



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**“EVALUACIÓN DEL QUITOSÁN SOBRE HONGOS
PATÓGENOS QUE AFECTAN LA VIDA
POSCOSECHA DEL JITOMATE (*Lycopersicum
esculentum Mill*)”**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERA EN ALIMENTOS
P R E S E N T A:

LINDA GISELA ROJAS BENITEZ

ASESOR: DRA. SUSANA PATRICIA MIRANDA CASTRO

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por los conocimientos adquiridos, pertenecer a la máxima casa de estudios es un gran orgullo

Al jurado, por sus comentarios y sugerencias:

Dra. Susana Patricia Miranda Castro

Dra. Clara Inés Álvarez Manrique

IBQ. Leticia Figueroa Villarreal

IA. María Guadalupe López Franco

MC: Carolina Moreno Ramos



AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por todo lo que me diste en los años pasados,
por el amor y las cosas agradables y hermosas,
Gracias por las penas y las alegrías.
Gracias por todo lo que me diste y por todo lo que me pediste.
por la sonrisa de Tu rostro y por la mano amiga que me mantiene fuerte
Gracias por la soledad, por el trabajo, por las inquietudes,
los temores, las dificultades y las lágrimas.
Y por todo lo que me acerca a Ti.
Gracias Señor, por haberme dado amigos y seres queridos.
Estoy dispuesto a seguirte siempre y en cualquier circunstancia
pero Te pido fe para verte en todo y en todos,
esperanza, para que no me consterne,
y caridad para amarte cada día más a Ti y a los demás,
y permitir que seas amado por todos los que me rodean.

A mi Papá por apoyarme incondicionalmente a realizar uno de los más grandes
anhelos de mi vida. Te quiero mucho

A mi Mamá por estar conmigo siempre, gracias por ayudarme en todos los
aspectos, animarme y apapacharme en los momentos más difíciles.

A Yael mi hijo, por tolerar mis ausencias. El tenerte a ti cambió mi vida, eres un
motivo más para seguir adelante. Espero sirva de ejemplo para tu educación.

A Salvador por ser un buen esposo y compañero, siempre estuviste ahí para darme
aliento y gracias por cuidar de nuestro hijo en mi ausencia. Te amo.

A Pedro y Ceci, por su interés y apoyo, espero que siempre estemos unidos. Los
quiero mucho

A todos mis familiares que han estado cerca de mí apoyándome.

A todos los compañeros con los que conviví durante la carrera, gracias por hacer
más llevadero este camino.

De manera especial a la Dra. Susana Patricia Miranda Castro, por su paciencia,
entusiasmo y comprensión.

INDICE DE CONTENIDO

Página

INTRODUCCION	1
RESUMEN	2

1. ANTECEDENTES

1.1 Situación actual del mercado del Jitomate en México.	
1.1.1 Historia	3
1.1.2 Variedades	3
1.1.3 Producción mundial	4
1.1.4 Producción nacional	5
1.1.5 Exportación	6
1.2 Aspectos Morfológicos, químicos y bioquímicos del jitomate	
1.2.1 Taxonomía y morfología del tomate	7
1.2.2 Composición química y valor nutricional del jitomate	9
1.2.3 Cambios fisiológicos y bioquímicos del jitomate	10
1.3 Cosecha del jitomate	
1.3.1 Cosecha	12
1.4 Manejo poscosecha del jitomate	
1.4.1 Operaciones poscosecha	14
1.4.1.1 Recepción	15
1.4.1.2 Muestreo	15
1.4.1.3 Lavado	16
1.4.1.4 Selección	16
1.4.1.5 Clasificación	16
1.4.1.6 Encerado	16
1.4.1.7 Empacado	17
1.4.1.8 Almacenamiento	17
1.4.1.9 Transporte	18
1.5 Comportamiento post – recolección	
1.5.1 Daños físicos	19
1.5.2 Calor	19
1.5.3 Ablandamiento	19
1.5.4 Daños por frío	20
1.5.5 Enfermedades	20
1.5.5.1 Descripción de algunos hongos fitopatógenos causantes de Enfermedades en el jitomate	21
1.5.5.2 Control de las pudriciones poscosecha del jitomate	24
1.6 Aspectos generales del quitosán	
1.6.1 Historia	24
1.6.2 Aplicaciones	26
1.6.3 Quitosán con actividad antifúngica	27
1.6.4 Oligómeros con actividad antifúngica	29

2. OBJETIVOS	30
---------------------	-----------

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.1 Secuencia metodológica	31
3.2 Descripción del cuadro metodológico	32
3.2.1 Objetivo particular 1	32
3.2.1.1 Actividad 1.1 Obtención y selección de frutos enfermos	32

3.2.1.2 Actividad 1.2 Aislamiento y obtención de mohos patógenos a partir de frutos enfermos	32
3.2.1.3 Actividad 1.3 Purificación de cepas mediante resiembras	33
3.2.1.4 Actividad 1.4 Observar las características macroscópicas desarrollo y crecimiento de los mohos en diferentes medios de cultivo	33
3.2.1.5 Actividad 1.5 Identificación de los mohos aislados	33
3.2.1.6 Actividad 1.6 Inoculación por contacto de jitomates sanos para observar las características de la infección provocada.	34
3.2.2 Objetivo particular 2	
3.2.2.1 Actividad 2.1 Caracterización del quitosán. Determinación del peso molecular medio	35
3.2.2.2 Actividad 2.2 Establecer las concentraciones de quitosán	35
3.2.2.3 Actividad 2.2.1 Pruebas “In vitro”. Inoculación de las placas agar/ quitosán	36
3.2.2.4 Actividad 2.3 Obtención y caracterización de oligómeros de quitosán. Determinación del peso molecular medio	36
3.2.2.5 Actividad 2.3.1 Pruebas “In vitro”.Inoculación de las placas agar/ oligómeros de quitosán	37
3.2.3 Objetivo particular 3	
3.2.3.1 Actividad 3.1 Obtención y selección de frutos sanos y libres de daño mecánico	37
3.2.3.2 Actividad 3.2 Aplicación del recubrimiento por inmersión	38
3.2.3.3 Actividad 3.3 Inoculación por contacto de jitomates sanos	38
3.2.3.4 Actividad 3.4 Pruebas “In vivo”. Exposición de jitomates cubiertos, frente a jitomates infectados con los mohos patógenos identificados	38

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Objetivo particular 1	
4.1.1 Actividad 1.1 Obtención y selección de frutos enfermos	39
4.1.2 Actividad 1.2 Aislamiento y obtención de mohos patógenos a partir de frutos enfermos	39
4.1.3. Actividad 1.3. Purificación de cepas mediante resiembras	40
4.1.4 Actividad 1.4 Observar las características macroscópicas, desarrollo y crecimiento de los hongos en diferentes medios de cultivo	41
4.1.5 Actividad 1.5 Identificación de los hongos aislados	
4.1.6 Descripción microscópica de la cepa E-1	49
4.1.7 Actividad 1.6 inoculación por contacto del fruto con el patógeno Identificado como <i>Rhizopus stolonifer</i>	49
4.1.8 Descripción microscópica de la cepa E-3	50
4.1.9 Actividad 1.6 Inoculación por contacto del fruto con el patógeno identificado como <i>Alternaria solani</i>	50
4.1.10 Descripción microscópica de la cepa P-1	51
4.1.11 Actividad 1.6 Inoculación por contacto del fruto con el patógeno identificado como <i>Phytophthora infestans</i>	51
4.1.12 Descripción microscópica de la cepa E-22	52
4.1.13 Actividad 1.6 Inoculación por contacto del fruto con el patógeno identificado como <i>Botrytis cinerea</i>	52
4.1.14 Descripción microscópica de la cepa E-2	53
4.1.15 Actividad 1.6 Inoculación por contacto del fruto con el patógeno identificado como <i>Fusarium culmorum</i>	53
4.2 Objetivo particular 2	
4.2.1 Actividad 2.1 Caracterización del quitosán. Determinación del peso molecular medio.	54
4.2.2 Actividad 2.2.1 Pruebas “In vitro”.Inoculación de las placas agar/ quitosán.	54
4.2.3 Actividad 2.3 Obtención y caracterización de oligómeros de quitosán. Determinación del peso molecular medio.	56
4.2.4 Actividad 2.3.1 Pruebas “In vitro”. Inoculación de las placas agar/ oligómeros de quitosán	57
4.2.4 Placas agar –oligómeros de quitosán comparados con el control	62

