



Universidad  
Politécnica  
de Cartagena



**Escuela Técnica Superior de  
Ingeniería Agronómica**



***Grado en Ingeniería Agroalimentaria  
y de Sistemas Biológicos***

Nuevas estrategias de control de la podredumbre  
verde de limones

New strategies to control green mould in lemons

**Autora:** Dolores Mompeán Martínez  
**Dirección:** Juan Antonio Martínez López  
**Codirección:** M<sup>a</sup> Ángeles Parra Sáez  
Cartagena, diciembre 2020





## Declaración de Honestidad Académica

La alumna Dña. **Dolores Mompeán Martínez**, con DNI **48633027X**,

como autora del TFE de título **Nuevas estrategias de control de la podredumbre verde de limones**

dirigido por D. **Juan Antonio Martínez López**.

para la obtención del título

- Grado en Ingeniería Agroalimentaria y de Sistemas Biológicos
- Máster Universitario en Ingeniería Agronómica
- Máster Universitario en Técnicas Avanzadas en Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario

### DECLARA:

- Que el mencionado TFE es íntegramente de su autoría.
- Que se trata de un trabajo original e inédito en el que no existe plagio.
- Que en todo momento se respeta la propiedad intelectual y en ningún caso se han utilizado como propios resultados ni materiales obtenidos o generados por otros autores.
- Que los resultados y materiales realizados por otros autores han sido debidamente identificados en la memoria.
- Que se ha aplicado al texto íntegro del TFE el control antiplagio que establece la *Normativa de Trabajos Fin de Estudios en la ETSIA*, y acompaña esta declaración de las páginas primera y última del informe obtenido de Turnitin a través de Aul@Virtual.
- Qué los directores del TFE conocen y han dado el visto bueno a los resultados del control antiplagio y, en su caso, han informado en la forma que indica el documento *Política de Calidad y Código de Buenas Prácticas*.

Y para que así conste, firma la presente declaración en,

Cartagena, a 3 de diciembre de 2020

Fdo. **Dolores Mompeán Martínez**

# Turnitin Informe de Originalidad

Procesado el: 03-dic.-2020 19:36 CET  
 Identificador: 1463737202  
 Número de palabras: 13058  
 Entregado: 1

Similitud según fuente	
Índice de similitud	
<b>10%</b>	Internet Sources: 9%
	Publicaciones: 1%
	Trabajos del estudiante: 0%

TFG Lola Por DOLORES  
 MOMPEAN MARTINEZ

4% match (Internet desde 13-feb.-2020)

<http://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/3604/pfc5576.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

2% match (Internet desde 25-may.-2016)

<http://repositorio.upct.es/bitstream/handle/10317/5065/pfc6315.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

1% match (Internet desde 24-jul.-2020)

[https://upct.es/grupos-investigacion/grupos\\_ID/congresos.php?id=72](https://upct.es/grupos-investigacion/grupos_ID/congresos.php?id=72)

1% match (Internet desde 01-abr.-2019)

<http://ri.agro.uba.ar/files/download/tesis/doctorado/2015quijanoalvaro.pdf>

< 1% match (publicaciones)

[Rodríguez-Entrena, Macario, Jesús Barreiro-Hurlé, José A. Gómez-Limón, María Espinosa-Goded, and Juan Castro-Rodríguez. "Evaluating the demand for carbon sequestration in olive grove soils as a strategy toward mitigating climate change", Journal of Environmental Management, 2012.](#)

< 1% match ()

<https://doi.org/10.35537/10915/71305>

< 1% match (Internet desde 18-jul.-2020)

<https://docplayer.es/16095609-Efecto-de-la-radiacion-uv-c-en-frutas-y-verduras.html>

< 1% match (Internet desde 13-oct.-2020)

<http://docplayer.es/46978876-Serie-documentos-eea-inta-concordia-argentina-grupo-thm.html>

< 1% match (Internet desde 12-nov.-2020)

<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/TXT/HTML/?from=N&uri=CELEX%3A02008R0440-20170518>

< 1% match (Internet desde 22-oct.-2009)

[http://www.mapa.es/estadistica/pags/AEA2000/PDF\\_CAPS/AEA2000-C13.pdf](http://www.mapa.es/estadistica/pags/AEA2000/PDF_CAPS/AEA2000-C13.pdf)

< 1% match (Internet desde 21-nov.-2013)

<http://www.redalyc.org/pdf/813/81380101.pdf>

< 1% match (publicaciones)

[SALVADOR IBIZA MAURI. "DESARROLLO DE PROTOTIPOS PARA EL TRATAMIENTO POSTCOSECHA DE CÍTRICOS CON RADIACIÓN UV-C Y AGUA CALIENTE PARA EL CONTROL DE LA PODREDUMBRE VERDE CAUSADA POR PENICILLIUM DIGITATUM.", Universitat Politècnica de Valencia, 2016](#)

## **Agradecimientos**

Principalmente, me gustaría dar las gracias a Juan Antonio Martínez López y María Ángeles Parra Sáez por confiar en mí para ayudarles en este proyecto. Los cuales me obsequiaron dándome la oportunidad de aprender de dos grandes profesionales.

A la empresa S.A.T. 9821 Grupo CFM de Fuente Álamo (Murcia) por la financiación de este trabajo encuadrado dentro del proyecto de investigación titulado “Nuevas estrategias de control de la podredumbre verde de limones “, especialmente al Director de Calidad y Medio Ambiente de la empresa, Dr. Fulgencio Wadi Aguilar por su ayuda, consejo y disposición prestada en todo momento.

A la empresa Campounión de Beniaján (Murcia), del Grupo CFM, por el suministro de limones que han formado parte de este trabajo.

A la Cooperativa El Limonar de Santomera (Murcia) le agradezco el interés mostrado para suministrarnos frutos afectados de podredumbre verde.

Agradezco el apoyo incansable de mis padres y mi hermana, que a lo largo de toda mi carrera han estado sujetando los cimientos de este proceso constructivo de un futuro mejor para mí. Por no rendirse y por demostrarme tanto amor, este trabajo significa el fin de una etapa y el principio de una nueva en la que ellos siempre estarán presentes.

Al resto de familiares, que se han mantenido a mi lado y se han sentido tan orgullosos de todos mis logros, en especial a mi abuelo Agustín, por hacerme disfrutar de la agricultura y hacerme querer estudiar esta carrera.

Finalmente, gracias a Fran David Morales, por haberte conocido, por quererme, aguantarme, apoyarme y convertirte en la persona más importante de mi mundo, sin ti nada habría sido lo mismo y sin ti esta última etapa no tendría el mismo sentido.

Gracias a todos.

## Índice

1- Resumen	6
Abstract	7
2- Introducción	8
2.1- Aspectos comerciales y agronómicos del limón	8
2.2- Interés del limón en España	10
2.3- Interés del limón en la Región de Murcia	12
3- Conservación y sus problemas	15
3.1- Conservación	15
3.2- Datos de pérdidas por <i>Penicillium</i> sp.	15
3.3- Podredumbre por <i>Penicillium digitatum</i>	16
4- Prevención y control de las podredumbres	18
4.1- Prevención	18
4.2- Control	18
5- La radiación UV en el control de la podredumbre	22
5.1- Introducción	22
5.2- Primer ensayo. Cultivo <i>in vitro</i> de <i>Penicillium digitatum</i> y tratamiento UV-C	22
5.2.1- Materiales y métodos	22
5.2.1.1- Material experimental y tratamientos	22
5.2.1.2- Unidad de observación y número de repeticiones	23
5.2.1.3- Definición y clasificación de las variables	24
5.2.1.4- Establecimiento de la hipótesis	24
5.2.1.5- Análisis estadístico	24
5.2.1.6- Protocolo de las mediciones	24
5.3- Segundo ensayo. Suspensión de conidios de <i>Penicillium digitatum</i> y tratamiento UV-C en placas microtituladoras	25
5.3.1- Materiales y métodos	25
5.3.1.1- Material experimental y tratamientos	25
5.3.1.2- Unidad de observación y número de repeticiones	25
5.3.1.3- Definición y clasificación de las variables	25
5.3.1.4- Establecimiento de la hipótesis	26
5.3.1.5- Análisis estadístico	26
5.3.1.6- Protocolo de las mediciones	26
5.4- Tercer ensayo. Cultivo <i>in vivo</i> de <i>Penicillium digitatum</i> con desinfección de los limones antes de la inoculación y tratamiento UV-C	27
5.4.1- Materiales y métodos	27

5.4.1.1- Material experimental y tratamientos	27
5.4.1.2- Unidad de observación y número de repeticiones	27
5.4.1.3- Definición y clasificación de las variables	28
5.4.1.4- Establecimiento de la hipótesis	28
5.4.1.5- Análisis estadístico	28
5.4.1.6- Protocolo de las mediciones	28
5.5- Cuarto ensayo. Análisis de color de una muestra de limones <i>in vivo</i> , sin desinfección de los limones, antes y después del tratamiento UV-C	30
5.5.1- Materiales y métodos	30
5.5.1.1- Material experimental y tratamientos	30
5.5.1.2- Unidad de observación y número de repeticiones	30
5.5.1.3- Definición y clasificación de las variables	31
5.5.1.4- Establecimiento de la hipótesis	31
5.5.1.5- Análisis estadístico	31
5.5.1.6- Protocolo de las mediciones	31
6. - Resultados y discusión	33
6.1-Resultados y discusión. Primer ensayo, cultivo <i>in vitro</i> y tratamiento UV-C en placa de Petri	33
6.2- Resultados y discusión. Segundo ensayo, suspensión de conidios y tratamiento UV-C en placas microtituladoras	35
6.3- Resultados y discusión. Tercer ensayo, cultivo <i>in vivo</i> con desinfección de los limones antes de la inoculación y tratamiento UV-C	36
6.4 Resultados y discusión. Cuarto ensayo, análisis de color de cultivo <i>in vivo</i> , sin desinfección de los limones, antes y después del tratamiento UV-C	38
7- Conclusiones	40
8- Bibliografía	42

## Índice de tablas, gráficos y figuras.

### Tablas

Tabla 2.2.1- Análisis provincial de superficie, árboles diseminados, rendimiento y producción de limón, según la variedad	10
Tabla 2.2.2- Producción de limón a nivel mundial en miles de toneladas	10
Tabla 2.2.3- Principales productores de limón a nivel mundial (toneladas)	10
Tabla 2.3.1- Superficie de cítricos en España (Encuesta sobre Superficies y Rendimientos 2018, ESYRCE 2018. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente)	12
Tabla 2.3.2- Superficie de limón (Encuesta sobre Superficies y Rendimientos 2018, ESYRCE 2018. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente)	13
Tabla 2.3.3- Producción de cultivos leñosos (toneladas)	13
Tabla 3.1.1- Parámetros biológicos del limón	15
Tabla 4.2.1- Clasificación de efectos de la luz ultravioleta de acuerdo con su longitud de onda. Adaptado de Guerrero y Barbosa. (2004)	20

Tabla 5.2.1.2.1- Tratamientos a los aislados 1PD, 2PD y 3PD, en placas de Petri, con exposición a luz ultravioleta, basando las dosis en el tiempo de exposición	23
Tabla 6.2.1- Recuento de conidios de las muestras, recuento de conidios germinados y porcentaje de conidios germinados	36
Tabla 6.4.1- Comparación de mediciones iniciales de color	38
Tabla 6.4.2- Comparación de mediciones de color transcurrida una semana	38

## Gráficos

Gráfico 2.2.1- Evolución de la producción de limón en España	11
Gráfico 2.2.2- Evolución de la superficie total de limón en España en miles de hectáreas	11
Gráfico 2.2.3- Evolución del valor del limonero en España	11
Gráfico 5.4.1.6.1- Índice de Desarrollo de la Podredumbre de los aislados 1PD, 2PD y 3PD	30
Gráfico 6.1.1- Crecimiento <i>P. digitatum</i> en la placa de cultivo de medio sintético de agar de patata y dextrosa (PDA) a lo largo de 10 días (aislado 1PD)	33
Gráfico 6.1.2- Crecimiento <i>P. digitatum</i> en la placa de cultivo de medio sintético de agar de patata y dextrosa (PDA) a lo largo de 10 días (aislado 2PD)	34
Gráfico 6.1.3- Crecimiento <i>P. digitatum</i> en la placa de cultivo de medio sintético de agar de patata y dextrosa (PDA) a lo largo de 10 días (aislado 3PD)	34
Gráfico 6.2.1- Número de conidios totales y germinados en <i>Penicillium digitatum</i> en el aislado 1PD tras las diferentes dosis de radiación del tratamiento	36
Gráfico 6.3.1- Comparación del crecimiento de <i>P. digitatum</i> tras la exposición a diferentes dosis de radiación	37
Gráfico 6.3.2- Comparación del crecimiento de <i>P. digitatum</i> tras la exposición a diferentes dosis de radiación. (inoculado 2 días después de la irradiación)	37

## Figuras

Figura 3.2.1- Podredumbre verde en limón	15
Figura 3.2.2- Podredumbre azul en limón (rodeada de podredumbre verde)	16
Figura 5.2.1.1.1- Aislado 1PD	23
Figura 5.2.1.1.2- Aislado 2PD	23
Figura 5.2.1.1.3- Aislado 3PD	23
Figura 5.2.1.2.1-Evolución de 3PD tras la exposición a radiación UV durante 10 segundos. Día 1, día 6 y día 12	24
Figura 5.3.1.6.1- Recuento de conidios en la cámara Thoma	26
Figura 5.4.1.2.1- Radiación de limones con INGRO MKUVC1-2=1700, en las instalaciones de Fruca	27
Figura 5.4.1.2.2- Colocación de los limones en la caja con alveolos, las heridas marcadas e inoculadas	27



# **Resumen**

## 1- Resumen

En la actualidad hay un incremento en la preocupación por los efectos de los fungicidas en la salud, lo que conlleva un mayor control en el uso de estos, lo que está produciendo la búsqueda de nuevos métodos de control en postcosecha con menor toxicidad para ser usados como alternativa. Pero el problema que se presenta es la falta de información acerca de la efectividad de estas alternativas y su rentabilidad a la hora de sustituir a los fungicidas tradicionales de síntesis. Para resolver el problema se están creando nuevas investigaciones, enfocándose en la combinación de varios sistemas físicos y/o químicos, al igual que crear nuevas resistencias en los cultivos a las principales podredumbres. Una de las opciones que se opta por hacer es la disminución significativa de los productos tóxicos, incluso eliminándolos, y usar sistemas físicos, que no dejan residuos nocivos. Hay estudios que exponen el efecto germicida de la radiación ultravioleta en otros alimentos, usando la radiación para la desinfección de las partes superficiales de alimentos a temperatura ambiente. Tomando como variable la longitud e intensidad de onda, se ha demostrado, que se induce la activación del sistema de inmunológico de esos alimentos.

