying, P.T.S., Mahomoodally, M.F. (2021) Exploring the Chemical Profiles and Biological Values of Two Spondias Species (*S. dulcis* and *S. mombin*): Valuable Sources of Bioactive Natural Products. *antioxidants*, 10(11), 1771. <https://doi.org/10.3390/antiox10111771>.
- Talens Oliag, P. (2020). *Determinación experimental de densidad y porosidad en alimentos sólidos y líquidos*. Universidad Politécnica de Valencia.
- Tapia, A.R., Ramírez, J. F.D., Salgado, M. L.S., Castañeda, A.V., Maldonado, F.I.Z., & Lara, A.V.D. (2020). México distribución espacial de la antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz) en aguacate en el estado de México, México. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(1), 72-81. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.07.004>.
- Tiburski, J. H., Rosenthal, A., Deliza, R., de Oliveira Godoy, R. L., & Pacheco, S. (2011). Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. *Food Research International*, 44(7), 2326-2331. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.03.037>.
- Valdez, D.R, Gagliardo, E.V, Veliz, F.P., Barretos, A.M. (2022). Agroecological management of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) in the flowering and fruiting stages of mango (*Mangifera indica*). *Centrosur*, 1(12). <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/646/6462819005/index.html>
- Zakaria A. M. B., & Mohamed M. A. M. (2020). In vitro and in vivo, biocontrol activity of extracts prepared from Egyptian indigenous medicinal plants for the management of anthracnose of mango fruits, *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 53, 15-16. DOI: 10.1080/03235408.2020.1794308.

Zapata, R., Sanabria, M.E., & Rodríguez, D. (2003). Reducción del desarrollo de hongos fitopatógenos con extracto de cardón lefaria (*cereus deficiens* otto & diert), 28(5), 302-307. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442003000500011&lng=es&tlng=es