4.3 Objetivo particular 3	
4.3.1 Actividad 3.2 Aplicación del recubrimiento por inmersión	65
4.3.2 Actividad 3.3 Inoculación por contacto de jitomates sanos	65
4.3.3 Pruebas “In vivo” actividad 3.3 Exposición de jitomates cubiertos, frente a jitomates infectados con los hongos patógenos identificados.	66
4.3.4 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate infectado con el patógeno <i>Rhizopus stolonifer</i>	66
4.3.5 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate infectado con el patógeno <i>Alternaria solani</i>	68
4.3.6 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate infectado con el patógeno <i>Phytophthora infestans</i>	69
4.3.7 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate infectado con el patógeno <i>Botrytis cinerea</i>	70
4.3.8 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate infectado con el patógeno <i>Fusarium culmorum</i>	71
4.3.9 COMPARACIÓN DEL EFECTO “In Vitro” e “In Vivo”	72
5. CONCLUSIONES	74
6. RECOMENDACIONES	76
ANEXOS	77
7. REFERENCIAS CONSULTADAS	76

ÍNDICE DE TABLAS

Número	Leyenda	Página
1	Composición química del jitomate	9
2	Valor nutricional del jitomate	10
3	Podredumbre por <i>Alternaria</i>	21
4	Podredumbre por <i>Fusarium</i>	21
5	Podredumbre Húmeda	22
6	Podredumbre gris	22
7	Podredumbre agria	23
8	Tizón Tardío	23
9	Antracnosis	23
10	Alimentos a los que se le ha aplicado quitosán	28
11	Características de las cepas obtenidas	39
13	Resumen de cepas purificadas	41
14	Morfología macroscópica de la cepa E-1	43
15	Morfología macroscópica de la cepa E-3	44
16	Morfología macroscópica de la cepa P-1	45
17	Morfología macroscópica de la cepa E-22	46
18	Morfología macroscópica de la cepa E-2	47
19	Crecimiento radial en placas agar – quitosán	54
20	Crecimiento radial en placas agar- oligómeros de quitosán	56
21	Crecimiento radial en placas agar- oligómeros de quitosán	59
22	Pruebas “In vitro” oligómeros de quitosán al 1% comparados Con el control	62
23	Sitio de aplicación del inóculo a jitomates sanos	64
24	<i>Rhizopus stolonifer</i> “In Vivo”	65
25	<i>Alternaria solani</i> “In Vivo”	67
26	<i>Phytophthora infestans</i> “In Vivo”	68
27	<i>Botrytis cinerea</i> “In Vivo”	69
28	<i>Fusarium culmorum</i> “In Vivo”	70
29	Resumen “In vitro e In vivo”	71

INDICE DE FIGURAS

Número	Leyenda	Página
1	Producción nacional de jitomate	5
2	Exportaciones de jitomate	6
3	Fruto del tomate	9
3.1	Operaciones poscosecha	15
4	Estructura de la quitina	25
5	Estructura del quitosano	25
6	Obtención de quitosán	26
6.1	Estructura de la glucosamina	29
7	Cuadro Metodológico	31
7.1	Zonas del fruto	32
7.2.2	Secuencia empleada para la identificación de mohos	34
7.2	Frutos sanos frente a uno contaminado	38
7.3	Cepas en PDA	40
8	Esporangio característico de <i>Rhizopus stolonifer</i>	48
9	Fruto infectado con <i>Rhizopus stolonifer</i>	48
10	Conidios de <i>Alternaria solani</i>	49
11	Fruto infectado <i>Alternaria solani</i>	49
12	Esporangio de <i>Phytophthora infestans</i>	50
13	Fruto infectado <i>Phytophthora infestans</i>	50
14	Estructuras de <i>Botrytis cinerea</i>	51
15	Fruto infectado <i>Botrytis cinerea</i>	51
16	Microconidios de <i>Fusarium culmorum</i>	52
17	Fruto infectado <i>Fusarium culmorum</i>	52
18	Crecimiento de hongos patógenos en placas agar quitosán	58
19	Crecimiento de hongos patógenos en placas agar- oligómeros de quitosán	60
20	Fruto cubierto con oligómeros de quitosán	64
21	Frutos cubiertos con oligómeros de quitosán al 1%	72

INTRODUCCION

El jitomate es la aportación vegetal de México más extendida mundialmente. La aceptación que tiene en las diversas culturas del mundo se evidencia por ser el segundo producto hortícola en el consumo mundial. Es el principal producto hortícola de exportación, ya que representa el 37% del valor total de las exportaciones de legumbres y hortalizas y el 16% del valor total de las exportaciones. El consumo del jitomate es de gran importancia debido a la incorporación de este producto en los hábitos alimenticios de gran parte de la población mundial. Esta hortaliza cobra cada vez un lugar significativo en la dieta humana dada la posibilidad que tiene de utilizarse en forma fresca o procesada industrialmente, acompañando numerosos platos, mejorando la apariencia de los mismos, enriqueciéndolos nutricionalmente por su aporte en vitaminas y minerales (Salgado y Bruzón, 2005).

El jitomate es un producto perecedero que se caracteriza por tener tiempo de vida en anaquel limitado, permanecen vivos después de la cosecha, tienen alto contenido de agua y su deterioro es causado por factores biológicos que dependen de la fisiología, así como por factores patológicos y entomológicos.

Las mayores pérdidas en la producción del jitomate ocurren en la etapa post cosecha, donde el producto es manejado y almacenado en condiciones poco adecuadas que generan severos daños en su calidad provocando alteraciones en su composición química y en su calidad final (Gallegos y Osnaya, 1977). La principal alteración que le afecta es el ataque por hongos patógenos, reduciendo así su vida útil durante su almacenamiento.

En el manejo poscosecha del jitomate existen operaciones especiales como la combinación de cera- fungicida; para ofrecer al consumidor una apariencia brillante característica del jitomate y prolongar su vida útil. Sin embargo la adición de fungicidas es perjudicial para el hombre y el medio ambiente debido a su toxicidad. Por ello en el presente trabajo se plantea una alternativa; aplicar un recubrimiento de quitosán al jitomate y evaluar la actividad antifúngica sobre los principales hongos patógenos que afectan la vida útil del jitomate. Este compuesto natural es biodegradable, no tóxico (Larez, 2003). Teniendo como antecedente la aplicación de películas de quitosán en varios productos hortifrutícolas para inhibir el crecimiento de hongos, obteniendo como resultado la inhibición de los patógenos y sobre todo no afectando las características químicas y fisiológicas de los productos (Cheah, 1997; Fornes, 2004; Ponnachanna, 2003).

RESUMEN

El Objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antifúngica del quitosán y oligómeros de quitosán "*In vitro*" e "*In vivo*", en el control de hongos patógenos que afectan la vida poscosecha del jitomate.

Se trabajó con el jitomate, ya que es el principal producto hortícola de exportación, que se caracteriza por tener tiempo de vida en anaquel limitado. Por lo que se propuso evaluar la actividad antifúngica del quitosán y oligómeros de quitosán, los cuales han demostrado inhibir el crecimiento de los hongos fitopatógenos que atacan a frutos y hortalizas.

Inicialmente se realizó el aislamiento, purificación e identificación de cepas patógenas, provenientes de jitomates enfermos, obteniendo cepas identificadas como *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium culmorum*; posteriormente se realizaron pruebas "*In vitro*" en placas agar–quitosán a las concentraciones de (0.5% ,1% 1.5%) observándose la actividad fungicida al 100% en sólo dos cepas: *Fusarium culmorum* y *Phytophthora infestans* mientras que en las tres cepas restantes el crecimiento radial era total sobre la placa.