En este trabajo, se investiga el resultado de la irradiación del limón con luz ultravioleta (UV-C) sobre el crecimiento del hongo *Penicillium digitatum*, sobre el color del limón y sobre la germinación de los conidios. Para ello, se realizaron ensayos *in vitro* e *in vivo*, controlando el desarrollo del hongo a diferentes tiempos de exposición. A través de este estudio se ha demostrado que la radiación ultravioleta de limón para el tratamiento del control de *Penicillium digitatum*, en el ensayo *in vitro* se obtuvieron unos resultados en los que se aprecia una ralentización del crecimiento inicial del hongo. En el ensayo *in vitro* con conidios, se vio una disminución de la germinación de conidios tras el tratamiento, aunque no muy significativa. Con el tratamiento *in vivo*, con desinfección, inoculación y exposición UV-C de los limones, se obtuvieron resultados similares al primer ensayo *in vitro*, un crecimiento inicial más lento respecto al control. Por último, en el ensayo de análisis del color antes y después de la exposición al tratamiento UV-C, no se apreciaron grandes cambios en la coloración del limón.

Por lo tanto, podemos concluir que no tiene resultados de una eficiencia superior a otros tratamientos. Sí que se hace un estudio del tiempo de exposición requerido para obtener el máximo efecto fungicida en limón, afectando en el menor grado posible a las propiedades organolépticas y comerciales del fruto, durante su posterior proceso de maduración en cámara, ya que sí que hay un incremento de las defensas del limón tras la exposición a la luz ultravioleta.

**Abstract**

Currently there is an increase in concern about the effects of fungicides on health, which leads to greater control in the use of these, which is leading to the search for new post-harvest control methods with less toxicity to be used as an alternative. But the problem that arises is the lack of information about the effectiveness of these alternatives and their profitability when substituting traditional synthetic fungicides. To solve the problem, new research is being created, focusing on the combination of various physical and / or chemical systems, as well as creating new resistance in crops to the main rottenness. One of the options that is chosen to make is the significant reduction of toxic products even eliminating them, and use physical systems, which do not leave harmful residues. There are studies that expose the germicidal effect of ultraviolet radiation in other foods, using the radiation to disinfect the surface parts of foods at room temperature. Taking the wavelength and intensity as a variable, it has been shown that the activation of the immune system of these foods is induced.

In this work, the result of the irradiation of the lemon with ultraviolet light (UV-C) on the growth of the fungus *Penicillium digitatum*, on the color of the lemon and on the germination of the conidia is investigated. For this, *in vitro* and *in vivo* tests were carried out, controlling the development of the fungus at different exposure times. Through this study, it has been shown that the ultraviolet radiation of lemon for the treatment of the control of *Penicillium digitatum*, in the *in vitro* test results were obtained in which a slowdown of the initial growth of the fungus is observed. In the *in vitro* test with conidia, a decrease in conidia germination was observed after treatment, although not very significant. With the *in vivo* treatment, with disinfection, inoculation and UV-C exposure of the lemons, similar results were obtained to the first *in vitro* test, an initial growth slower compared to the control. Finally, in the color analysis test before and after exposure to UV-C treatment, no major changes were observed in the lemon's coloration.

Therefore, we can conclude that it does not have results of higher efficiency than other treatments. Yes, a study is made of the exposure time required to obtain the maximum fungicidal effect in lemon, affecting to the least possible degree the organoleptic and commercial properties of the fruit, during its subsequent ripening process in the chamber, since there is an increase in lemon's defenses after exposure to ultraviolet light.

# **Introducción**

## 2- Introducción

Son muchos los problemas que afectan a los cítricos, desde el cultivo hasta la postrecolección. Durante el almacenamiento es cuando se produce uno de los problemas que provoca más pérdidas en estos cultivos, la aparición de hongos. Los más comunes son *Penicillium digitatum* (moho verde), *Penicillium italicum* (moho azul), *Alternaria citri*, *Rhizopus* y *Geotrichum*.

En este trabajo nos centramos en el estudio de *Penicillium digitatum*, el cual provoca más pérdidas en los almacenes, por su fácil desarrollo a temperatura ambiente y humedad relativa alta, por lo que se dará con más frecuencia en zonas húmedas (González, 2013). La transmisión se produce por esporas que caen en la corteza, descomponiéndola. Por este motivo es muy sencillo que en un almacén se propague el hongo al estar en contacto un fruto afectado con otro sano. Estas pérdidas por podredumbre en la postcosecha unidas a la aparición de cepas resistentes a tratamientos tradicionales, a la restricción de algunos productos químicos debido a la concienciación de los efectos adversos que pueden producir en la salud y en el medio ambiente, hace que las pérdidas sean mayores y nos ha llevado a iniciar este estudio, buscando métodos de control físicos que disminuyan o ralenticen el crecimiento de *Penicillium digitatum* después de la recolección, alargando la vida comercial y útil del limón, manteniendo la calidad del producto.

En 1901 se registraron los primeros usos de la radiación UV. Ahora esa radiación es usada para la desinfección de aguas, aire y otros materiales en la industria agroalimentaria y al no producir alteraciones organolépticas significativas, se está empezando a usar en algunos productos para reducir los tratamientos químicos, con la ventaja añadida de que no genera residuos ni en el producto ni al medio ambiente (Jay *et al.*, 2009). En este estudio hemos trabajado con longitudes de onda baja, es decir entre 200 y 280 nm (UV-C), ya que es el espectro con efectos más germicida. (Guerrero y Barbosa, 2004).

### 2.1- Aspectos comerciales y agronómicos del limón

En primer lugar, vamos a hacer una descripción botánica de este fruto y veremos su importancia comercial a nivel nacional y regional.

- Clasificación botánica:

-Orden: Geraniales

-Familia: *Rutaceae*

-Género: *Citrus*

-Especie: *Citrus limón*

El limón es fruto del limonero (*Citrus limon* (L.) Burm), es la tercera especie de cítricos más

importante, pertenece al orden Geraniales y a la familia *Rutaceae*. Sus flores son abundantes, pueden nacer de forma individual o agrupadas en las axilas de las hojas, son hermafroditas, en el centro tiene numerosos estambres con anteras amarillas y un ovario. Los pétalos que tienen son blancos y tienen color morado en su cara externa ([www.bioenciclopedia.com](http://www.bioenciclopedia.com)). El fruto es de forma oval, amarillo y tiene una corteza, más o menos gruesa, dependiendo de la variedad, que contiene los gajos del interior del fruto y sus semillas, que son pequeña, ovoides y puntiagudas ([www.regmurcia.com](http://www.regmurcia.com)). La época floración del limonero varía con las condiciones climatológicas, llegando a florecer durante todo el año, desarrollando una maduración del fruto de forma escalonada ([www.infoagro.com](http://www.infoagro.com); Davies y Albrigo, 1994).

- Variedades comerciales:

### Fino

Es también conocido como Mesero, Blanco y Primofiori. El árbol se caracteriza por su gran tamaño, su vigor y sus brotes con espinas. Sus frutos son de aproximadamente 110 gramos, tienen un gran número de semillas, su piel es fina, que lo hace más sensible al manipulado, y tiene un alto volumen de zumo (elevada acidez). La primera recolección se inicia en otoño y finaliza en febrero. Su precocidad es muy importante, debido a la oferta que tiene en esas fechas ([www.infoagro.com](http://www.infoagro.com) y [www.frusemur.com](http://www.frusemur.com)).

### Verna

Se trata de un árbol vigoroso y con pocas espinas. Sus frutos son de aproximadamente 130 gramos y con una corteza rugosa y gruesa que favorece el transporte y la manipulación. La pulpa contiene mucho zumo y presenta pocas semillas. Su mayor ventaja es su producción de verano, época en la que hay menor producción de limón, aunque tiene dos floraciones. Es una variedad productiva, aunque puede presentar problemas durante la fructificación ([www.infoagro.com](http://www.infoagro.com)).

### Eureka

El árbol es de vigor medio, con pocas espinas y de tamaño pequeño. Sus frutos son de aproximadamente 120 gramos. La pulpa tiene un zumo muy ácido y con un número de semillas bajo, prácticamente nulo. Su corteza tiene un espesor medio y con estrías. Su característica más destacada es su rápida entrada en producción y tiene dos épocas de producción, la primera y más importante, se recolecta al inicio del otoño o un poco antes ([www.infoagro.com](http://www.infoagro.com) y [www.frusemur.com](http://www.frusemur.com)).

### Lisbon

El árbol es vigoroso con marcada tendencia a la verticalidad, es espinoso, con un follaje verde claro y productivo. El fruto es de calibre menor que en la variedad Fino. La pulpa tiene un elevado contenido en zumo de mucha acidez y muchas semillas. La recolección se realiza en invierno hasta el comienzo de la primavera. Es una variedad resistente a condiciones climáticas adversas ([www.infoagro.com](http://www.infoagro.com) y [www.frusemur.com](http://www.frusemur.com))

## 2.2- Interés del limón en España

### - Producción:

Sabemos que España es un gran productor agrícola, pero vamos a centrarnos en la producción de limón.

Tabla 2.2.1- Análisis provincial de superficie, árboles diseminados, rendimiento y producción de limón, según la variedad.

(www.mapama.gob.es 2018)

Comunidades y provincias	Verna			Fino			Otros limones		
	Superficie plantación regular (ha)	Arboles diseminados (número)	Producción (t)	Superficie plantación regular (ha)	Arboles diseminados (número)	Producción (t)	Superficie plantación regular (ha)	Arboles diseminados (número)	Producción (t)
Galicia							182	83.651	6.859
P. de Asturias								16.500	165
Cantabria							8		68
País Vasco							1	510	11
Cataluña	16		59	11		40	1		30
Baleares	111		1071	18		172	56		918
Castilla y León								137	
C. Valenciana	5.392		110.638	7.381		218.382			
R. de Murcia	8.111		127.794	17.769		534.867	85		1.496
Andalucía	3.679		58.557	2.553		59.507	202	80	3.674
Canarias	36	12.169	386	16	6.467	221	204	28.184	2.593
<b>España</b>	<b>17.345</b>	<b>12.169</b>	<b>289.505</b>	<b>27.748</b>	<b>6.467</b>	<b>813.189</b>	<b>739</b>	<b>129.062</b>	<b>15.814</b>

Tabla 2.2.2- Producción de limón a nivel mundial en miles de toneladas (www.fao.org 2018).

Año	Producción mundial del limón (toneladas)						
	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
Producción mundial de limón	15.027.729	15.434.925	15.886.304	16.966.139	16.940.591	17.218.173	21.893.156

Tabla 2.2.3- Principales productores de limón a nivel mundial (toneladas) (www.fao.org 2018).

Principales productores de limones en el mundo	
Año	2018
India	3.148.000
México	2.547.834
China	2.524.315
Argentina	1.989.400
Brasil	1.481.322
Turquía	1.100.000
España	1.087.232
EE.UU.	812.840

Como vemos en la tabla 2.2.3, España fue el 7º mayor productor de limón en el mundo, con 1.087.232 toneladas en el año 2018.

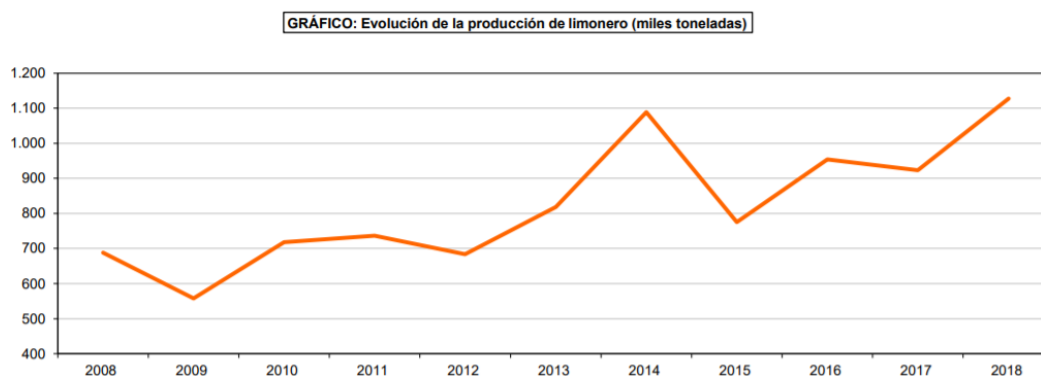


Gráfico 2.2.1- Evolución de la producción de limón en España (www.mapama.gob.es (2018)).