8. ANEXOS

Figura 7

Identificación taxonómica



Figura 8

Frutos de Spondias dulcis pelados



Figura 9

Cáscara de Spondias dulcis

**Figura 10**

Molienda de la Cáscara de Spondias dulcis



Figura 11

Macerado de las cáscaras molidas de Spondias dulcis con etanol



Figura 12

Filtrado de la solución macerada

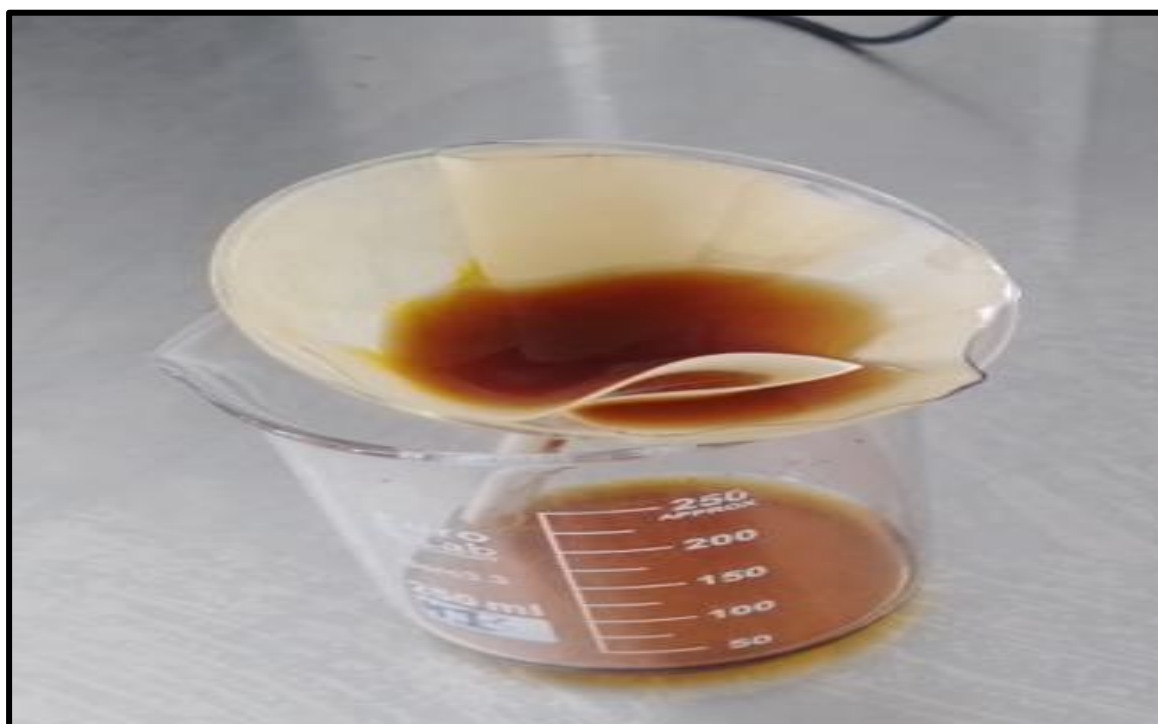


Figura 13

Concentración del extracto en equipo rotavapor

**figura 14**

Extracto seco almacenado en desecador



Figura 15

Medición de la densidad del extracto

**Figura 16**

Medición del pH del extracto