Posteriormente se evaluó la actividad antifúngica de los oligómeros de quitosán los cuales, fueron obtenidos a partir de la hidrólisis del quitosán en condiciones de radiación por microondas (Ronge y Song, 2005). Se trabajó a concentraciones de 0.1%, 0.3% y 0.5% registrándose un crecimiento radial menor en las cinco cepas identificadas en un período de tiempo de 12 días. Por lo que se aumentó aún más la concentración de los oligómeros a 0.8% y 1%, observándose a la concentración de 1% un mayor efecto fungicida en los mohos *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans* y *Fusarium culmorum*, mientras que en los hongos *Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinerea* se registró un efecto fungistático.

Finalmente se realizaron las pruebas "*In vivo*" en donde no se obtuvieron los mismos resultados que en las pruebas "*In vitro*"; en donde se observó que los hongos *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans* y *Botrytis cinerea* fueron totalmente inhibidos en un período de 12 días. Los oligómeros de quitosán demostraron poseer una mayor actividad antifúngica que el quitosán.

1. ANTECEDENTES

1.1 SITUACION ACTUAL DEL MERCADO DEL JITOMATE EN MEXICO.

1.1.1 HISTORIA

El jitomate (del náhuatl *xitli*, "ombligo" y *tomatl*, "tomate") es la aportación vegetal de México más extendida mundialmente. La aceptación que tiene en las diversas culturas del mundo se evidencia por ser el segundo producto hortícola en el consumo mundial. Es un importante generador de divisas y generador de empleos para el país. El jitomate o tomate rojo es originario de América del Sur, aunque se considera a México como centro de su domesticación. Con la llegada de los españoles se expandió al viejo continente y de ahí a todo el mundo; con su comercialización y difusión lograda, actualmente forma parte de la dieta alimenticia de varias culturas en el globo terráqueo (Trevor, 2002).

En México, como en otras partes del mundo, preferimos consumir el jitomate fresco, pero también es utilizado como producto industrializado para elaborar pastas, salsas, purés, jugos, etc., gracias a los avances tecnológicos para su procesamiento y a las modificaciones en los gustos y costumbres de las nuevas generaciones, lo que exige calidad en cuanto a su distribución y venta en fresco, determinando y condicionando nichos de mercado (Información oportuna de Mercados, 2002).

1.1.2 VARIEDADES EN MÉXICO

La variedad *cerasiforme*, es conocida vulgarmente con el nombre de Tomate Cereza, por su pequeño tamaño y diversidad de colores, que van desde el rojo al amarillo. Generalmente, el interior está dividido en dos únicas cavidades. La planta en conjunto no alcanza un gran desarrollo, destacando también el pequeño tamaño de las hojas. Esta variedad está considerada como la más primitiva de la especie, de la cual han derivado todas las demás.

En la variedad *vulgare*, los jitomates pueden alcanzar gran tamaño, los jitomates son lisos, con numerosas cavidades en el interior. Las hojas y tallos son grandes y de color verde intenso. Bajo la variedad *pyriforme*, los jitomates tienen forma de pera, y normalmente solo poseen dos cavidades en el interior. El porte de la planta es de tamaño medio (Secretaría de economía, 2001).

1.1.3 PRODUCCION MUNDIAL

En los últimos años, la producción mundial se ha mantenido estable, con un nivel promedio anual de 86 millones de toneladas. Según datos de la FAO de la ONU, los principales productores de tomate son China, Estados Unidos, Turquía, Italia, Egipto e India, países que conjuntamente han producido durante los últimos 10 años el 70% de la producción mundial. A nivel continental, según los reportes de FAO, Asia participa con poco más del 50%, seguida de América con 20%, Europa 15% y el resto proviene de Oceanía y África (Información oportuna de Mercados, 2002).

Durante el periodo analizado (últimos 10 años), China ha sido el principal productor mundial de jitomate en el mundo al promediar 15 millones de toneladas anuales (17% del total mundial), seguida de los Estados Unidos de América con 11 millones de toneladas (12 % del total mundial) .Turquía produce anualmente cerca de 7 millones de toneladas (8% del total mundial), Italia y Egipto participan en promedio cada uno con 6 millones de toneladas anuales (7% del total mundial), y finalmente la India quien posee la mayor superficie destinada al cultivo del jitomate, debido a sus bajos rendimientos, apenas produce 5 millones de toneladas (6% del total mundial) (Información oportuna de Mercados, 2002).

1.1.4 PRODUCCIÓN NACIONAL

En la figura 1 se muestra la producción nacional de jitomate según cifras del Servicio de Información Estadística Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), la producción total mexicana de jitomate durante los últimos diez años (1991-2000) fue de 19 millones de toneladas, concentrándose el 70% de la producción en los estados de Sinaloa (39.9%), Baja California (14.7%), San Luis Potosí (7.9%) y Michoacán (6.7%).

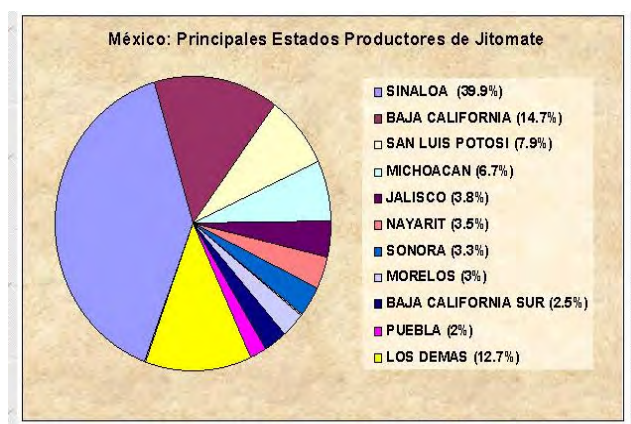


Figura Nº 1 Producción nacional de jitomate
Fuente: Información oportuna de Mercados. (2002)

Las áreas de siembra dedicadas al cultivo del jitomate representan porcentajes importantes en los diversos estados productores de hortalizas. Sinaloa, estado productor de hortalizas por excelencia, actualmente dedica una superficie de 30 mil hectáreas aproximadamente para este cultivo. Aún cuando ha existido una disminución del 36.7% en la superficie sembrada durante los últimos 10 años, se ha compensado con los elevados rendimientos que en la actualidad se obtienen por hectárea (32.6% en el 2000, muy superior al 29.6% obtenido en 1991).

El destino de la producción sinaloense de jitomate se orienta tanto al mercado nacional como al internacional, dependiendo de las condiciones prevalecientes al momento de la cosecha. (Información oportuna de Mercados, 2002).

1.1.5 EXPORTACIÓN

México ocupa el tercer lugar a nivel mundial como país exportador de jitomate, con volúmenes cercanos a las 600 mil toneladas anuales como se observa en la figura 2, la mayoría con destino a nuestro mercado natural: los Estados Unidos de América.

Sin embargo, las exportaciones han sido limitadas a causa de la corta vida útil del producto durante su almacenamiento. Sinaloa es el mayor exportador estacional de jitomate, debido a que los productores otorgan prioridad a la exportación programando sus lotes y cortes, de tal modo que mantienen el mayor tiempo posible de la temporada, sus expectativas en la colocación de cantidades elevadas del producto cuando se incrementa el precio por breves periodos, aumentando sus exportaciones cuando los precios de frontera son altos, disminuyendo el suministro al mercado nacional, táctica posible gracias al tipo de semillas de origen israelí, con las que actualmente el jitomate se produce y del riego por goteo, así como el uso de la plasticultura, pasando en algunos casos a la producción en invernaderos y de la producción mediante hidroponía exclusivamente para nichos de mercado muy especializados (Información oportuna de Mercados, 2002).