Observando el gráfico 2.2.1, vemos un incremento irregular hasta alcanzar casi las 1.100 mil toneladas en 2014, la disminución en 2015 y el posterior incremento hasta alcanzar de nuevo las 1.100 mil toneladas.

– Superficie:

En el Gráfico 2.2.2., se ve una disminución de la superficie dedicada a la producción de limón, pero que a partir del año 2015 empieza a remontar, alcanzando aproximadamente las 46 mil hectáreas en 2018, donde se sitúa la máxima superficie dedicada al cultivo de limón en España en los últimos diez años.

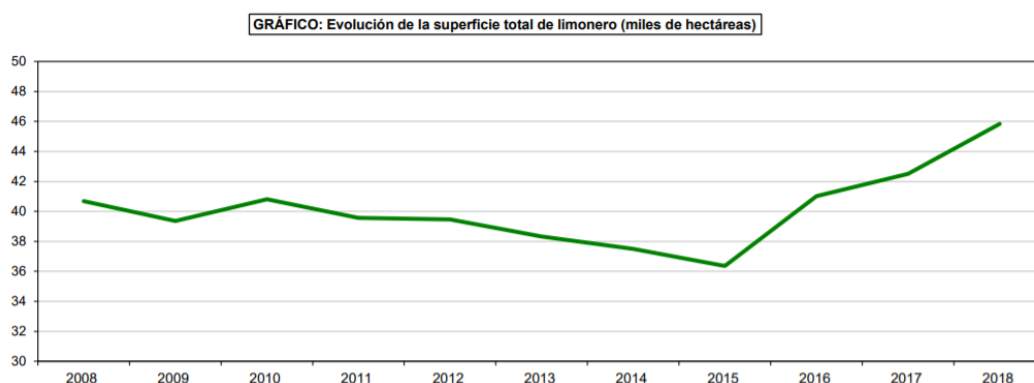


Gráfico 2.2.2- Evolución de la superficie total de limón en España en miles de hectáreas (www.mapama.gob.es (2018)).

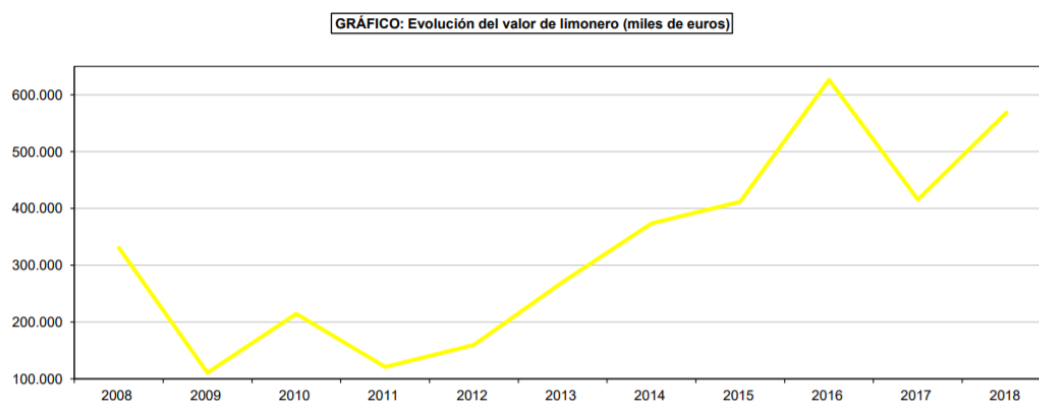


Gráfico 2.2.3- Evolución del valor del limonero en España (www.mapama.gob.es).



A pesar de los altibajos analizados tanto en superficie destinada a la producción de limón, como en producción, los datos de valor del limonero en 2011 van en aumento.

- Exportación:

Ya hemos visto que España está entre los primeros 10 productores mundiales de limones (Tabla 2.2.2), pero además es el mayor proveedor de frutas y hortalizas de la Unión Europea, con más del 29% del comercio intracomunitario de frutas y hortalizas ([www.ivace.es](http://www.ivace.es)). Además, España, Argentina y México son los exportadores más importantes. España y Argentina dominan el mercado mundial de exportaciones de limones frescos ([www.FAO.org](http://www.FAO.org)).

Las exportaciones cítricas se elevaron a 488.371 toneladas en 2018; y continúan a la cabeza en el ranking de productos agroalimentarios españoles más exportados en noviembre de 2018 con un valor (390,45 millones de euros). Los principales destinos fueron Alemania (117 millones de euros), Francia (76,71 millones) y Reino Unido (31,86) ([www.levante-emv.com](http://www.levante-emv.com)). El valor de la exportación española de frutas y hortalizas frescas en 2019 aumentó un 6% en comparación con enero de 2018, sumando 1.361 millones de euros, según datos de la Dirección General de Aduanas, dependiente del Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, procesados por FEPEX ([www.fepex.es](http://www.fepex.es)). La Región de Murcia es una gran productora y exportadora de limón, con 370.190 toneladas exportadas (8,2% menos) con un valor de 406,4 millones de euros en 2018 (3,6 inferior a la campaña anterior) ([www.fepex.es](http://www.fepex.es)).

### 2.3- Interés del limón en la Región de Murcia

- Superficie:

Como hemos visto hasta ahora los cítricos son de gran importancia en España, y las principales comunidades autónomas productoras vienen recogidas en la Tabla 2.3.1:

Tabla 2.3.1- Superficie de cítricos en España (Encuesta sobre Superficies y Rendimientos 2018, ESYRCE 2018. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente).

Comunidad autónoma	Superficie (ha)
C. Valenciana	161.944
Andalucía	85.440
Región de Murcia	43.948
Otras CC.AA.	13.287
<b>Total</b>	<b>304.619</b>

Murcia se encuentra en tercer lugar en superficie de cítricos cultivada, pero si analizamos la superficie de limón, es la que más superficie tiene con 25.279 ha., lo que representa el 55% de la superficie

total cultivada en España, según los datos de la Encuesta sobre Superficies y Rendimientos de 2018.

Tabla 2.3.2- Superficie de limón (Encuesta sobre Superficies y Rendimientos 2018, ESYRCE 2018. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente).

CC.AA.	Superficie (ha)
Región de Murcia	25.279
Comunidad Valenciana	13.980
Andalucía	6.271
Otras CC.AA.	766
<b>Total</b>	<b>46.294</b>

– Producción:

Respecto a la producción de limón en la Región de Murcia hay un incremento en los últimos años, como podemos ver en la Tabla 2.3.3, alcanzando las 547.907 toneladas en 2019.

Tabla 2.3.3- Producción de cultivos leñosos (toneladas) (www.carm.es).

Cultivo	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019
<b>Cítricos</b>							
<b>Limonero</b>	450.379	449.993	416.501	533.945	555.760	664.157	547.907
<b>Mandarino</b>	95.602	85.595	113.804	129.000	123.800	134.250	118.827
<b>Naranja</b>	175.374	120.401	136.206	149.421	137.345	150.415	123.541
<b>Naranja amargo</b>				450	445	460	201
<b>Pomelo</b>	31.217	31.000	34.639	26.500	28.762	30.671	25.964
<b>Otros cítricos (incluye limonero)</b>	581	580	423	520	530	560	515
<b>Total cítricos</b>	<b>753.153</b>	<b>697.569</b>	<b>701.573</b>	<b>839.836</b>	<b>846.642</b>	<b>980.513</b>	<b>816.955</b>

También podemos ver que el limón es el cítrico más producido en la Región de Murcia.

# **Conservación y sus** **problemas**

### 3- Conservación y sus problemas

#### 3.1- Conservación

Lo primero a destacar durante la postcosecha, es la importancia de una buena conservación, ya que aumentará la rentabilidad del producto en su comercialización, se preservará la calidad, tanto organoléptica, microbiológica, nutritiva y comercial, que se exige en el mercado actual. Para realizar una buena conservación nos guiaremos por los parámetros biológicos del limón para ajustar la temperatura, humedad, concentración  $C_2H_4$  en la atmósfera de la cámara...

En la siguiente tabla (Tabla 3.1.1.) vemos los valores de una buena conservación del limón.

Tabla 3.1.1- Parámetros biológicos del limón (<http://postharvest.ucdavis.edu>).

Contenido en agua (%)	90-95	Sensibilidad a daños por etileno	No
Intensidad respiratoria a 10°C [ $mgCO_2/(kg \cdot h)$ ]	5-6	Sensibilidad a daños por frío	De moderado a severo
Clasificación de la intensidad respiratoria	Baja	Susceptibilidad a daños por congelación	Ninguno
Tasa producción etileno a 20°C [ $\mu L C_2H_4/(kg \cdot h)$ ]	<0,1	Límite mínimo de $O_2$ (%)	5-10
Clasificación de la tasa de producción de etileno	Muy baja	Límite máximo de $CO_2$ (%)	0-10

#### 3.2- Datos de pérdidas por *Penicillium* sp.

Las dos enfermedades que más pérdidas producen son las podredumbres azul y verde, causadas por *Penicillium italicum* y *Penicillium digitatum*.

- Podredumbre verde: Es causada por el hongo *P. digitatum*, se desarrolla fácilmente a 20°C y humedad relativa alta. Crece al penetrar en la piel de los frutos a través de heridas. El primer síntoma es un aspecto húmedo y blando, posteriormente se vuelven acuosos, inconsistentes, mientras se desarrolla un micelio sin color y finalmente se produce la esporulación que hace aparecer sobre la superficie un polvillo verde ([www.tecnicoagricola.es](http://www.tecnicoagricola.es)).



Figura 3.2.1- Podredumbre verde en limón.

- Podredumbre azul: Es causada por el hongo *P. italicum*, este hongo puede crecer entre 3 y 32°C, aunque su temperatura óptima para el desarrollo es 24°C y humedad relativa alta. Los síntomas son similares a los de *P. digitatum*, salvo que las esporas tienen un color azul, por lo que la masa polvorienta que forma es de color azulado (www.tecnicoagricola.es)



Figura 3.2.2- Podredumbre azul en limón (rodeada de podredumbre verde).

### 3.3- Podredumbre por *Penicillium digitatum*

- Descripción y agentes causales:

*Penicillium digitatum*, fue descrito y clasificado por Saccardo en 1881. El nombre científico actualmente aceptado es *P. digitatum* (Pers.:Fr.) Sacc. Las podredumbres por *P. digitatum* (Green rot en la literatura anglosajona) son las principales causas de pérdidas durante la postcosecha en cítricos, es frecuente en zonas de elevada humedad e inviernos lluviosos.

El desarrollo del hongo comienza por la infección del fruto, ablandando la zona afectada, se desarrolla el micelio de color blanco, aparecen las estructuras esporógenas cambiando el color el micelio a tonos verdosos y se produce la esporulación (el micelio puede contaminar otros frutos por contacto directo, llamada contaminación cruzada, que se da frecuentemente durante la comercialización). Los conidios o esporas (principal fuente de contaminación) son secos y se pueden separar fácilmente del resto de la estructura, haciendo que se formen nubes polvorientas que facilitan su propagación. Para poder penetrar en el fruto, es necesario que esté herido, en el caso de no producirse herida, el hongo puede permanecer en la superficie hasta que el fruto esté debilitado (fase de maduración) cuando se activará, germinará y podrá penetrar con facilidad a través de los tejidos, provocando la infección y podredumbre (González, 2013).

- Importancia comercial de la podredumbre:

Los problemas de *Penicillium digitatum* durante el almacenamiento y comercialización, aunque puede estar presente y afectar al fruto desde que está en el árbol, junto a otros hongos y enfermedades pueden causar pérdidas de un 3%, pudiendo alcanzar el 8-12 % si se dan condiciones climatológicas favorables (lluvias tardías seguidas de un ambiente húmedo y fresco) (Tuset, 1987). Teniendo en cuenta que la producción de limón en Murcia durante el 2019 fue de 547.907 toneladas, estas pérdidas podrían ser de 43.833 a 65.749 toneladas.

# **Prevención y control** **de las podredumbres**

## 4- Prevención y control de las podredumbres

### 4.1- Prevención

Se ha tratado el tema de las pérdidas que puede provocar *Penicillium digitatum* y de los métodos de conservación para frenar su desarrollo, pero antes de eso existe otra prioridad y es que el fruto no llegue a enfermar en el árbol, en la manipulación ni en la postcosecha. Para ello vamos a ver diferentes tipos de actividades para la prevención a diferentes niveles del proceso.

#### - Cultivo:

Durante el cultivo se ha demostrado en diferentes estudios que el área productora (las condiciones climatológicas durante la campaña), la variedad, el modo y fecha de recolección, abonado, riego, buen manejo del cultivo..., influyen en la calidad de los frutos, ya que afectan directamente en el desarrollo de estos (Eckert y Brown, 1986). Pero no todas las variables pueden ser controladas, así que una alternativa es crear variedades resistentes a las diferentes enfermedades que perjudican la calidad del fruto para su comercialización. Las técnicas para crear tolerancias y resistencias (nivel genético), pueden hacerse con métodos clásicos, como cruzamiento-selección o por las técnicas actuales de la ingeniería genética (González, 2013).