Figura 17*Medición de fenoles totales*

Figura 18

Reactivación e incubación del hongo

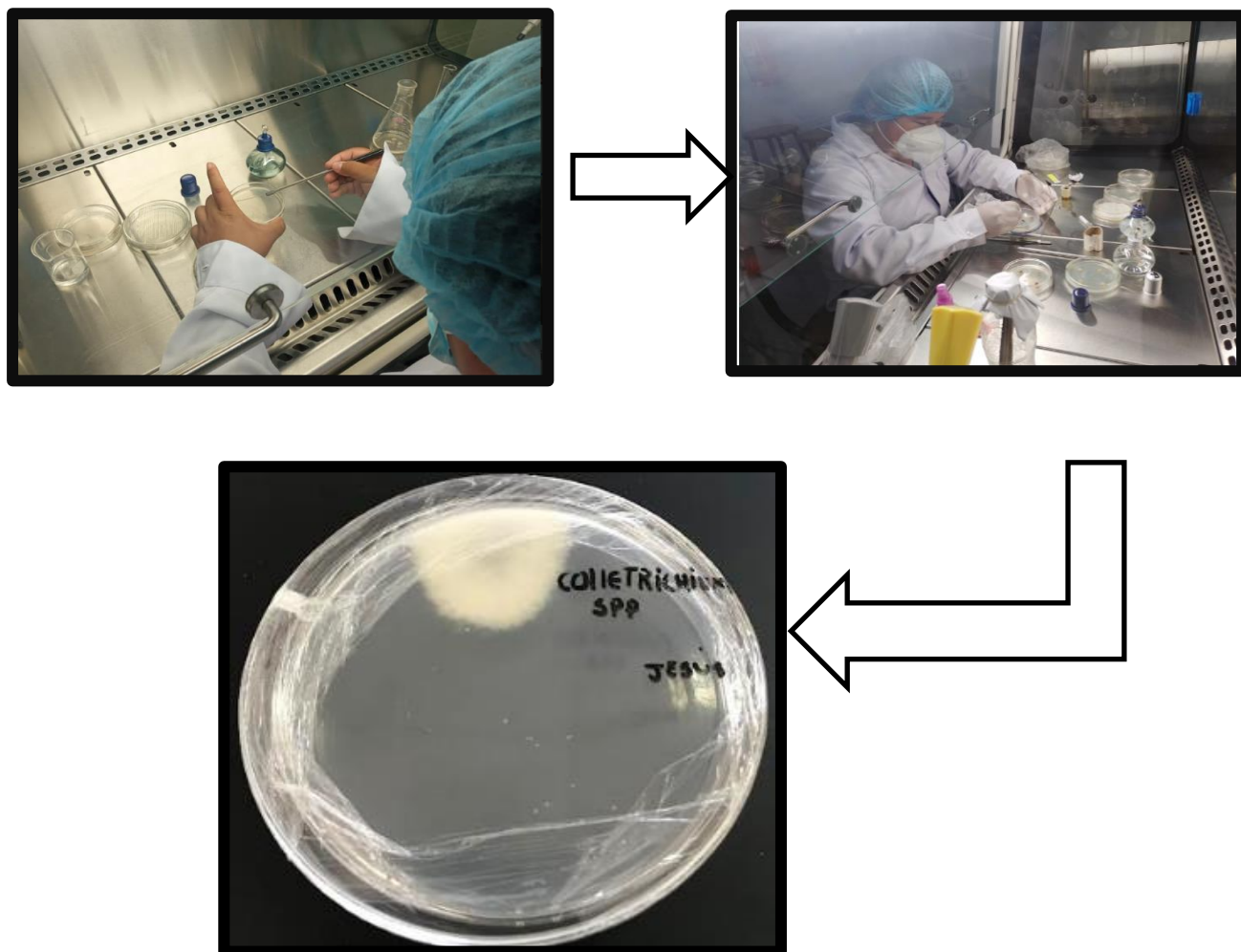


Figura 19

Medición de crecimiento del hongo sobre el extracto día 1

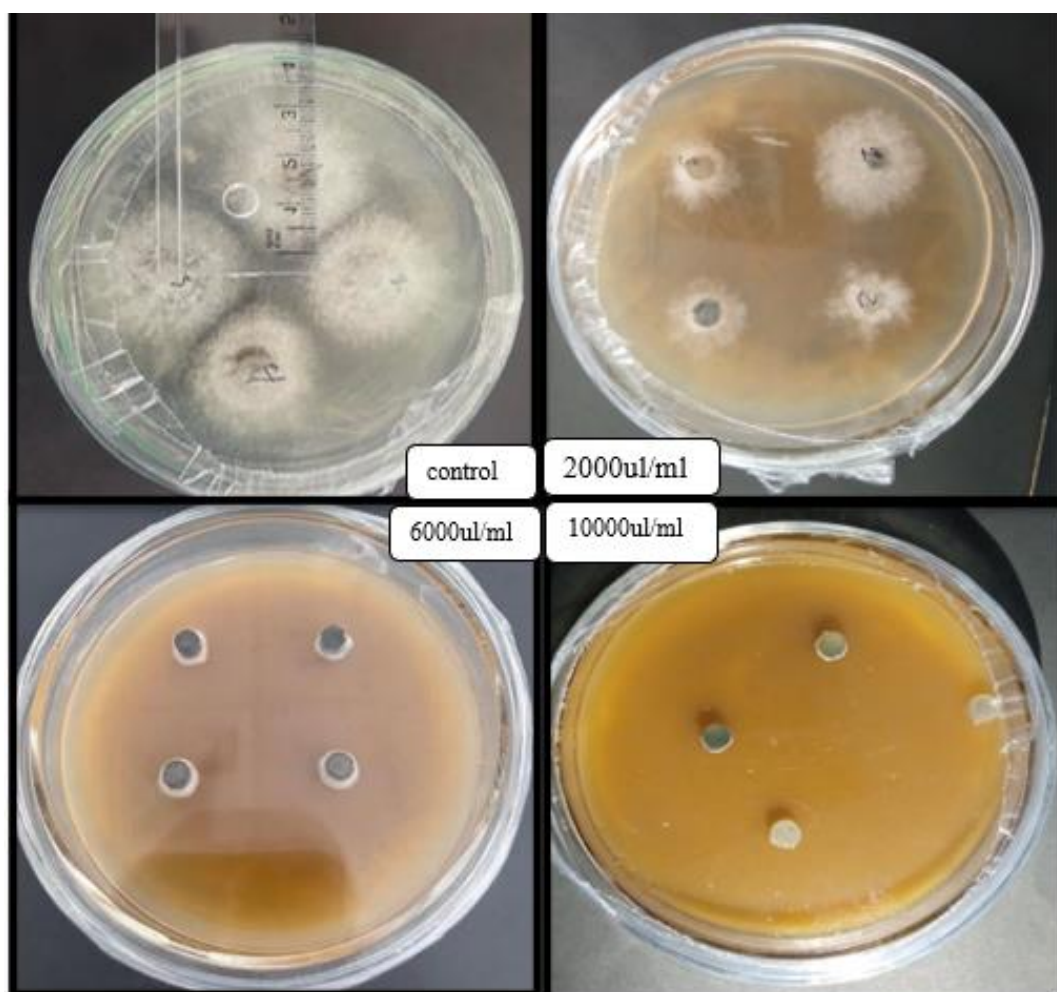


Figura 20

Medición de crecimiento del hongo sobre el extracto día 3