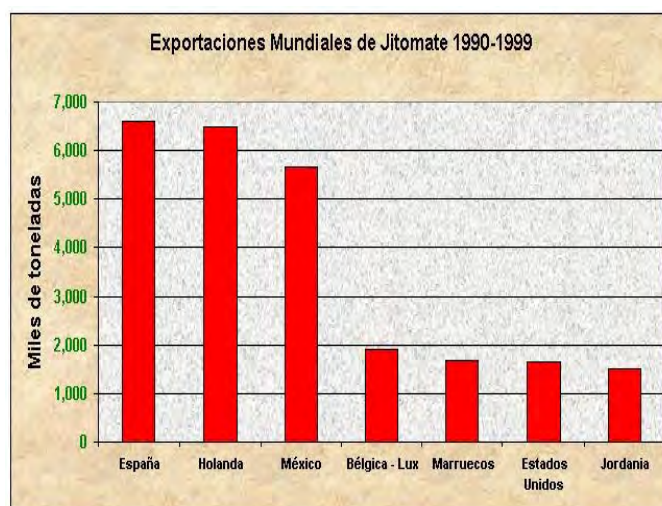


Figura N° 2. Exportaciones Mundiales de jitomate
Fuente: Información oportuna de Mercados. (2002)

1.2 ASPECTOS MORFÓLOGICOS, QUÍMICOS Y BIOQUÍMICOS DEL JITOMATE

1.2.1 TAXONOMÍA Y MORFOLOGÍA

-Familia: Solanaceae.

-Especie: *Lycopersicon esculentum* Mill.

-Planta: perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta. Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) y otras de crecimiento ilimitado (indeterminadas).

-Sistema radicular: raíz principal (corta y débil), raíces secundarias (numerosas y potentes) y raíces adventicias. Seccionando transversalmente la raíz principal y de fuera hacia dentro encontramos: epidermis, donde se ubican los pelos absorbentes especializados en tomar agua y nutrientes, cortex y cilindro central, donde se sitúa el xilema (Murillo, 1989).

-Tallo principal: eje con un grosor que oscila entre 2-4 cm en su base, sobre el que se van desarrollando hojas, tallos secundarios (ramificación simpoidal) e inflorescencias. Su estructura, de fuera hacia dentro, consta de: epidermis, de la que parten hacia el exterior los pelos glandulares, corteza o cortex, cuyas células más externas son fotosintéticas y las más internas son colenquimáticas, cilindro vascular y tejido medular. En la parte distal se encuentra el meristemo apical, donde se inician los nuevos primordios foliares y florales.

-Hoja: compuesta e imparipinada, con foliolos peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alternativa sobre el tallo. El mesófilo o tejido parenquimático está recubierto por una epidermis superior e inferior, ambas sin cloroplastos.

La epidermis inferior presenta un alto número de estomas. Dentro del parénquima, la zona superior o zona en empalizada, es rica en cloroplastos.

Los haces vasculares son prominentes, sobre todo en el envés, y constan de un nervio principal (Murillo ,1989).

-Flor: es perfecta, regular e hipogina y consta de 5 o más sépalos, de igual número de pétalos de color amarillo y dispuestos de forma helicoidal a intervalos de 135°, de igual número de estambres soldados que se alternan con los pétalos y forman un cono estaminal que envuelve al gineceo, y de un ovario bi o plurilocular.

Las flores se agrupan en inflorescencias de tipo racemoso (dicasio), generalmente en número de 3 a 10 en variedades comerciales de tomate calibre M y G; es frecuente que el eje principal de la inflorescencia se ramifique por debajo de la primera flor formada dando lugar a una inflorescencia compuesta, de forma que se han descrito algunas con más de 300 flores.

La primera flor se forma en la yema apical y las demás se disponen lateralmente por debajo de la primera, alrededor del eje principal. La flor se une al eje floral por medio de un pedicelo articulado que contiene la zona de abscisión, que se distingue por un engrosamiento con un pequeño surco originado por una reducción del espesor del cortex. Las inflorescencias se desarrollan, cada 2-3 hojas en las axilas (Murillo ,1989).

-Fruto: baya bi o plurilocular que puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos. Está constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas. El fruto puede recolectarse separándolo por la zona de abscisión del pedicelo, como ocurre en las variedades industriales, en las que es indeseable la presencia de parte del pecíolo, o bien puede separarse por la zona peduncular de unión al fruto.

El fruto del jitomate (figura 3) es una baya, integrada por semillas, lóculos donde se alojan las semillas y rellenos de una sustancia gelatinosa conocida como placenta, la parte carnosa y la cubierta, Los lóculos pueden estar desordenados u ordenados. La coloración de los frutos se debe a los pigmentos carotenoides en la carne del fruto, de los cuales los más abundantes son el licopeno o licopersicina, que es el responsable de la coloración roja, y, el beta caroteno o carotina que da el color anaranjado, el primero es 13 veces más abundante que el segundo(Murillo, 1989).



Figura N° 3 Fruto del jitomate
Fuente: Salgado y Bruzón (2005).

1.2.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL

En la tabla 1 se muestra la composición química del jitomate, en donde se observa un alto contenido de agua, fuente de carbohidratos y un bajo contenido de lípidos y proteínas (Morevas y Carbajal 1995).

Tabla N° 1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL JITOMATE

Componente	Por 100g de porción comestible
Agua	94.2g
Proteína	1g
Lípidos	0.3g
Hidratos de carbono	3g
Fibra	1.5g

Fuente: Morevas y Carbajal (1995).

Los principales aportes nutritivos que proporciona el jitomate son vitamínicos, en concreto de vitaminas A y C (tabla 2). Tiene propiedades depurativas y ligeramente laxantes. Así mismo, posee virtudes profilácticas frente a trastornos vitamínicos, ayuda al tratamiento de enfermedades de la dentición, anemias, y baja resistencia a las infecciones (Infomorelos, 2001).

Tabla Nº 2 VALOR NUTRICIONAL DEL JITOMATE

Componente	Por 100g de porción comestible
Energía	18 Kcal
Vitamina A	1 700 UI
Vitamina C	21 mg
Vitamina B1	0.1 mg
Vitamina B	0.02 mg
Ca	11mg
Mg	10mg
K	290mg
Fósforo	27 mg

Fuente: (Infomorelos, 2001).

1.2.3 CAMBIOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DEL JITOMATE

En general cuando una fruta o legumbre se separa de la planta, no recibe más agua ni nutrientes la fotosíntesis cesa. Sin embargo. Prosigue la respiración del tejido que consiste en la oxidación de los hidratos de carbono; por tanto, origina una pérdida de materia seca. Consume oxígeno y, por eso, en ese aspecto, es importante que las frutas y legumbres almacenadas tengan oxígeno a su disposición, debido que la anaerobiosis presupone la formación de etanol tóxico para los tejidos, que resultan desagradables desde el punto de vista gustativo. La respiración desprende anhídrido carbónico, produce agua, mantiene la transpiración de los tejidos y también desprende calor, que conviene eliminar, pues un aumento de temperatura aceleraría el desarrollo de microorganismos (Cheftel, 1986).

La vida de las frutas y hortalizas se divide en tres etapas fisiológicas fundamentales subsiguientes a la germinación: el crecimiento, la maduración y la senescencia (Gómez, 2000). El crecimiento implica la división celular y el subsiguiente desarrollo de las células que dan cuenta del tamaño final alcanzado por el producto. La maduración fisiológica suele iniciarse antes de que termine el crecimiento e incluye diferentes actividades en los distintos productos. Al crecimiento y la madurez fisiológica suele hacerse referencia conjunta hablando del desarrollo.

La senescencia se define como una fase en que los procesos bioquímicos anabólicos (sintéticos) dan paso a los catabólicos (degradativos) conduciendo al envejecimiento y finalmente a la muerte tisular (Wills y Lee, 1977).

El proceso de maduración en el caso particular del jitomate está muy relacionado con su actividad de respiratoria que de acuerdo al patrón de respiración se incluye en lo que se denomina un fruto climatérico, es decir que después de cosecharse en estado de madurez fisiológico presenta un rápido aumento de su velocidad de respiración hasta llegar a un máximo, el cual coincide con una serie de cambios bioquímicos (Ponce y Rosas, 1992):

- ✓ Aumento en el contenido de licopeno, por lo tanto la disminución de la clorofila. La maduración conlleva el aumento del contenido de licopeno, el pigmento responsable del color rojo, que no es significativo nutricionalmente, y la degradación de clorofila (Namesny 1999).
- ✓ Pérdida de firmeza. La firmeza disminuye considerablemente debido a los cambios en la coloración y a la actividad de la enzima responsable del ablandamiento (Namesny, 1999).
- ✓ Aumento del sabor. Fructosa y ácido cítrico son los compuestos más importantes en el control del sabor, los mejores frutos tienen un elevado contenido de ambos (Namesny, 1999).