#### - Manipulación:

Desde que se recolecta hasta que se guardan en las cámaras, los frutos son susceptibles a la contaminación y a las heridas, por donde podría penetrar el hongo *Penicillium digitatum*. Por eso, en esta etapa debe extremarse la precaución, tomándose mejores medidas de higiene y limpieza de las máquinas y en las operaciones manuales, con las que se realiza la recolección, la clasificación, el embalaje y el transporte de la fruta (Brown, 1980; Eckert y Eaks, 1989).

#### - Postcosecha:

Durante el proceso de la postcosecha, la fruta es altamente susceptible a contaminaciones y heridas, debido a sus características, como por ejemplo a su alto contenido en agua, que puedan provocar el desarrollo del hongo. Es durante esta etapa cuando hay que tomar medidas preventivas, como la conservación en frío, lavado de los frutos, tratamientos químicos, físicos..., que impidan la aparición de esporas e inhiban la germinación y el crecimiento del hongo.

### 4.2- Control

El control fungicida se realiza en la postcosecha cuando ya hay más riesgo, como ya hemos explicado en el apartado anterior. Los tratamientos son los siguientes:

- Fungicidas de síntesis:

La forma habitual de contener estas podredumbres ha sido con la utilización de fungicidas de síntesis, por su sencillo método de aplicación, por ser económico y su efectividad. Sin embargo, su uso descontrolado ha originado la presencia de cepas de patógenos resistentes. Todo esto, unido al problema de la existencia de residuos en los frutos, el aumento de los riesgos para la salud humana y el medio ambiente y las nuevas restricciones que imponen los mercados hacen que cada vez sea un método menos utilizado (Vázquez, 2012).

- Sustancias naturales:

Las sustancias naturales por excelencia para el control de podredumbres son los aceites esenciales. La acción antifúngica de los aceites en la industria alimentaria es debida en el caso del aceite esencial de árbol del té, a su compuesto mayoritario, un terpeno llamado terpinen-4-ol (30%) (Sánchez, *et al.*, 2008). En otros aceites, la actividad antifúngica es atribuida a fenoles monoterpénicos (timol, carvacrol y eugenol), al d-limoneno, cineol,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno y alcanfor... Sin embargo, no hay muchos estudios sobre tratamientos antifúngicos mediante aceites esenciales debido a la facilidad de obtención y uso de los compuestos sintéticos (González, 2013).

- Control biológico:

En los últimos años se ha demostrado la efectividad del control biológico con la utilización de microorganismos para el control de enfermedades en postcosecha (Janisciewicz y Korsten, 2002).

La clasificación de microorganismos beneficiosos se fundamenta en:

- La rapidez de colonizar la corteza/piel del fruto y las heridas y su efectiva persistencia.
- Su disposición para superar al patógeno en la obtención de nutrientes.
- Que sobreviva y se desarrolle con diversas condiciones ambientales.

(Wisniewski y Wilson, 1992).

- Técnicas físicas:

Dentro que los tratamientos físicos usados hay que destacar los siguientes:

- Tratamientos térmicos:

Los tratamientos térmicos son los mismos que se han utilizado en el pasado como medio de control de las podredumbres antes del desarrollo de los fungicidas de síntesis. Sin embargo, las recientes exigencias de reducción del uso de estos, el desarrollo de resistencia frente a dichos fungicidas y el creciente costo de desarrollar nuevos productos han hecho que vuelvan a ser valorados como respetuosos con el medio ambiente para el control de podredumbres (Schirra *et al.*, 2000). Estos tratamientos térmicos pueden ser tanto en baños de agua caliente, por aspersion de agua o aire caliente húmedo (para que disminuir la deshidratación).



- Atmósferas modificadas o controladas:

Este tipo de sistema de control es complementario a la conservación frigorífica. Se trata de un método que no tiene efecto fungicida, sino que inhibe o retrasa el crecimiento del patógeno, actuando de manera conjunta con el efecto del frío en el fruto que ralentiza el metabolismo del fruto haciéndolo más resistente a la infección.

- Irradiaciones:

- Radiaciones ionizantes:

Los tratamientos realizados con radiaciones ionizantes durante la postcosecha tienen como objetivos retrasar la maduración del fruto y destruir patógenos. Con una dosis menor de 1,0 kGy se produce un retraso de la maduración, inactivación de parásitos, inhibición de germinación y por tanto la desinfección. Irradiando a dosis de 1-10 kGy se reducen las bacterias y patógenos con esporas y a dosis más altas, 10-50 kGy se produce la destrucción de virus y la esterilización de alimentos. A pesar de estos buenos resultados, el uso de este método de control no se lleva a cabo por el alto coste de la instalación (Noboa, 2016).

- Tratamiento ultravioleta (UV):

El espectro de radiación UV, que traspasa la atmósfera terrestre, se ha separado en tres, dependiendo de su longitud de onda (Tabla 4.2.1.). Estas regiones afectan de formas diferentes a los organismos (Mahdavian *et al.*, 2008).

Tabla 4.2.1- Clasificación de efectos de la luz ultravioleta de acuerdo con su longitud de onda. Adaptado de Guerrero y Barbosa. (2004)

Clasificación	Longitud de onda	Efectos en organismos
Larga (UV-A)	320-400 nm	Cambios en la piel humana (bronceado)
Media (UV-B)	280-320 nm	Quemaduras serias (cáncer)
Corta (UV-C)	200-280 nm	Efecto germicida

Se ha demostrado en diferentes estudios que una irradiación de baja longitud de onda puede tener efectos fungicidas o puede disminuir los daños por podredumbre verde en distintas especies de cítricos. Para lograr una mayor efectividad y reducir las fitotoxicidades hay que valorar la variedad del fruto, el estado de madurez para calcular la dosis adecuada (Chalutz *et al.*, 1992; Droby *et al.*, 1993; Kinay *et al.*, 2005).

**La radiación UV en el**  
**control de la**  
**podredumbre**

## 5- La radiación UV en el control de la podredumbre

### 5.1- Introducción

Los ensayos desarrollados se basan en estudios como los de Stevens (2005) y Manzoco (2011) que mediante la radiación UV-C incrementaron la resistencia a la senescencia en manzana o como los de Guerrero y Barbosa (2004) que usan la radiación de onda de 254 nm. por su efecto germicida. En este trabajo se ha probado exponiendo a luz UV-C durante distintos periodos de tiempo, para evaluar el desarrollo del hongo (*in vitro* e *in vivo*) y poder observar posibles daños producidos tras la exposición, que puedan disminuir su valor comercial del limón.

Para el desarrollo del análisis del problema planteado se han realizado ensayos con el mismo tratamiento de radiación para ver los diferentes efectos que tenía sobre el hongo (*in vitro*) y en limón directamente (*in vivo*). El primero de ellos se realizó en placas Petri, otro se realizó con una suspensión de conidios para comprobar los efectos de la radiación en la germinación del hongo, con el tercero se quería ver el efecto de la radiación en el hongo cuando está en el limón y por último para poder ver los cambios que podían sufrir las características de los limones tras la radiación.

### 5.2- Primer ensayo. Cultivo *in vitro* de *Penicillium digitatum* y tratamiento UV-C

#### 5.2.1- Materiales y métodos

##### 5.2.1.1- Material experimental y tratamientos

En primer lugar, antes de realizar el primer ensayo, se aislaron muestras de *P. digitatum* de limones (*Citrus limon* (L.) Burm. var. Fino) de diferentes procedencias (sur de la provincia de Alicante, Santomera (Murcia) y Beniaján (Murcia)) (Parra, 2016), que a lo largo del trabajo llamaremos 1PD, 2PD y 3PD respectivamente). Se recogieron los limones de las fincas y se trasladaron al día siguiente al laboratorio de Fitopatología de la Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT). Se almacenaron en 5 bandejas, con 10 frutos cada una, unos se guardaron en una cámara húmeda a temperatura ambiente y refrigerada, otros sin cámara húmeda a temperatura ambiente y refrigerada y otros sin cámara húmeda y sin refrigeración. Una vez aparecieron los hongos de forma natural (sin inoculación), en los limones, se hizo la siembra de *P. digitatum* en una placa de Petri. El aislamiento se hizo a partir de un sólo fruto, de cada una de las procedencias, en una cabina de flujo laminar. Usando un medio de cultivo sintético de agar de patata y dextrosa (PDA. Scharlab®. Barcelona). Una vez realizada la siembra de los aislados, las placas se incubaron a 26°C hasta el desarrollo completo de los hongos. Después se procedió a purificar los aislados de *P. digitatum* eliminando de forma aseptica una pequeña porción cuadrada (aproximadamente de 2x2 mm) del borde de crecimiento de la colonia del micelio desarrollado y poniéndolo sobre otra placa preparada para la siembra con PDA. Estos cultivos

se incubaron a 26° y se mantuvieron almacenados en refrigeración para poder hacer el estudio de las características fenotípicas y patogénicas, en él se aprecian unas diferencias fenotípicas que hace que el aislado 1PD tenga un mayor vigor de crecimiento, haciendo que lo consideremos, por lo tanto, el más virulento (Parra, 2016), los tratamientos de radiación ultravioleta y el chequeo diario del desarrollo tras el tratamiento.

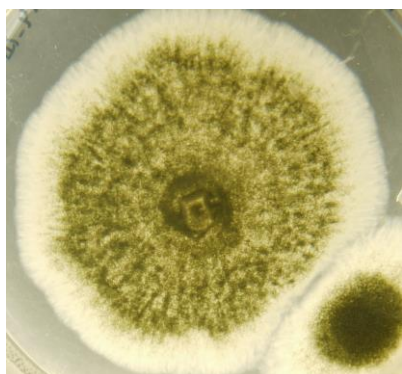


Figura 5.2.1.1.1- Aislado 1PD

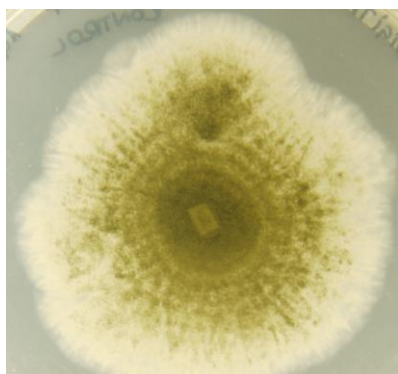


Figura 5.2.1.1.2- Aislado 2PD

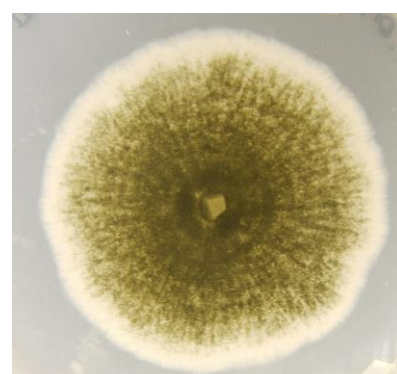


Figura 5.2.1.1.3- Aislado 3PD

### 5.2.1.2- Unidad de observación y número de repeticiones

La prueba comenzó con la siembra del hongo, en placas de Petri con medio de cultivo PDA, en el laboratorio de la UPCT. Para esta prueba se usaron los 3 aislados (1PD, 2PD y 3PD). Se hicieron cuatro repeticiones por aislado y tratamiento, 48 placas de cultivo más 8 placas extra para los tratamientos de 12,95 kJ/m<sup>2</sup> y 31,95 kJ/m<sup>2</sup> del aislado 1PD por ser el más virulento (Parra, 2016). Al día siguiente de la siembra, tras estar en la incubadora a 15°C, a la empresa Fruca S.A.T. 9821 Grupo CFM de Fuente Álamo (Murcia), que nos facilitó sus instalaciones para hacer la radiación con la luz ultravioleta con la máquina INGRO MKUVC1-2=1700, cuya intensidad media era de 10,650 (W/m<sup>2</sup>). Posteriormente, se trasladaron las placas al laboratorio de la UPCT y se volvieron a guardar en la incubadora a 15°C en oscuridad. Haciendo un chequeo diario de la evolución del hongo y fotografiando las placas para poder medir el área de crecimiento con el software Image Tool for Windows, versión 3.0 (Texas, EEUU).

Las dosis de los tratamientos se basaron en la duración de la exposición tal y como se explica en la Tabla 5.2.1.2.1

Tabla 5.2.1.2.1- Tratamientos a los aislados 1PD, 2PD y 3PD, en placas de Petri, con exposición a luz ultravioleta, basando las dosis en el tiempo de exposición.

Tratamientos	Intensidad media (W/m <sup>2</sup> )	Tiempo (segundos)	Dosis media (kJ/m <sup>2</sup> )
Control	10,65	0	0
10 segundos	10,65	10	1,065
30 segundos	10,65	30	3,195
60 segundos	10,65	60	6,390
2 minutos	10,65	120	12,780
5 minutos	10,65	300	31,950

Los tratamientos de 12,95 kJ/m<sup>2</sup> y 31,95 kJ/m<sup>2</sup> sólo se realizaron con el aislado 1PD, ya que era el más virulento. (Parra, 2016).

La prueba se consideró finalizada cuando, tras el transcurso de los días, se dejó de apreciar diferencias de color en el esporulado entre las distintas réplicas.