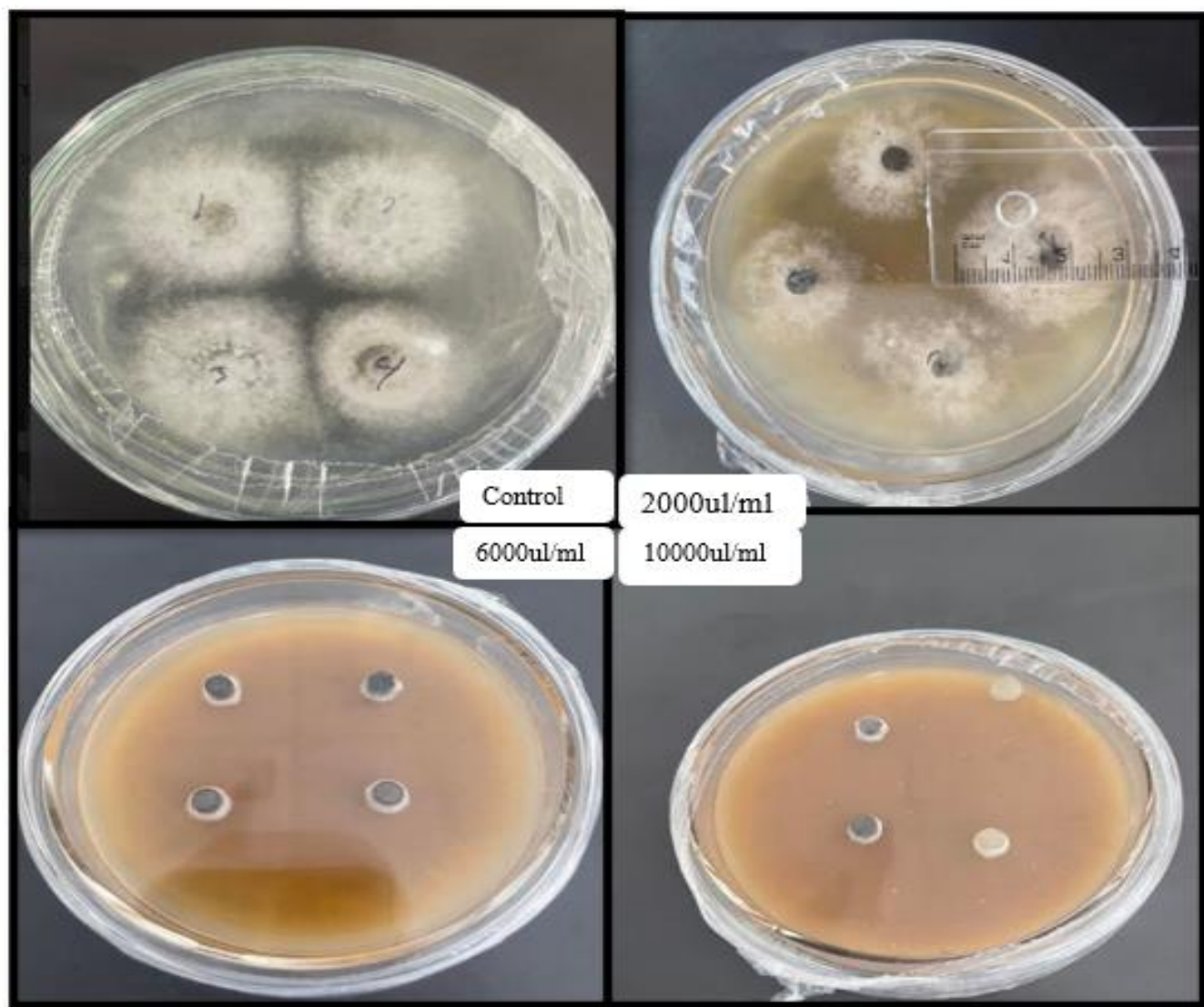


Figura 21

Medición de crecimiento del hongo sobre el extracto día 15

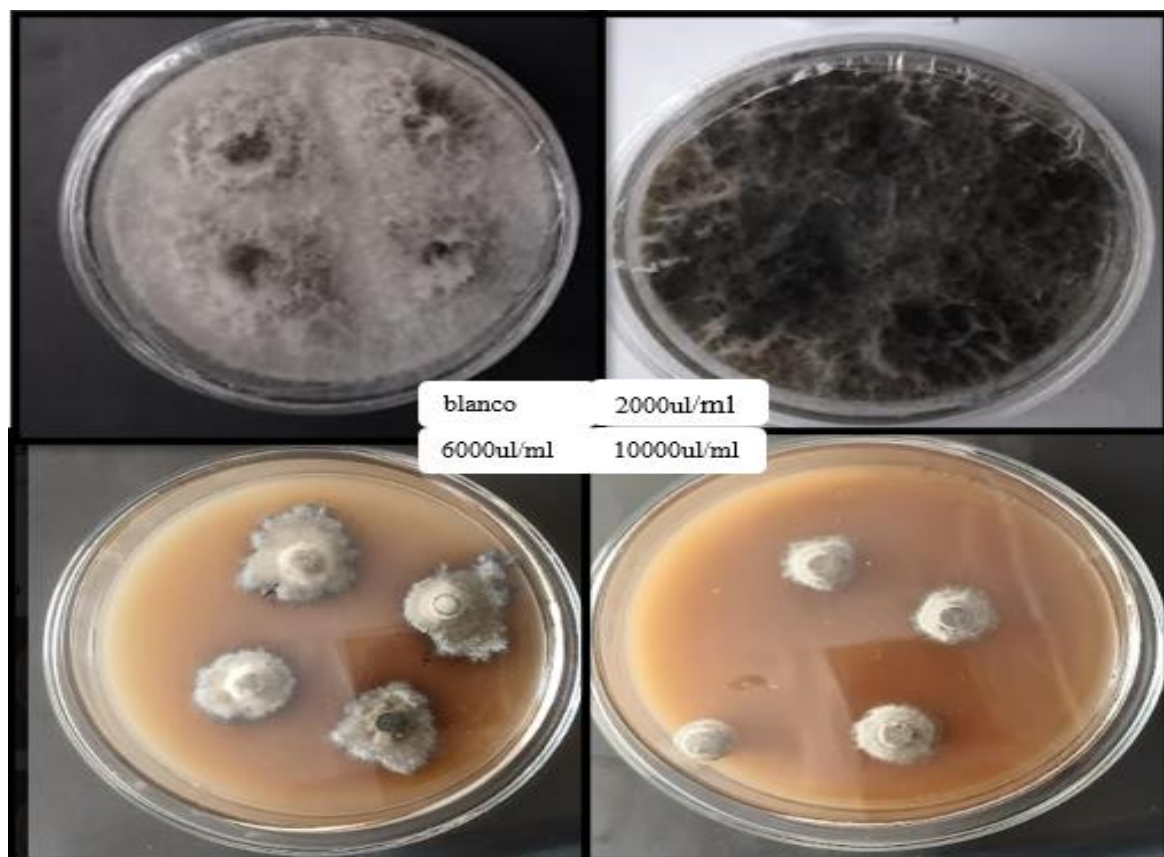


Figura 22

Gestión de autorización de permiso hacia el proveedor para el recojo de muestra vegetal