- ✓ Estabilización del pH. Respecto a los ácidos orgánicos, su contenido aumenta a lo largo del ciclo del crecimiento y también se usan como sustratos para la respiración durante la maduración. El pH de los jitomates depende del contenido de ácidos orgánicos y de potasio. Los principales ácidos en este fruto son el ácido cítrico, seguido del málico (Namesny, 1999).
- ✓ Aumento en la producción de etileno. Los jitomates son sensibles al etileno presente en el ambiente y la exposición de los frutos Verde Maduro a este gas inicia su maduración. Los jitomates madurando producen etileno a una tasa moderada por lo que no deben almacenarse o transportarse con productos sensibles al etileno como las lechugas y los pepinos (Trevor, 2002).

Es necesario que estos cambios se completen para que el jitomate llegue al máximo de calidad que lo haga apto para su consumo, esto sólo se obtiene si se cosechan en un estado de madurez apropiado (Ponce y Rosas, 1992).

1.3 COSECHA DEL JITOMATE

1.3.1 COSECHA

La cosecha se realiza cuando los frutos están fisiológicamente maduros, etapa en la que se ha alcanzado ya el tamaño definitivo. Los frutos deben recolectarse en forma manual, cuando las plantas estén libres de humedad del rocío o de la lluvia. El jitomate se separa de la planta mediante un giro o torsión dándole una media vuelta con respecto al tallo, evitando raspaduras o daños y el llenado excesivo de las cajas o canastos empleados durante su recolección (Gallegos y Osnaya, 1997).

El estado de madurez en que se cosechan los frutos del jitomate depende del destino (consumo fresco o industrial) y de la distancia a que se tenga que transportar. A continuación se describen los grados de madurez (Murillo, 1989):

- a) Verde hecho: El fruto ha alcanzado su máximo desarrollo, pero toda la superficie presenta una coloración verde, el que puede variar del verde claro al verde oscuro, en este estado de madurez el contenido de clorofila es de aproximadamente 20 microgramos por gramo, 2.8 microgramos por gramo de contenido de beta-caroteno y 1.3 microgramos por gramo de licopeno. El desprendimiento de dióxido de carbono (medida del ritmo respiratorio) es de aproximadamente 21 miligramos por kilogramo por hora, el etileno es de sólo 1.5 microlitros por kilogramo por hora, con un pH de 4.4; la actividad de la enzima poligalacturonidasa (responsable del ablandamiento de los frutos) es nula, los sólidos solubles son de 4.8%.
- b) Pintón. Existe un incremento en el contenido de licopeno y beta-caroteno y una disminución del contenido de clorofila en los frutos, lo que trae como consecuencia un cambio de color. Pero solo en el ápice del fruto y no rebasando un 10% en el cambio de color de verde a amarillo, rosa o rojo.
- c) Rayado. El contenido de clorofila sigue disminuyendo y el licopeno se incrementa considerablemente (en mayor proporción que el beta-caroteno. La coloración amarilla a rosa o roja se manifiesta en el lado del ápice en un porcentaje del 10 al 30% (Murillo, 1989).
- d) Rosado. El estado de madurez rosado se caracteriza porque una superficie del 30 al 60% del fruto ha tomado la coloración rosa roja.
- e) Rojo brillante o rojo claro. La superficie del fruto muestra una coloración roja o rosa-rojo en un porcentaje de 60% hasta 90%.

- f) Rojo o maduro. Se considera un fruto de tomate maduro cuando más del 90% de la superficie del fruto ha tomado una coloración rojo intenso, en este estado de madurez el contenido de licopeno se ha incrementado considerablemente alcanzando 200 microgramos por cada gramo, la clorofila ha desaparecido en su totalidad.

El ritmo respiratorio alcanza su máximo en el estado rosado (40 miligramos por Kilogramo por hora) para descender y alcanzar la maduración completa una cantidad de 28.5 miligramos por Kilogramo por hora, la generación de etileno por el fruto alcanza por el fruto alcanza su máximo a la madurez completa alcanzando 6.8 microlitros por kilogramo por hora; a la madurez completa el pH alcanza su máximo de 4.5. La firmeza ha disminuido considerablemente y la actividad de la enzima responsable del ablandamiento alcanza su máxima actividad (Murillo, 1989).

Para consumo fresco de exportación y consumo nacional a grandes distancias, es recomendable cosechar los frutos verde hecho; para consumo nacional a distancias medianas, el fruto debe cosecharse en pintón o rayado; para consumo regional o local el fruto se cosecha en rosado y maduro mientras que para consumo Industrial el fruto se cosecha exclusivamente en rojo maduro (Murillo B. J 1989).

1.4 MANEJO POSCOSECHA DEL JITOMATE

1.4.1 OPERACIONES POSCOSECHA.

En el término poscosecha quedan implícitas todas las actividades que se realizan para el traslado de los productos del campo al consumidor (Gallegos y Osnaya. 1997).

En la figura 3.1 se muestran las diversas operaciones a la que es sometido el jitomate una vez que llega al centro de acopio.

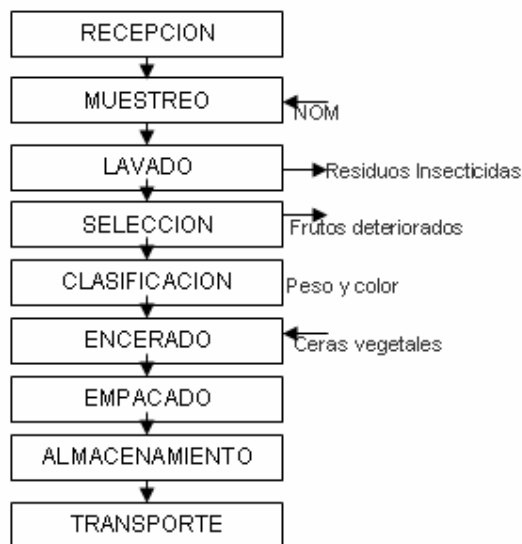


Figura N° 3.1
Operaciones poscosecha
del jitomate

A continuación se describe cada una de las operaciones poscosecha:

1.4.1.1 Recepción

El jitomate que llega a la empacadora puede descargarse manual o mecánicamente a los tanques de lavado o máquinas lavadoras. El fruto puede llegar en cajas de campo o en cajones a granel. Existen equipos que descargan, acarrear, rotan e inclinan las cajas, efectuando así el vaciado de la fruta en los tanques (Ponce y Rosas, 1992).

1.4.1.2 Muestreo

Se debe aplicar un muestreo de común acuerdo entre el proveedor y el comprador, recomendando el empleo de uno de los sistemas de muestreo contemplados en las normas. Se basa en la toma de una muestra representativa para la determinación de la calidad de la carga (Ponce y Rosas, 1992).

1.4.1.3 Lavado

Tiene la finalidad de remover suciedad, polvo, insectos y residuos de aspersiones diversas tales como insecticidas, plaguicidas y antibióticos. En el lavado se adiciona algún compuesto desinfectante (Ponce y Rosas, 1992).

1.4.1.4 Selección

Los jitomates salen de la máquina lavadora y pasan a una banda transportadora en donde se realiza la selección del fruto. Se descartan los frutos que presentan deterioro o daño mecánico (Ponce y Rosas, 1992).

1.4.1.5 Clasificación

Se determina en base al diámetro ecuatorial, peso del fruto y por color. La clasificación se realiza de forma manual o mecánica. La clasificación es de fundamental importancia cuando se pretende exportar, ya que debe satisfacer las exigencias de los diversos mercados de consumo a los cuales es destinado (Ponce y Rosas, 1992).