Figura 5.2.1.2.1-Evolución de 3PD tras la exposición a radiación UV durante 10 segundos. Día 1, día 6 y día 12.

### 5.2.1.3- Definición y clasificación de las variables

La variable considerada para valorar los efectos de la radiación sobre el crecimiento del hongo fue la media del área de crecimiento de la colonia (cm<sup>2</sup>). Esta medida representa el área desarrollada por el hongo a intervalos diarios. Esta medición se tomó fotografiando las muestras y analizándolas, previa calibración, con el software Image Tool for Windows, versión 3.0 (Texas, EEUU) y con las repeticiones de cada tratamiento se hizo la media del crecimiento por día.

### 5.2.1.4- Establecimiento de la hipótesis

Ya se conoce el efecto germicida de la radiación UV y cómo puede afectar al desarrollo y crecimiento del hongo. Con esta base, el ensayo que se realizó quiere poner de manifiesto ese efecto, poder medirlo, comprobar si se puede frenar el crecimiento de *Penicillium digitatum* y así conseguir aplicar de la forma adecuada la radiación para mejorar la rentabilidad del producto en la postcosecha, pudiendo disminuir los daños causados.

### 5.2.1.5- Análisis estadístico

Para este ensayo, teniendo en cuenta la variable medida y el número de muestras, se realizó un análisis estadístico con los datos de la media aritmética del área de crecimiento del hongo y la desviación estándar como medida de dispersión.

### 5.2.1.6- Protocolo de las mediciones

Se realizó la preparación del medio de cultivo PDA unos días antes para la siembra de *P. digitatum*

en 4 placas por tratamiento (0 kJ/m<sup>2</sup>, 1,065 kJ/m<sup>2</sup>, 3,195 kJ/m<sup>2</sup>, 6,390 kJ/m<sup>2</sup>) y se usaron los tres aislados (1PD, 2PD y 3PD) para observar las diferencias de crecimiento de un aislado a otro. Para el aislado 1PD se prepararon 8 placas más, para las dosis de 12,78 kJ/m<sup>2</sup> y 31,95 kJ/m<sup>2</sup>, se realizó sólo para este aislado porque era el más virulento (Parra, 2016). Una vez hecha la siembra, en la cabina de flujo laminar para evitar contaminaciones, se guardó en la incubadora a 15°C. Al día siguiente se llevaron las placas a la empresa Fruca, para realizar los tratamientos, aunque el control no se irradia se traslada en todos los ensayos para que todas las muestras “sufrieran” los mismos cambios de temperatura, luz, etc. Cuando se terminaron las irradiaciones se volvieron a llevar al laboratorio de la UPCT, donde se guardaron y se realizó el chequeo diario, para ello, se tomaron fotos de las placas, colocándolas en una lupa para poder ver con aumento el crecimiento del hongo con el paso de los días. Para el chequeo se usó el software Imagen Tool 3.0. para la medición del área de crecimiento, se tomó el área media por día de las 4 réplicas y se representó la desviación estándar.

### **5.3- Segundo ensayo. Suspensión de conidios de *Penicillium digitatum* y tratamiento UV-C en placas microtituladoras**

#### **5.3.1- Materiales y métodos**

##### **5.3.1.1- Material experimental y tratamientos**

Este ensayo se realizó en microplacas para cultivo (placas microtituladoras o de pocillos), en el que se preparó una suspensión de conidios, del aislado 1PD, en agua destilada estéril, ajustando la concentración con la cámara de recuento Thoma (la concentración aproximada de 100 conidios por mm<sup>2</sup>). Los pocillos se rellenaron con 150 µL de medio de cultivo de caldo de dextrosa de patata (PDB), se añadió 50 µL de la suspensión de conidios de 10<sup>6</sup> conidios/mL y se guardó en la incubadora a 15°C.

##### **5.3.1.2- Unidad de observación y número de repeticiones**

Como ya se ha dicho, este ensayo fue realizado en microplacas, se utilizó sólo el aislado más virulento 1PD (Parra, 2016) y se hicieron 4 repeticiones por tratamiento (24 pocillos). Los pocillos de la microplaca se rellenaron con medio de cultivo de PDB y la suspensión de conidios.

##### **5.3.1.3- Definición y clasificación de las variables**

La variable en la que se examinaron los efectos de la radiación sobre el crecimiento del hongo fue el recuento de conidios germinados. Esta variable se obtuvo con el recuento diario de conidios totales y germinados, con la cámara Thoma.

#### 5.3.1.4- Establecimiento de la hipótesis

Como ya se ha explicado, se conoce el efecto germicida de la radiación UV y cómo puede afectar al desarrollo y crecimiento del hongo en el fruto. Con esta base, el experimento que se realizó quiere poner de manifiesto ese efecto, observar si se consigue alterar la germinación de conidios y por lo tanto su multiplicación, poder medirlo y así conseguir aplicarlo de la forma adecuada para mejorar la rentabilidad del producto en la postcosecha, pudiendo disminuir los daños causados por *P. digitatum*.

#### 5.3.1.5- Análisis estadístico

Teniendo en cuenta la variable medida y el número de muestras, se realizó un análisis estadístico con los datos de la media aritmética del número de conidios germinados por mm<sup>2</sup> y la desviación estándar como medida de dispersión.

#### 5.3.1.6- Protocolo de las mediciones

Este ensayo se hizo en microplacas, en las que se introdujo PDB y una suspensión de conidios del hongo, *Penicillium digitatum* (únicamente se usó el aislado 1PD). Se realizó una suspensión de conidios en agua destilada estéril, con una concentración aproximada de 100 conidios por 1 mm<sup>2</sup> (usando la cámara de recuento Thoma, la concentración aproximada fue de 10<sup>6</sup> conidios/mL). Los pocillos se rellenaron con 150 µL de medio de cultivo PDB y se añadió 50 µL de la suspensión de conidios. En este caso se hicieron 4 repeticiones para cada tratamiento (0 kJ/m<sup>2</sup>, 1,065 kJ/m<sup>2</sup>, 3,195 kJ/m<sup>2</sup>, 6,390 kJ/m<sup>2</sup>, 12,780 kJ/m<sup>2</sup> y 31,950 kJ/m<sup>2</sup>). El mismo día de la siembra se llevaron a irradiar a la empresa Fruca, donde hicimos los tratamientos. Una vez irradiados se trasladaron a la universidad donde se guardaron en la incubadora a 15°C durante un día, junto a las placas del ensayo anterior. Al día siguiente se inició el chequeo, colocando una muestra en la cámara Thoma, haciendo el conteo de conidios por mm<sup>2</sup> y observando el número de conidios que habían germinado. Estos datos se introdujeron en una tabla, haciendo la media y la desviación estándar, datos con los cuales se realizó la valoración de los resultados.

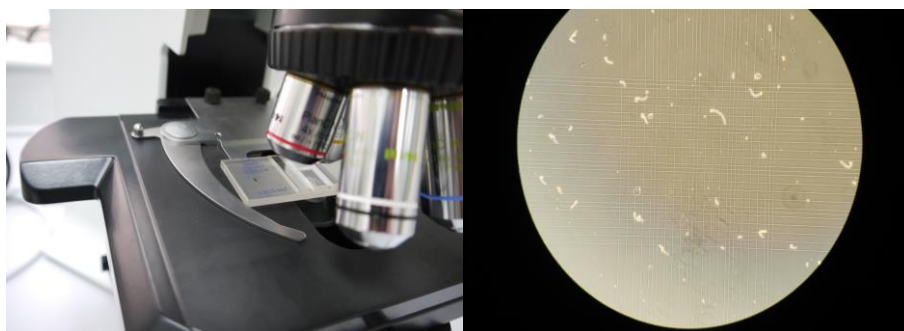


Figura 5.3.1.6.1- Recuento de conidios en la cámara Thoma.

## 5.4- Tercer ensayo. Cultivo *in vivo* de *Penicillium digitatum* con desinfección de los limones antes de la inoculación y tratamiento UV-C

### 5.4.1- Materiales y métodos

#### 5.4.1.1- Material experimental y tratamientos

Este ensayo fue realizado *in vivo*, se usaron limones de la empresa Campounión en Beniaján (Murcia) y los 3 aislados de *P. digitatum* (1PD, 2PD y 3PD). Antes de la realización de los tratamientos se llevó a cabo la limpieza y desinfección de los limones con un lavado de 3 minutos en una mezcla de 25 litros de agua con 1 litro de hipoclorito sódico, se secaron con papel y se colocaron en los alveolos de las cajas de cartón (16 limones por caja). Después se realizaron los tratamientos, uno de ellos consistió en la inoculación del hongo en una herida del fruto realizada antes con un punzón, se irradió el mismo día y se almacenó en una cámara a 15°C y HR del 85% (se colocó un data-logger para controlar los cambios de temperatura y humedad durante el almacenamiento). En el otro tratamiento se realizó la herida con el punzón y se irradió, se almacenó en la misma cámara que la muestra del otro tratamiento (15°C y HR del 85%) y a los dos días se hizo la inoculación. El chequeo de la evolución del crecimiento del hongo se realizó en la misma cámara, se fue marcando la zona que estaba afectada, después se fotografiaron las cajas diariamente para realizar la toma de datos, se midió el área que se marcaba con el programa informático Imagen Tool 3.0.



Figura 5.4.1.2.1- Radiación de limones con INGRO MKUVC1-2=1700, en las instalaciones de Fruca.



Figura 5.4.1.2.2- Colocación de los limones en la caja con alveolos, las heridas marcadas e inoculadas.

#### 5.4.1.2- Unidad de observación y número de repeticiones

En este ensayo, *in vivo*, se desinfectaron todos los limones con un lavado con hipoclorito sódico. Para los tratamientos se usaron los 3 aislados (1PD, 2PD y 3PD) y las mismas dosis de los ensayos anteriores, realizados *in vitro* (0 kJ/m<sup>2</sup>, 1,065 kJ/m<sup>2</sup>, 3,195 kJ/m<sup>2</sup> y 6,390 kJ/m<sup>2</sup>). Es decir, se usaron 4 cajas con 16 limones para cada aislado (una caja para cada dosis de tratamiento), 64 limones para cada aislado. Para el segundo tratamiento se repitió el tamaño de muestra, 64 limones para cada aislado, 16 limones en cada caja.



#### 5.4.1.3- Definición y clasificación de las variables

La variable con la que se examinaron los efectos de la radiación sobre el crecimiento del hongo fue la media del área de crecimiento de la colonia (cm<sup>2</sup>), que representa el área de la colonia desarrollada a intervalos diarios sobre cada colonia. Esta medida se tomó fotografiando las muestras y analizándolas, previa calibración, con el software Image Tool for Windows, versión 3.0 (Texas, EEUU) y con las repeticiones de cada tratamiento se hizo la media del crecimiento por día y el Índice de desarrollo de la podredumbre (IDP). El Índice de Desarrollo de la Podredumbre (IDP) se obtuvo aplicando la siguiente ecuación:

$$IDP = [(P1x0)+(P2x1)+(P3x2)+(P4x3)]/TF$$

P1 es el número de frutos sin podredumbre; P2 es el número de frutos podridos sin micelio; P3 es el número de frutos con micelio blanco y P4 corresponde al número de frutos podridos con micelio coloreado. TF es el total de frutos. Este índice varía entre los valores de 0 y 3, siendo 0 (no hay podredumbre) y 3 (todos los frutos están afectados y con micelio esporulado) (González, 2013).

#### 5.4.1.4- Establecimiento de la hipótesis

Ya se ha explicado con anterioridad, el conocimiento del efecto germicida de la radiación UV y cómo puede afectar al desarrollo y crecimiento del hongo en el fruto. Con estos ensayos se quiere poder medir ese efecto y así conseguir aplicarlo de la forma adecuada para disminuir los daños causados por *P. digitatum*. Además, se quiere probar el efecto de la radiación del limón en la activación de defensas naturales frente al ataque fúngico. Teniendo en cuenta lo explicado, las hipótesis que se pretenden verificar es si se puede frenar el crecimiento de *Penicillium digitatum*, conservar sin daños los frutos tras el tratamiento y activar las defensas naturales del limón frente a un ataque fúngico.

#### 5.4.1.5- Análisis estadístico

Para este ensayo, teniendo en cuenta las variables medidas y el número de muestras, se realizó un análisis estadístico con los datos de la media aritmética del área de crecimiento del hongo y la desviación estándar como medida de dispersión.

#### 5.4.1.6- Protocolo de las mediciones

Para este tercer ensayo, se recogieron los limones en Campounión, facilitados por la empresa Fruca, y se llevaron al laboratorio de la UPCT, donde se pasó a lavar y desinfectar todos los limones con hipoclorito sódico, cada lavado se hizo en una mezcla de 25 litros de agua con un litro de lejía comercial, se sumergían los limones durante 3 minutos. Después se lavaban con agua del grifo, se secaban con papel, se colocaban en

los alveolos, dentro de las cajas de cartón y se almacenaron en un laboratorio durante 2 días hasta que comenzó el ensayo.

Como el hongo ya estaba aislado se preparó la suspensión de conidios que iba a ser usada para la inoculación, esa suspensión se dividió en dos botes para poder usarla en dos días diferentes. La parte que se iba a usar a los dos días se guardó en el frigorífico. A los dos días se hizo la viabilidad del inóculo.

Una vez desinfectados los limones, se empezó el ensayo que consistía en 3 tratamientos más el control, de cada uno se hicieron 3 réplicas (3 cajas) de 16 limones cada una.