1.4.1.6 Encerado

El jitomate tiene una película protectora formada por ceras naturales, que permiten que el agua se pierda lentamente y provoque su marchitamiento, sin embargo cuando el jitomate es sometido a las operaciones de limpieza esta película protectora se pierde, haciendo al fruto más susceptible a alteraciones durante su almacenamiento (Gallegos y Osnaya, 1997).

El encerado es una operación especial para reducir la marchites, el arrugamiento y para mejorar la apariencia ya que dan lustre a la superficie. Los materiales usados incluyen compuestos a base de petróleo, pero principalmente se usan aceites y ceras vegetales en diversas combinaciones.

Los principales propósitos en la aplicación de ceras es la disminución de la velocidad de difusión de vapor de agua por transpiración desde el interior del fruto hacia el medio que lo rodea, con esto se logra reducir la pérdida fisiológica de peso (PFP) de los productos encerados; además de servir como vehículo para incorporar otros agentes químicos con diversos propósitos como fungicidas y abrillantadores (Ponce y Rosas, 1992).

1.4.1.7 Empacado

Tiene como finalidad proteger al producto durante el transporte, puede ser efectuado manual o mecánicamente según el destino final del producto. Puede ser en cajas de cartón o madera (Ponce y Rosas, 1992).

1.4.1.8 Almacenamiento

La razón principal del almacenamiento es prolongar la vida útil del jitomate. Las temperaturas de almacenamiento deben estar función de su grado de madurez. La humedad relativa debe ser del 90%.

- Jitomates verde maduro : 12 a 15 °C
- Jitomates Rosados : 10 a 12 °C
- Jitomates maduros : 7 a 10 °C por 3 a 5 días

Los Jitomates verde maduro pueden almacenarse a 12.5°C por 14 días antes de madurarlos sin reducción significativa de su calidad sensorial y desarrollo de color. Pueden desarrollarse pudriciones si se les almacena más de dos semanas a esta temperatura. Después de alcanzar el estado Maduro, la vida de anaquel es generalmente de 8 a 10 días si se aplica una temperatura dentro del intervalo recomendado. Durante la distribución comercial es posible encontrar que se aplican temperaturas de tránsito o de almacenamiento de corto plazo inferiores a lo recomendado, pero es muy probable que ocurra daño por frío después de algunos días (Trevor ,2002).

Se ha demostrado que se puede extender la vida de almacenamiento del jitomate con la aplicación de atmósfera controlada ya que ofrece un beneficio moderado. Las bajas concentraciones de O₂ (3-5%) retrasan la maduración y el desarrollo de pudriciones en la cicatriz del pedúnculo y en la superficie sin afectar severamente la calidad sensorial para la mayoría de los consumidores. Se han reportado hasta 7 semanas como período de almacenamiento usando una combinación de 4% O₂, 2% CO₂ y 5% CO. Más comúnmente se han utilizado 3% O₂ y 0-3% CO₂ para mantener una calidad aceptable hasta por 6 semanas antes de la maduración. La mayoría de los cultivares no toleran elevadas concentraciones de CO₂ (superiores al 3-5 %); estas condiciones producen daño. Las concentraciones muy bajas de O₂ (1%) provocan sabores desagradables, olores objetables y otras anomalías como pardeamiento interno (Trevor ,2002).

1.4.1.9 Transporte

Cuando se trata de distancias cortas el transporte se realiza en vehículos de redilas, si es a largas distancias debe ser en vehículos ventilados o vehículos refrigerados; en ambos casos el producto debe ser protegido de daños mecánicos, y evitar que se deteriore por calor para que el producto llegue en condiciones ideales al mercado de consumo (Ponce y Rosas, 1992).

1.5 COMPORTAMIENTO POST- RECOLECCIÓN

Los principales fenómenos que afectan la vida posrecolección de los jitomates son los siguientes (Namesny, 1999):

- Daños físicos
- Calor
- Ablandamiento
- Daños por frío (Chilling Injury)
- Enfermedades
- Cambios en la composición
- Efectos del etileno

1.5.1 Daños físicos

Los daños físicos y la sobre maduración son los principales factores de la pérdida de calidad de los jitomates en posrecolección. Los jitomates tienen una relativa resistencia a los daños por vibración, es decir soportan algo mejor los roces que otros productos. Sin embargo resulta algo sensible a daños por impacto (golpes) y por compresión. Estos últimos provocan deformaciones en el fruto “tomates cuadrados” lo cual evidencia que han estado presionados. Las heridas inducen la producción de etileno por parte del fruto al igual que infecciones fúngicas (Namesny, 1999).

1.5.2 Calor

Los jitomates que han estado sometidos durante determinados períodos a temperaturas altas pueden mostrar posteriormente fallos al madurar en forma normal y en adquirir coloración típica. De ahí la importancia de que el producto se mantenga a la sombra una vez recolectado y aún en campo que se le preenfrié para bajar su temperatura a menos de 25 °C (Namesny, 1999).

1.5.3 Ablandamiento

La firmeza de la pulpa de los jitomates se reduce luego de la recolección. En este fenómeno interviene la pérdida de agua así como cambios composicionales en la laminilla media de las células. La principal zona por donde pierden agua los jitomates es la cicatriz calicina. La pérdida de agua no debe superar el 7% de l peso para que la calidad no se vea afectada. Este proceso esta asociado al aumento de las enzimas pectinesterasa y poligalacturonasa que ocurre durante la maduración; por ejemplo, los frutos en estado verde-maduro carecen de galacturonasa (Namesny, 1999).

También las infecciones de patógenos pueden favorecer esta síntesis de estas enzimas por parte del fruto en el caso de *Rhizopus*, se ha demostrado que el ablandamiento que es uno de los síntomas de la enfermedad, es provocado tanto por la enzima galacturonasa producida por el propio patógeno. El hongo es capaz de inducir la síntesis de esta enzima sólo en frutos en estado de madurez más avanzado (Namesny, 1999).

1.5.4 Daños por frío (Chilling Injury)

Ocurren en el jitomate cuando se expone a temperaturas inferiores a 10°C si se les mantiene en estas condiciones por 2 semanas o a 5°C por un período mayor a los 6-8 días se manifiesta por la aparición de un punteado sobre la superficie (“pitting”), picado (depresiones en la superficie), pardeamiento de las semillas y alta incidencia a la podredumbre por *Alternaria* y *Botrytis*, especialmente el primero, y fallos en la maduración. En los jitomates maduros se desarrollan áreas con apariencia de embebidas en agua, ablandamiento y podredumbres, mientras que en los tomates maduros el color no llega a desarrollarse completamente. El daño por frío es acumulativo y puede iniciarse en el campo antes de la cosecha (Namesny, 1999; Trevor, 2002).

1.5.5 Enfermedades.

El jitomate es una de las hortalizas que más plagas y enfermedades patológicas presenta, Infecciones causadas por hongos que se presentan en el campo y posteriormente aparecen en la recolección debido a daños mecánicos ya que los frutos presentan piel rota o adelgazada y esto facilita el ataque por patógenos. Los síntomas que producen los hongos en sus hospedantes producen una necrosis local o general; el patógeno desarrolla sus estructuras, sobre la superficie del hospedante (Namesny, 1999).

1.5.5.1 Descripción de algunos fitopatógenos causantes de enfermedades en el jitomate.


Las tablas 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 presentan las podredumbres más comunes en la vida postcosecha del jitomate:

Tabla N° 3 PODREDUMBRE POR *Alternaria*

Podredumbre por <i>Alternaria</i>, Tizón temprano		
Agente causal <i>A. solani</i>		
Desarrollo de la enfermedad	Zona de infección	
	<p>Se presenta en frutos debilitados por condiciones climatológicas (bajas temperaturas) o ataque por plagas. Los frutos maduros son más susceptibles, penetrando el patógeno a través de rajaduras de la piel.</p> <p>Control: Irradiación con dosis de 3 kGy. Se debe apartar cuidadosamente a los frutos afectados y mantener las instalaciones limpias. Temperaturas entre 26 y 28 ° C junto con humedades relativas altas favorecen el desarrollo del hongo.</p>	<p>Las zonas donde aparecen frecuentemente las infecciones de <i>Alternaria</i> son el extremo peduncular, seguido de los hombros del fruto. Sus síntomas son manchas redondeadas donde el tejido se mantiene firme, de color oscuro y superficie ligeramente deprimida.</p>
	Características microscópicas del patógeno	
<p>Familia-forma de las DEMACIACEAS Ataca a las solanáceas. Los conidios son bastante grandes, pluricelulares, típicamente son septos transversales y longitudinales. Los conidios se forman de manera blástica y suelen estar dispuestos de forma acrópeta en cadenas, pero con frecuencia se forman en solitario. <i>Alternaria</i> es un género grande.</p>		

Fuente: Alexopoulos J. C.1985; Namesny A., 1999

Tabla N° 4 PODREDUMBRE POR *Fusarium*

PODREDUMBRE POR <i>Fusarium</i>		
Agente causal <i>F. oxysporum</i> , <i>F. Lycopersiei</i> , <i>F. culmorum</i> y <i>F. solani</i>		
Desarrollo de la enfermedad	Zona de infección	
	<p>Varias especies del género <i>Fusarium</i> pueden afectar los frutos. Las infecciones se producen por heridas que entran en contacto con partículas del suelo, donde se encuentra el inóculo del hongo. En la tía deben descartarse todos los frutos con heridas para evitar la aparición de esta enfermedad en el almacenamiento.</p> <p>Control: Aplicación de Tiabendazol</p>	<p>Los síntomas que presenta son: Tejidos blandos, hundidos, arrugados. Sobre la superficie se encuentra un micelio que es incoloro al principio, pero adquiere un color blanco, cremoso, o rosado según la especie atacante de <i>Fusarium</i>. Los tejidos internos también se ven afectados.</p>
	Características del patógeno	
<p>PHYLUM: Ascomycota CLASE: Euascomycetes ORDEN: Hypocreales FAMILIA: TUBERCULARIACEAS. Producen dos tipos de conidios que reciben la denominación de macroconidios y microconidios. Los macroconidios son estructuras largas, multiseptadas, constituidos de 3 a 5 células en forma de media luna o de canoa, por lo general se producen en grupos; mientras que los microconidios suelen ser unicelulares y de forma esférica son las esporas que el hongo produce con mayor frecuencia y en mayor abundancia en todas las condiciones.</p>		

Fuente: Agrios G. 1987; Alexopoulos J. C.1985 y Namesny A. 1999

Tabla Nº 5 PODREDUMBRE HÚMEDA

PODREDUMBRE HÚMEDA Agente causal <i>Rhizopus stolonifer</i>		
	Desarrollo de la enfermedad En el campo se presenta de forma esporádica y comúnmente en el momento de la recolección, las lesiones son tan incipientes que no se observan al efectuar la selección. Las esporas se encuentran en la tierra, paredes de los envases. La penetración del hongo se produce únicamente a través de heridas, siendo las piezas maduras las afectadas. Las temperaturas óptimas para la reproducción del hongo son 23 a 26 °C, mientras que a temperaturas inferiores a 12 °C queda prácticamente detenido. Control: Pulverizaciones con el fungicida dicloran	Zona de infección Las piezas muestran manchas pardas, el tejido de la superficie se ablanda y la epidemis se resquebraja, exudando líquido. Los tejidos interiores se mantienen firmes, al romperse la epidemis se detecta un olor característico a fermentación, junto con la presencia de la eflorescencia de color oscuro del hongo.
	Phylum: Zygomycota Orden: Mucorales Familia: Mucoraceae Forman grandes cantidades de ácido láctico. El soma de los Mucorales es un micelio bien desarrollado, las hifas son cenocíticas, aunque producen septos en la base de los órganos reproductores. Las esporangiosporas de este hongo quedan en libertad al desintegrarse la pared del esporangio. Las esporas son esféricas u ovaladas y plurinucleadas, en condiciones favorables una spora germina mediante un tubo de germinación que da origen a un micelio algodonoso, muy ramificado, blanco, aéreo	


Fuente: Alexopoulos J. C.1985 y Namesny A. 1999

Tabla Nº 6 PODREDUMBRE GRIS

PODREDUMBRE GRIS Agente causal <i>Botrytis cinerea</i>		
	Desarrollo de la enfermedad Afecta a los frutos aún en la planta y en la conservación. Los frutos sobremaduros son los más susceptibles: el ataque por el hongo provoca un aumento en la producción de etileno que tiene por efecto acelerar la maduración. El hongo induce la aparición de la enzima poligalacturonasa (PG) responsable del ablandamiento. Por las condiciones de alta humedad relativa. Esta afección es más común en cultivos bajo invernadero.	Zona de infección Desarrolla sobre los frutos un micelio algodonoso, de color gris, al mismo tiempo en los tejidos se manifiesta una podredumbre blanda. Es común que los ataques comiencen en la zona peduncular, especialmente si los pétalos han quedado adheridos.
	Características del patógeno Familia-forma Moniliáceas Produce conidios sobre conidióforos hialinos desorganizados, o directamente a partir de hifas hialinas. Los conidios son bastante grandes, ovalados o esféricos o en forma de limón, son producidos en cadenas de suelo que suelen ser ramificadas. La célula conidiogena esta inflamada y se producen muchos conidios simultáneamente sobre la superficie	

Fuente: Agrios, 1987; Namesny, 1999 y MacNab y Sherf, 1983

Tabla Nº 7 PODREDUMBRE AGRIA

PODREDUMBRE AGRIA		
Agente causal <i>Geotrichum candidum</i> y en las lesiones se encuentra asociado con la bacteria <i>Erwinia carotova</i> .		
	Desarrollo de la enfermedad	Zona de infección
	La infección se presenta desde el campo, las lesiones se presentan en el almacenamiento debido a heridas durante la manipulación. Humedades relativas elevadas y temperaturas de 30 °C son condiciones óptimas para el desarrollo del hongo.	Origina una desintegración de los tejidos; éstos se mantienen inicialmente firmes pero luego se ablandan. La piel aparece arrugada.
Características del patógeno Familia-forma MONILIACEAS Se reproduce mediante conidios holotáticos, que se forman en cadenas dispuestas irregularmente. Estos conidios son estructuras cuboides o cilíndricas, cortas con extremos algo aplanados.		


Fuente: Alexopoulos J. C.1985 y Namesny A. 1999

Tabla Nº 8 TIZÓN TARDÍO

TIZÓN TARDÍO		
Agente causal <i>Phytophthora infestans</i>		
	Desarrollo de la enfermedad	Zona de infección
	Afecta durante el cultivo en épocas de lluvias y temperaturas altas, a partir del inóculo presente en el suelo, atacando tanto a frutos verdes como maduros. Las lesiones incipientes carentes de síntomas, llevarán la enfermedad al almacenamiento. Control: Tradicionalmente el control químico de la enfermedad se ha hecho mediante el uso de fungicidas como el metalaxyl, fosetyl o soluciones de oxiclورو de cobre; así como varios compuestos de cobre. El hongo se desarrolla a T° 21 con una HR del 90%	A partir de hojas, los primeros síntomas externos son la aparición de manchas irregulares de aspecto aceitoso. Las infecciones suelen producirse a partir del cáliz por lo que los síntomas cubren la mitad superior del fruto los síntomas consisten en una mancha parda, de borde irregular que aumenta de tamaño con el tiempo; los tejidos suelen mantenerse firmes y la epidermis entera, cuando esta se raja se observa el micelio blanquecino del hongo.
Características del patógeno PHYLUM Oomycota CLASE Oomycete SUBCLASE Peronosporomycetidae Orden Phythiales FAMILIA Phythiaceae GENERO Phytophthora ESPECIE <i>infestans</i> Es del tipo germinativo esporangial. En las puntas de las bifurcaciones de los esporangióforos se forman esporangios papilados que tienen forma de limón, en el sitio forman hinchamientos que son características particular del hongo (Agrios G. 1987). Los esporangios germinan casi siempre por medio de zoosporas ó germinan directamente produciendo un tubo germinal; las zoosporas se diferencian en el esporangio propiamente dicho y pasan a la vesícula como zoosporas maduras; quedan libres al estallar la pared vesicular.		