El primer tratamiento consistió en hacer una herida, con un punzón flameado, se trasladaron todas las cajas a la empresa Fruca (también se trasladaron las cajas del control, para que todos los limones pasaran por los mismos cambios de temperatura, luz humedad...) y se irradiaron a diferentes dosis (0 kJ/m<sup>2</sup>, 1,065 kJ/m<sup>2</sup>, 3,195 kJ/m<sup>2</sup> y 6,390 kJ/m<sup>2</sup>). Después se llevaron de nuevo a la universidad para hacer la inoculación en el mismo día y almacenarlos en una cámara a 15°C y HR del 85%, se colocó un data-logger para controlar los cambios de temperatura y humedad durante el almacenamiento durante dos días hasta hacer la inoculación. El control del tratamiento se hizo, igual que el tratamiento, pero sin irradiarlo, es decir se hizo la herida y se inoculó el mismo día. Al día siguiente de la radiación y la inoculación, se observó que se estaba empezando a desarrollar podredumbre en puntos diferentes al de inoculación, y se decidió eliminar los que estaban más desarrollado.

El segundo tratamiento de este ensayo consistió en realizar la herida, irradiar e inocular a los 2 días. En este tratamiento se expusieron a las mismas dosis que en el tratamiento explicado antes, trasladando también las cajas del control a la empresa Fruca y su posterior traslado de nuevo a la universidad para almacenarlos en la misma cámara (con la misma temperatura y humedad).

A la hora de hacer el chequeo, de ambos tratamientos, se fue marcando la zona que estaba afectada por el hongo, después se fotografiaban las cajas para realizar la toma de datos, se midió el área que se marcaba todos los días con el programa Imagen Tool 3.0.

Para los gráficos de desarrollo del crecimiento, de los dos tratamientos, se tomó la media por día de las 3 réplicas y se representó la desviación estándar. Tanto la media como la desviación estándar se agruparon en la misma gráfica para la mejor interpretación de los resultados, siempre teniendo en cuenta que durante los chequeos se eliminaban los limones que estaban afectados por el hongo por un punto diferente al de la inoculación, porque era signo de contaminación y no eran datos útiles.

Con el recuento de los limones afectados durante el ensayo se obtuvo el IDP de cada aislado:

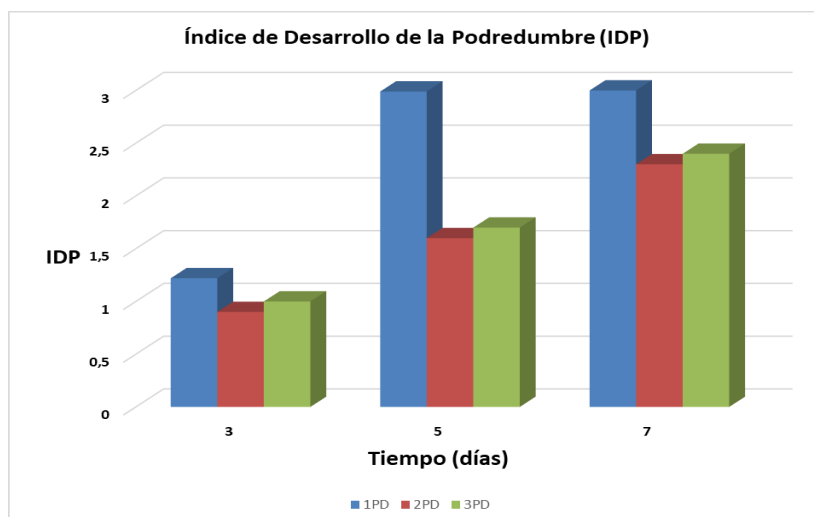


Gráfico 5.4.1.6.1- Índice de Desarrollo de la Podredumbre de los aislados 1PD, 2PD y 3PD.

## 5.5- Cuarto ensayo. Análisis de color de una muestra de limones *in vivo*, sin desinfección de los limones, antes y después del tratamiento UV-C

### 5.5.1- Materiales y métodos

#### 5.5.1.1- Material experimental y tratamientos

Al igual que en el último ensayo, se utilizaron limones de la empresa Campounión en Beniaján (Murcia) y los 3 aislados de *P. digitatum* (1PD, 2PD y 3PD). Para este ensayo no se lavaron los limones, porque nos interesaba evitar la pérdida de conidios de *P. digitatum* presentes en la superficie del limón. Se agruparon 4 cajas de 16 limones para cada aislado (una caja para cada dosis de tratamiento). El interés de este ensayo era ver los posibles cambios de coloración en el limón tras la radiación UV-C. Para ello se midió con el colorímetro el color de todos los limones antes de ser irradiados ese mismo día (Fruca) y una semana después de la exposición.

#### 5.5.1.2- Unidad de observación y número de repeticiones

Para la última prueba se usó un tamaño de muestra idéntico al ensayo anterior, 4 cajas con 16 limones cada una (64 limones por tratamiento).

Las medidas que se chequearon fueron, mediante un colorímetro, el color de cada limón, agrupándolos en grupos según el aislado y el tratamiento aplicado para obtener la media. Se realizó la medición del color antes de la irradiación y una semana después del tratamiento.

### **5.5.1.3- Definición y clasificación de las variables**

La variable considerada para determinar los efectos de la radiación sobre el limón en este ensayo, fueron los datos obtenidos por el colorímetro antes de la radiación y una semana después de la misma.

### **5.5.1.4- Establecimiento de la hipótesis**

Ya se ha explicado, el resultado germicida de la irradiación con ultravioleta y cómo puede afectar al desarrollo y crecimiento del hongo en el fruto. Pero en este ensayo se quiere comprobar si se puede conservar sin daños en los frutos tras el tratamiento y activar las defensas naturales del limón frente a un ataque fúngico.

### **5.5.1.5- Análisis estadístico**

Para este ensayo, teniendo en cuenta la variable medida y el número de muestras, se realizó un análisis de los datos del colorímetro obtenidos en las diferentes etapas del ensayo.

### **5.5.1.6- Protocolo de las mediciones**

En el último ensayo realizado el procedimiento fue recoger los limones del limonar de Campounión (Fruca), en la Universidad Politécnica de Cartagena y se colocaron en 12 bandejas, en cada una de ellas se colocaron 16 limones. No se realizó la limpieza y desinfección de los limones, sino que se mantuvieron tal y como llegan de campo al almacén para no eliminar la presencia de los posibles conidios que pueda haber en la superficie del limón de forma natural. El mismo día que se recogieron se analizó el color de cada limón con el colorímetro y se les hizo el tratamiento de radiación UV, se trasladaron de nuevo a la universidad dónde se conservaron en la incubadora a 15°C durante una semana y al cabo de esos días se volvió a medir el color de los que no se habían retirado, porque ya estaban cubiertos completamente por hongos.

# **Resultados y discusión**

## 6. - Resultados y discusión

### 6.1-Resultados y discusión. Primer ensayo, cultivo *in vitro* y tratamiento UV-C en placa de Petri

Los resultados del primer ensayo, en el que se hizo la siembra de los tres aislados y se los irradió al día siguiente, se basaron en el análisis del crecimiento del hongo en las placas Petri tras la exposición a luz ultravioleta y se representó gráficamente, todos los resultados representan el crecimiento del hongo de forma exponencial, aunque se aprecia cierta ralentización del crecimiento al inicio en algunos casos.

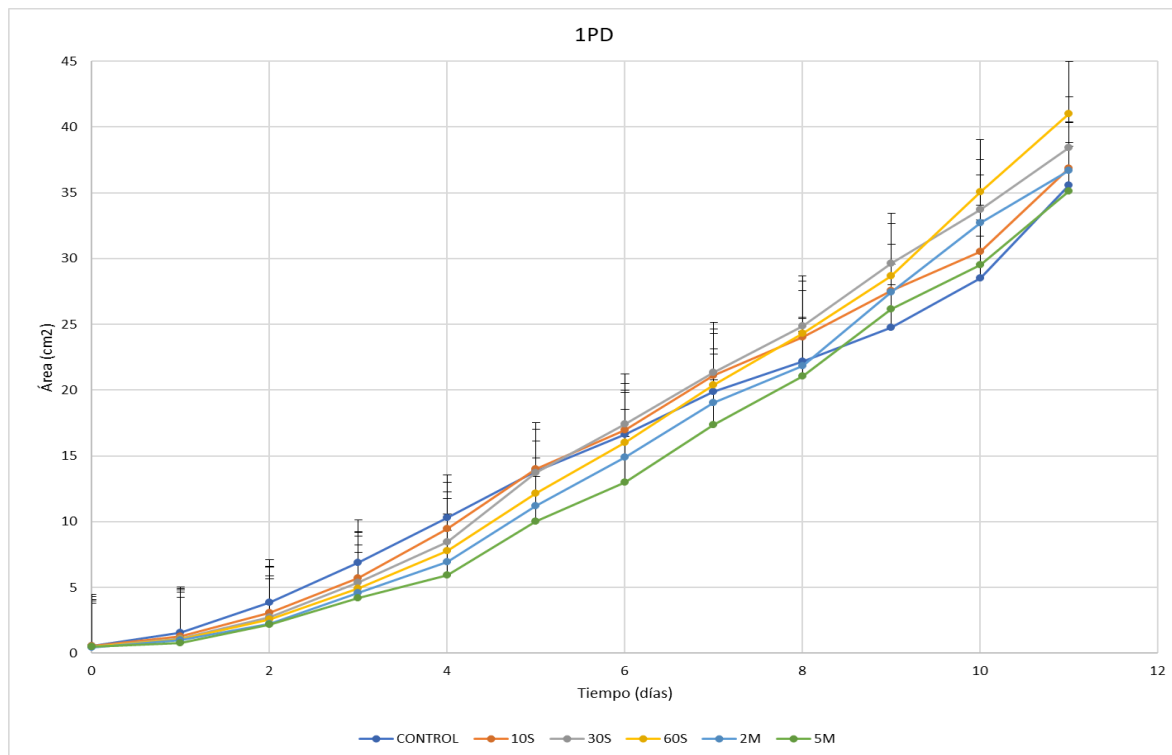


Gráfico 6.1.1- Crecimiento *P. digitatum* en la placa de cultivo de medio sintético de agar de patata y dextrosa (PDA) a lo largo de 10 días (aislado 1PD).

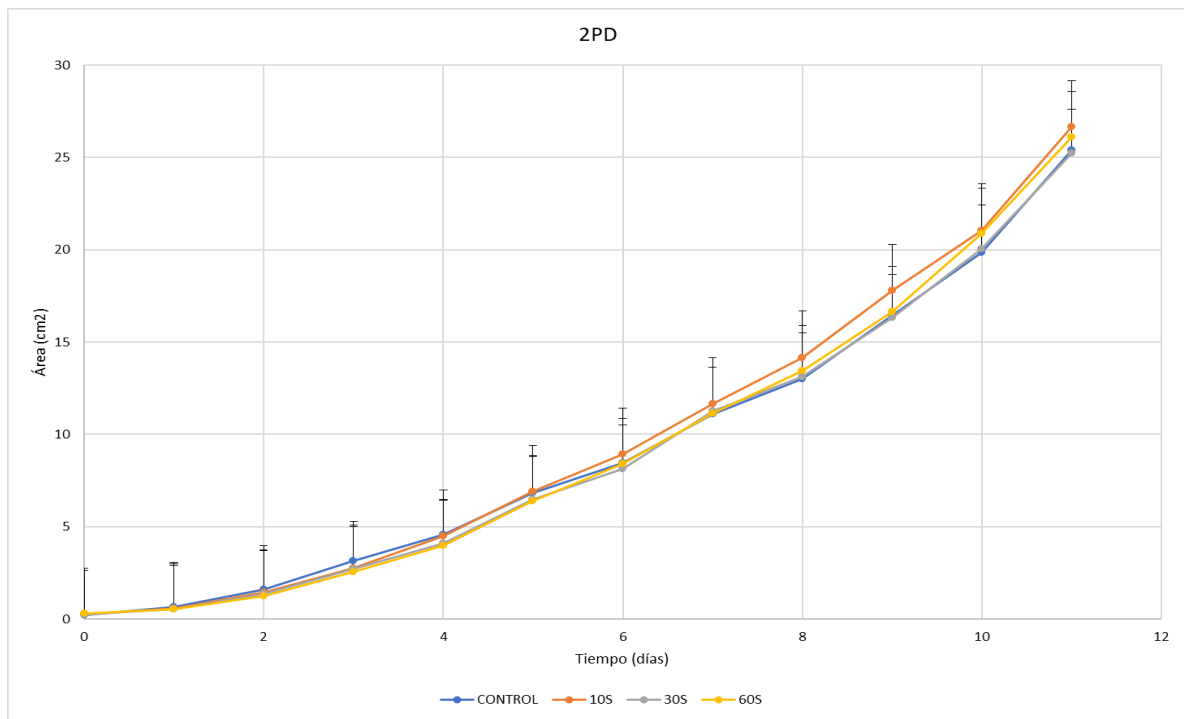


Gráfico 6.1.2- Crecimiento *P. digitatum* en la placa de cultivo de medio sintético de agar de patata y dextrosa (PDA) a lo largo de 10 días (aislado 2PD).

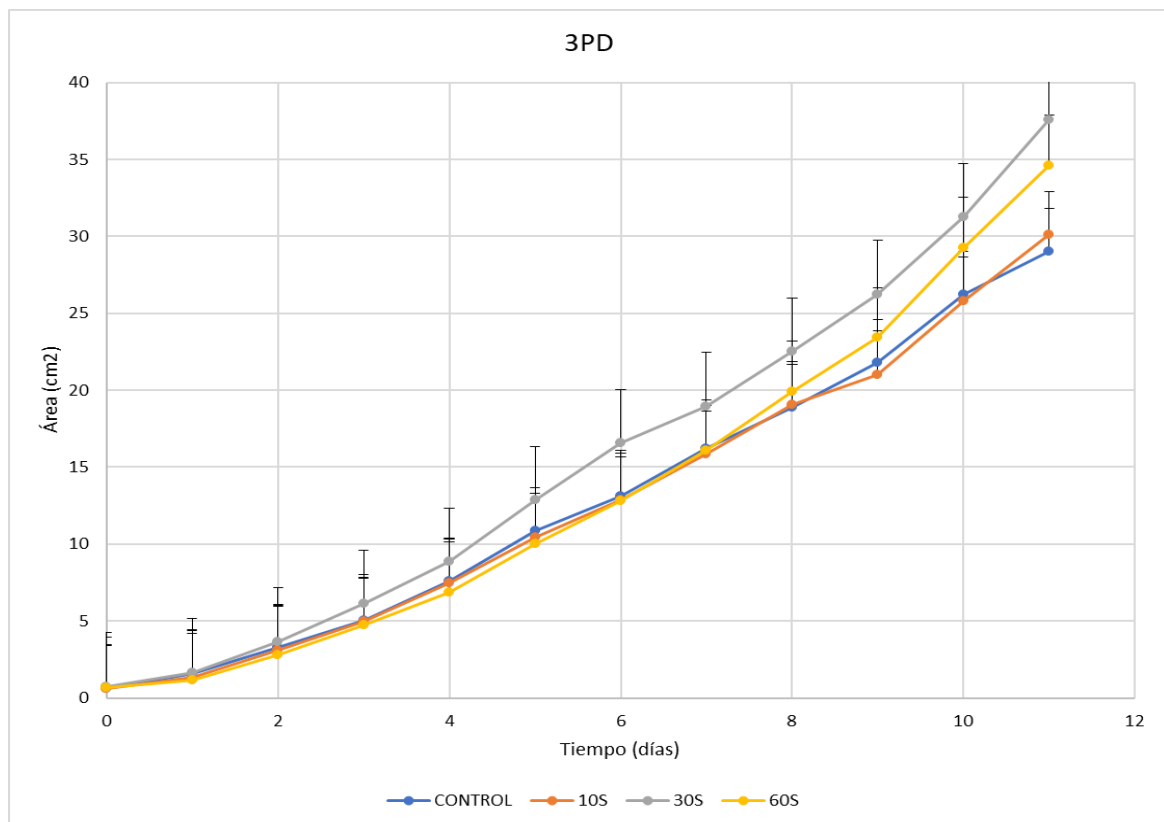


Gráfico 6.1.3- Crecimiento *P. digitatum* en la placa de cultivo de medio sintético de agar de patata y dextrosa (PDA) a lo largo de 10 días (aislado 3PD).

Con los gráficos anteriores, podemos ver el efecto de la radiación ultravioleta sobre los diferentes aislados a lo largo del tiempo.

En el primer caso, Gráfico 6.1.1, tenemos el crecimiento del aislados 1PD, se puede observar que todos los tratamientos tuvieron efecto en el retraso del desarrollo del hongo respecto al control. En los tratamientos de menos de 60 segundos, es decir de dosis inferior a 6,390 kJ/m<sup>2</sup>, como se explica en la tabla 5.2.1.2.1., de exposición a la radiación ultravioleta, el desarrollo del hongo se frenó los primeros días, pero sigue habiendo un crecimiento exponencial. Es a partir de la dosis de 6,390 kJ/m<sup>2</sup> (60 segundos) de irradiación cuando se pudo ver un mayor control del desarrollo del hongo, tardó más en crecer que el control hasta el sexto día que es cuando superó el crecimiento del área del hongo sin tratar (control), mientras que los tratamientos de dosis 12,780 kJ/m<sup>2</sup> (2 minutos de exposición a UV-C) y 31,950 kJ/m<sup>2</sup> (5 minutos de exposición a UV-C) tuvieron un mayor control del crecimiento hasta el octavo día del chequeo, aunque en todo momento se observa el incremento del área en todos los tratamientos.

Para el segundo caso, Gráfico 6.1.2, es la representación del crecimiento del aislado 2PD, en el podemos ver que los tratamientos apenas tuvieron efecto en el crecimiento del hongo, ya que todos los tratamientos tienen la misma curva de crecimiento que el control, que no fue irradiado.

En el tercer caso, Gráfico 6.1.3, vemos el crecimiento del aislado 3PD, para este caso tampoco se aprecia gran diferencia entre el crecimiento del control y de los demás tratamientos, incluso en el tratamiento de dosis 3,195 kJ/m<sup>2</sup> (30 segundos de exposición a UV-C), vemos que se desarrolla más rápido que el control.

Con estos resultados podemos no apreciar el efecto germicida que Guerrero Beltrán y Barbosa Cánovas (2004) obtuvieron en su estudio al usar la radiación de onda de 254 nm. en manzanas, ya que sólo con el primer aislado se obtuvo una desaceleración al inicio del crecimiento, pero sin unos resultados destacables, ya que el crecimiento no se detuvo totalmente, siendo los tratamientos con mejores resultados en el ensayo los realizados con dosis de 12,780 kJ/m<sup>2</sup> (2 minutos de exposición a UV-C) y 31,950 kJ/m<sup>2</sup> (5 minutos de exposición a UV-C), en el aislado 1PD.

## **6.2- Resultados y discusión. Segundo ensayo, suspensión de conidios y tratamiento UV-C en placas microtituladoras**

Con el segundo ensayo se quiso estudiar los resultados de la germinación de los conidios tras la radiación con luz ultravioleta.

Tras la preparación de la suspensión, con el aislado 1PD, en las placas microtituladoras, con una concentración 10<sup>6</sup> conidios/mL y después de irradiarlos con los tratamientos correspondientes, se guardaron a 15°C durante un día, al día siguiente se realizó el recuento de conidios en cámara Thoma, se recopilaron los datos en la Tabla 6.2.1.



Tabla 6.2.1- Recuento de conidios de las muestras, recuento de conidios germinados y porcentaje de conidios germinados.

Dosis	Total conidios		Conidios germinados		% Conidios germinados	
	Media	Desviación	Media	DE	Media	DE
Control	35	20,5	20	9,7	58,6%	47,2%
1,065 kJ/m <sup>2</sup>	30	4,3	19	1,9	64,5%	43,9%
3,195 kJ/m <sup>2</sup>	31	11,5	16	6,6	51,2%	57,8%
6,390 kJ/m <sup>2</sup>	23	8,3	15	7,1	66,0%	86,3%

Con estos valores obtuvimos el Gráfico 6.2.1 en el que se representa el número de conidios germinados que se contaron en las muestras después de ser irradiadas.

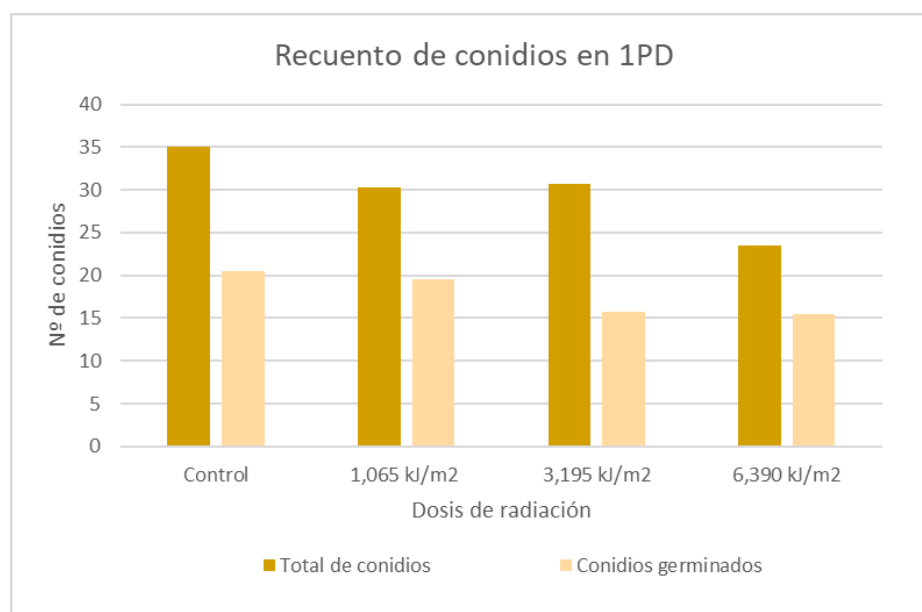


Gráfico 6.2.1- Número de conidios totales y germinados en *Penicillium digitatum* en el aislado 1PD tras las diferentes dosis de radiación del tratamiento.

Observando los datos obtenidos podemos ver una disminución de la germinación de conidios tras los tratamientos de radiación, aunque puede parecer que no hay mucha diferencia en el Gráfico 6.2.1. entre las dosis de 3,195 kJ/m<sup>2</sup> y 6,390 kJ/m<sup>2</sup>, si analizamos los datos de la tabla 6.2.1., vemos que hay un menor porcentaje de conidios germinados en la muestra tratada con la dosis de 3,195 kJ/m<sup>2</sup> un casi un 15% menos de conidios germinados que con la dosis mayor y por lo que la dosis más alta no es significativamente más eficaz por ser mayor y por eso no sería rentable usarla. Y si comparamos la dosis de 3,195 kJ/m<sup>2</sup> con el control, podemos ver que hay una disminución del 7,4% de conidios germinados en el primer día de incubación, por lo que podemos considerar un leve efecto del tratamiento en la germinación de conidios durante el primer día.

### 6.3- Resultados y discusión. Tercer ensayo, cultivo *in vivo* con desinfección de los limones antes de la inoculación y tratamiento UV-C

En los siguientes gráficos se ven los resultados de los tratamientos de lavado y desinfección de los

limones y con la inoculación del hongo en una herida realizada con un punzón y su posterior irradiación con luz UV-C y el otro tratamiento en el que se realizó la inoculación de *P. digitatum* a los dos días de la exposición a la luz UV-C.

En el primer caso, las dosis de exposición que mejor resultados dieron fueron 3,196 kJ/m<sup>2</sup> y 6,390 kJ/m<sup>2</sup>, aunque no se apreció una diferencia significativa. La media de crecimiento de los limones que fueron expuestos a 3,196 kJ/m<sup>2</sup> es más baja que el control durante casi todo el chequeo, aunque en el último chequeo, el séptimo día, los de 6,390 kJ/m<sup>2</sup> fueron los que se desarrollaron menos como se puede observar en el Gráfico 6.3.1.

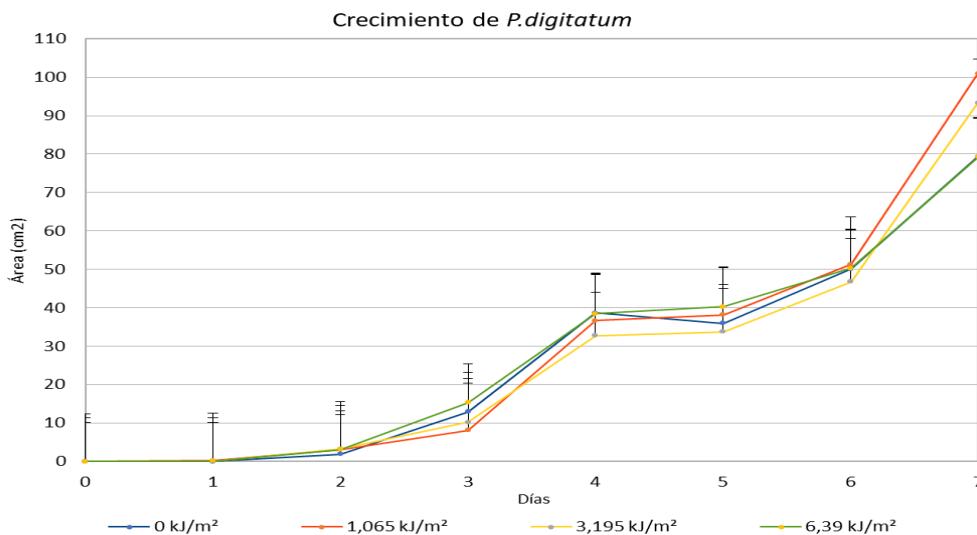


Gráfico 6.3.1- Comparación del crecimiento de *P. digitatum* tras la exposición a diferentes dosis de radiación.

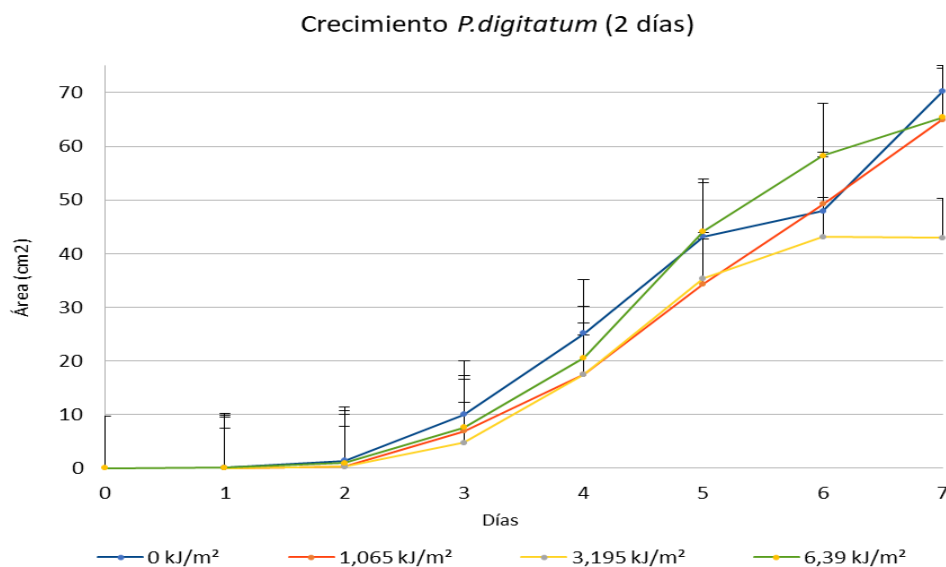


Gráfico 6.3.2- Comparación del crecimiento de *P. digitatum* tras la exposición a diferentes dosis de radiación. (inoculado 2 días después de la irradiación).

En el Gráfico 6.3.2, tenemos la representación del crecimiento del hongo cuando se inoculó a los 2

días de irradiar los limones con la herida realizada con el punzón, se puede ver que hasta el quinto día todos los tratamientos estaban por debajo de la línea de crecimiento del control, incluso en el tratamiento con la dosis de 3,196 kJ/m<sup>2</sup> vemos que el crecimiento en el sexto y séptimo día con nulos, no hay incremento en el crecimiento y se mantiene por debajo del control. Podemos valorar este resultado como un efecto positivo en el control de la podredumbre, pero no debido al efecto germicida que se ha ido exponiendo a lo largo del trabajo, sino que podemos pensar que las radiaciones producen una activación en las defensas del limón, haciendo que el hongo se desarrolle a menor velocidad.

#### 6.4- Resultados y discusión. Cuarto ensayo, análisis de color de cultivo *in vivo*, sin desinfección de los limones, antes y después del tratamiento UV-C

Para el último ensayo se prepararon las bandejas con limones para cada tratamiento (0 kJ/m<sup>2</sup>, 1,065 kJ/m<sup>2</sup>, 3,195 kJ/m<sup>2</sup> y 6,390 kJ/m<sup>2</sup>). En este caso no se lavaron los limones, así que se procedió a la medición del color antes de la exposición y se revisaron día a día. A la semana se volvió a hacer la medición del color con los limones que quedaban. Con los datos de las mediciones, se hizo la media de los datos y se realizaron las siguientes tablas donde se pueden ver las comparaciones de las medias de las mediciones del color según el tratamiento antes del tratamiento (Tabla 6.4.1) y una semana después del tratamiento (Tabla 6.4.2).

Tabla 6.4.1- Comparación de mediciones iniciales de color.

Dosis	L	C	h°	a*	b*
Control	74,64	59,14	93,72	-3,18	59,00
1,065 kJ/m <sup>2</sup>	75,06	59,90	92,87	-3,01	59,76
3,195 kJ/m <sup>2</sup>	74,72	59,27	92,24	-2,35	59,18
6,39 kJ/m <sup>2</sup>	75,33	60,01	92,92	3,03	59,66

Tabla 6.4.2- Comparación de mediciones de color transcurrida una semana.

Dosis	L	c	h°	a*	b*
Control	75,00	60,51	92,62	-2,91	62,42
1,065 kJ/m <sup>2</sup>	74,76	62,59	92,57	-2,60	62,50
3,195 kJ/m <sup>2</sup>	74,54	61,68	91,88	-2,10	61,61
6,39 kJ/m <sup>2</sup>	73,92	62,07	91,58	-1,75	62,02

Observando los resultados obtenidos de la media de los datos del colorímetro podemos decir que en todos los tratamientos se produce un leve cambio de color, valoramos que con el tratamiento de 60 segundos hay mayor variación. Pero al no ser un cambio significativo no podemos asegurar si es debido al tratamiento o puede deberse al deterioro propio del limón tras una semana en la cámara. Esto nos puede llevar a pensar que la radiación no tiene un efecto negativo, considerable, en la calidad y en las propiedades organolépticas del limón.

# **Conclusiones**

## 7- Conclusiones

A la vista de los resultados desarrollados en el apartado anterior podemos llegar a las siguientes conclusiones:

- Para el efecto germicida que tiene la exposición del hongo a luz ultravioleta en su desarrollo, podemos concluir que no hubo un resultado positivo que sea significativo, debido a que, si se obtuvo una desaceleración al inicio del crecimiento, pero sin unos resultados destacables, puesto que, el crecimiento no se detuvo totalmente, siendo los tratamientos con mejores resultados en el ensayo los realizados con dosis de 12,780 kJ/m<sup>2</sup> y 31,950 kJ/m<sup>2</sup>.
- Respecto a la alteración en la germinación de los conidios tras el tratamiento ultravioleta, se pudo ver un ligero efecto en la alteración de la germinación en el primer día tras la radiación con luz UV-C con la dosis 3,195 kJ/m<sup>2</sup>.
- En cuanto al efecto germicida en el tratamiento *in vivo*, no se obtuvieron resultados favorables. Pero sí que se logró un resultado relevante con el tratamiento en el que se realizaba la inoculación dos días después de la irradiación con dosis de 3,196 kJ/m<sup>2</sup>, en el que sí hubo un crecimiento menor del hongo, lo que nos lleva a un resultado positivo en cuanto al efecto de inducción de defensas que la radiación ultravioleta tiene sobre el limón.
- En el caso de las consecuencias que puede tener las radiaciones sobre el color del limón, podemos decir que hubo un cambio en el color, pero muy leve, sobre todo en las exposiciones de menor duración.

Con estas conclusiones de las características llevabas a estudio durante este trabajo podemos definir que el tratamiento de mayor efectividad y con menos consecuencias en el color del fruto fue el tratamiento de dosis de 3,195 kJ/m<sup>2</sup> de irradiación, activando el sistema inmunológico del limón, frenando el desarrollo del hongo al inicio ya que altera la germinación de los conidios en las primeras horas, pero sin alterar en exceso el color del limón, pudiendo ser comercializado.

La conclusión del trabajo es que después de los ensayos en los que se trabajaba con las hipótesis de disminuir el crecimiento del hongo o inducir las defensas del limón frente a un ataque fúngico, la radiación no afecta al hongo lo suficiente como para frenar el crecimiento de *Penicillium digitatum* en limón de forma significativa, ya que la radiación puede afectar a las hifas, pero debido a su fácil ramificación el hongo es capaz de seguir creciendo. Por lo que a partir de los resultados obtenidos la disminución en el crecimiento del hongo es debido a un incremento de las defensas del limón tras la exposición a la luz ultravioleta.

# **Bibliografía**

## 8- Bibliografía

- Boletín Oficial de la Región de Murcia. 1998. Orden de 24 de junio de la Consejería de Medio Ambiente, Agricultura y Agua por la que establecen las normas para la producción integrada de cítricos. BORM 150 de 2 de julio de 1998.
- Chalutz, E., Droby S., Wilson C.L. y Wisniewski M.E. 1992 Control biológico de enfermedades poscosecha: una alternativa prometedora al uso de fungicidas sintéticos. *Phytoparasitica* 20, S149–S153
- Davies, F. S., Albrigo, L. G. 1994. Cítricos. Editorial Acribia, S.A 283 pp.
- Droby, S., Chalutz, E., Horev, B., Cohen, L., Gaba, V., Wilson, CL., & Wisniewski, M. 1993. Factors affecting UV-induced resistance in grapefruit against the green mould decay caused by *Penicillium digitatum*. *Plant pathology*, vol.42, Issue 3, 418-424.
- Eckert, J. W. y Brown, G. E. 1986. Evaluation of postharvest fungicide treatments for citrus fruits. Gunther F.A. (eds) *Residue Reviews*. *Residue Reviews*, vol 97. Springer, New York, NY.
- Eckert J.K y Eaks I.L. 1989. Postharvest disorders and diseases of citrus fruits. *The citrus industry*, volumen V, capítulo 3, 179-260
- Gonzalez, R.; 2013. Aplicación de esencia de canela y clavo como alternativa a los fungicidas de síntesis en el control de las podredumbres del limón. Proyecto Fin de Carrera. Universidad Politécnica de Cartagena. Cartagena.
- Guerrero Beltrán, J.A., y Barbosa Cánovas, G.V. 2004. Review: Advantages and limitations on processing foods by UV light. *Food Science and Technology International*. Vol 10, Issue 3, 137-147.
- Janisiewicz W.J y Korsten L. 2002. Biological control of post-harvest diseases of fruits. *Biological control of postharvest diseases of fruits*, vol.40, 411-441.
- Jay, J. M., Loessner, M. J. y Golden, 2009. D. A. *Microbiología moderna de los alimentos*. 5ª ed. Editorial Acribia S.A.
- Kinay P, Yildiz F, Sen F, Yildiz M, Karacali I. 2005. Integration of pre- and postharvest treatment to minimize *Penicillium* decay of Satsuma mandarins. *Postharvest biology and technology*, vol 37, issue 1, 31-36.
- L. Sánchez-González, M. Vargas, C. González-Martínez, M. Cháfer y A. Chiralt. 2008. Nuevos recubrimientos antimicrobianos para el control poscosecha de la podredumbre azul de los cítricos. VIII congreso SEAE Bullas 2008.
- Mahdavian K., Ghorbanli M. y Manochehri K. 2008. The Effects of Ultraviolet Radiation on the Contents of Chlorophyll, Flavonoid, Anthocyanin and Proline in *Capsicum annuum* L. *Academic journals*, Tubitak, vol 32, 25-33.
- Manzoco, L. Da-Pieve S, Bertolini A, Bartolini I, Maifreni M, Vianello A y Nicoli M. 2011. Surface decontamination of fresh-cut Apple by UV-C light exposure: Effects on structure, color and sensory properties. *Postharvest biology and technology*, vol 61, issue 2-3, 165-171.
- Martínez, M.A y Peper, M. C; 2016. Estudio de la situación actual de la luz UV en la industria alimentaria y de su posible aplicación: marco legal, usos, percepción del consumidor y diseño de una operación unitaria para planta para especias. Universidad Argentina de la empresa. Facultad de ingeniería y ciencias exactas. Argentina.
- Michael E. Wisniewski, Charles L. Wilson. 1992. *Biological Control of Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables: Recent Advances*. *HortScience*, vol. 27, 94-98.
- Noboa Pico, A.L. 2016. Estudio del efecto de la irradiación con rayos gamma en la calidad poscosecha de la pitahaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) entera y cortada. 229 hojas. Quito: EPN.
- Parra, M.A. Martínez, J.A. 2016. Variabilidad fenotípica y patogenicidad de diversos aislados de *Penicillium digitatum* y *P. italicum* obtenidos en frutos de limón (*Citrus limon* (L.) Burm.). 6º Workshop en Investigación Agroalimentaria, 31-34.

Schirra, M.; D'hallewin, G.; Ben-Yehoshua, S.; Fallik, E. 2000. Host-patogen interactions modulated by heat treatment. *Postharvest biology and technology*, vol. 21, issue 1, 71-85.

Stevens C, Khan VA, Wilson CL, Lu JY, Chalutz E, Droby S. 2005. The effect of fruit orientation of postharvest commodities following low dose ultraviolet light-C treatment on host induced resistance to decay. *Crop protection*, vol.24, issue 8, 756-759.

Tuset, J.J. 1987. Podredumbres de los frutos cítricos. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Generalitat Valenciana. España. 33-125.

Vázquez, D. 2012. Tratamientos alternativos a los fungicidas de uso corriente para el control del moho verde. Grupo THM. EEA INTA Concordia, Argentina.

Vázquez, D. 2017. Enfermedades de poscosecha en cítricos y su control. Grupo THM. EEA INTA Concordia, Argentina.

[www.infoagro.es](http://www.infoagro.es) [consulta: 17/04/20]

[www.mapama.gob.es](http://www.mapama.gob.es) [consulta: 14/11/20]

[www.frusemur.com](http://www.frusemur.com) [consulta: 17/04/20]

[www.FAO.org](http://www.FAO.org) [consulta: 14/11/20]

[www.levante-emv.com](http://www.levante-emv.com) [consulta: 10/08/20]

[www.ivace.es](http://www.ivace.es) [consulta: 10/08/20]

[www.fepex.es](http://www.fepex.es) [consulta: 10/08/20]

[www.tecnicoagricola.es](http://www.tecnicoagricola.es) [consulta: 13/09/20]

[www.ailimpo.com/precios-de-mercado](http://www.ailimpo.com/precios-de-mercado) [consulta: 20/10/20]

[www.postharvest.ucdavis.edu](http://www.postharvest.ucdavis.edu) [consulta: 10/08/20]

[www.carm.es](http://www.carm.es) [consulta: 10/08/20]

[www.ailimpo.com](http://www.ailimpo.com) [consulta: 17/11/20]

[www.bioenciclopedia.com](http://www.bioenciclopedia.com) [consulta: 18/11/20]

[www.regmurcia.com](http://www.regmurcia.com) [consulta: 18/11/20]