Fuente: Agrios G. 1987; Alexopoulos J. C.1985 y Namesny A. 1999

TABLA Nº 9 ANTRACNOSIS

ANTRACNOSIS		
Agente causal <i>Colletotrichum coccodes</i>		
	Desarrollo de la enfermedad	Zona de infección
	Afecta desde el follaje. Posteriormente afecta los frutos maduros. El hongo produce fructificaciones en la superficie	Ataca a los frutos maduros, primero aparecen pequeñas heridas superficiales de forma circular. El tejido parece hundido, las manchas aumentan su tamaño y presentan un color oscuro.
ORDEN FORMA MELANCOLONIALES Produce conidios típicamente alargados hialinos, con extremos redondeados. Los conidios que son algo más estrechos en la parte central que en los extremos, se producen a partir de filídes (1).		

Fuente: Alexopoulos J. C.1985 y Namesny A. 1999

1.5.5.2 CONTROL DE LAS PUDRICIONES POSCOSECHA DEL JITOMATE

En México el jitomate es muy susceptible a las enfermedades poscosecha; principalmente el ataque por hongos. Comúnmente es afectada por *Geotrichum candidum*, *Rhizopus stolonifer* y con mayor frecuencia por *A. Solani*; el uso de fungicidas se ha restringido por las preocupaciones de la salud ligadas a los residuos químicos en productos (Agrios, 1995).

Los compuestos químicos que se utilizan con mayor frecuencia son difenil fenilfenato sódico, el Tiabendazol, benomyl, imazalil, triforine, y la sosa comercial (Agrios, 1995), Se reporta la eficacia de Isotiocianato Benzyl a concentraciones 0.1mg ml^{-1} en el control *A. solani* realizando pruebas *In vitro- In vivo*. Inhibiendo el crecimiento de alternaria *In vitro* al 100% y 85 % *In vivo* (Troncoso y Sánchez, 2004).

1.6 ASPECTOS GENERALES DEL QUITOSÁN

1.6.1 HISTORIA

Por su amplia distribución en la naturaleza la quitina es el segundo polisacárido en abundancia, después de la celulosa. Fue descubierta por Braconnot en 1811 cuando estudiaba las sustancias derivadas del *Agaricus volvaceus* y otros hongos. Posteriormente Odier, en un artículo sobre insectos reportó que había encontrado en algunos insectos la misma sustancia que forma la estructura de las plantas, llamándola “quitina” (del griego *tunic*, envoltura). Payen, en 1943 inició una controversia que duró mas de cien años sobre las diferencias entre la quitina y la celulosa, en parte porque se pensaba que la presencia de nitrógeno reportada en algunas investigaciones se debía a residuos de proteínas que no podían ser completamente eliminados de las muestras (Larez, 2003).El nombre sistemático de la quitina es β (1-4)-2-acetamida-2-desoxi-D-glucosa.

Se encuentra principalmente en las conchas de crustáceos y formando parte del exoesqueleto de los insectos, así como también en las paredes celulares de muchos hongos, levaduras y algas. La quitina es completamente insoluble en agua o en medio ácido (Larez, 2003). Su estructura química se muestra en la figura 4.

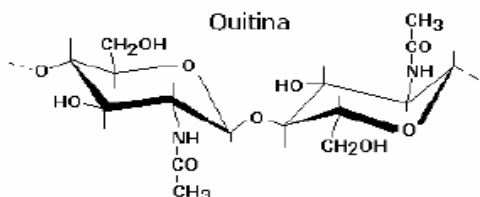


Figura N° 4. Estructura de la quitina

Por su parte, el quitosano es también un polisacárido (figura 5) que se encuentra en estado natural en las paredes celulares de algunos hongos; sin embargo, su principal fuente de producción es la hidrólisis de la quitina en medio alcalino, usualmente hidróxido de sodio o de potasio, a altas temperaturas. El quitosano fue descubierto por Rouget en 1859, quien encontró que al tratar quitina con una solución caliente de hidróxido de potasio se obtiene un producto soluble en ácidos orgánicos (Larez, 2003).

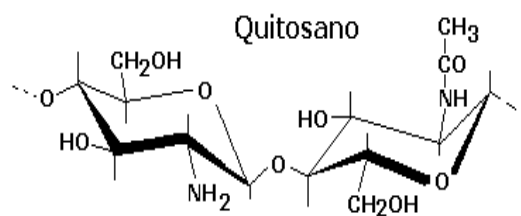


Figura N° 5. Estructura del Quitosano

Esta “quitina modificada”, como él la llamó, se tornaba de color violeta en soluciones diluidas de yoduro y ácido, mientras la quitina era verde. Mas tarde, en 1894, fue estudiada por Hoppe-Seyler quién la denominó “quitosano” (también se conoce como quitosana en algunos lugares, o quitosán, chitosan en inglés).

En la figura 6 se aprecia los pasos elementales en la obtención del quitosán:

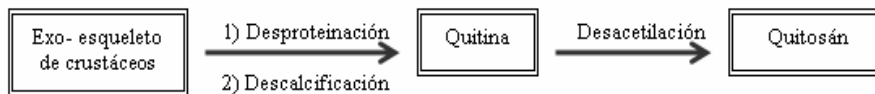


Figura Nº 6. Obtención de quitosán

1.6.2 APLICACIONES DEL QUITOSÁN

Dado el gran número de trabajos que existen sobre este versátil material es conveniente realizar una clasificación por área sobre las aplicaciones que se le han ido dando (Larez, 2006).

Principales aplicaciones:

a) Agricultura: son muchísimas las aplicaciones en este campo que se han venido desarrollando. Entre las más comunes se encuentran:

- Recubrimiento de semillas con películas de quitosano para su conservación durante el almacenamiento.
- Sistemas liberadores de fertilizantes.
- Agente bactericida y fungicida para la protección de plántulas (inicio de las plantaciones).

b) Medicina:

- Producción de suturas quirúrgicas a partir de quitina.
- Producción de gasas y vendajes tratados con quitosano.
- Cremas bactericidas para el tratamiento de quemaduras (Larez, 2006).

c) Tratamiento de aguas: es una de las áreas más importantes debido a que el quitosano y la quitina son sustancias “ambientalmente amigables”. Entre los principales usos que se hacen en la actualidad de estos biomateriales, y algunos de sus derivados, en este campo tenemos:

- Coagulante primario para aguas residuales de alta turbidez y alta alcalinidad.
- Floculante para la remoción de partículas coloidales sólidas y aceites de pescado.

d) Biosensores: son numerosísimas las aplicaciones del quitosán en este campo, especialmente como soporte para la inmovilización de enzimas sensibles a un sustrato específico. Algunos ejemplos son:

- Sensor para glucosa en sangre humana, basado en la inmovilización de la enzima glucosa oxidasa sobre quitosano, usando adicionalmente Azul de Prusia.
- Sensor para la detección de fenoles en aguas de desecho en plantas industriales, basado en la inmovilización de la enzima tirosinasa (Larez, 2006).

.

1.6.3 QUITOSÁN CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

El quitosán inhibe el crecimiento de una amplia variedad de hongos patógenos, varios artículos reportan su aplicación en forma de película en frutas y hortalizas. En la tabla 10 se muestran algunos ejemplos.

Se han propuesto varios mecanismos para la inhibición microbiana por quitosán, pero el mecanismo exacto todavía no se sabe. El más aceptado es la interacción del quitosán con sus grupos amino cargados positivamente; con residuos negativamente cargados en la superficie de la célula de muchos hongos y bacterias, los cuales causan alteraciones extensas de la superficie de la célula y consecuentemente la salida de sustancias intracelulares, tales como electrólitos, material de absorción de luz UV, proteínas, aminoácidos, glucosa y lacto deshidrogenada. Consecuentemente, el quitosán inhibe el metabolismo normal de microorganismos y finalmente conduce a la muerte de estas células (Lim y Hudson, 2003).

Tabla 10. ALIMENTOS A LOS QUE SE LES HA APLICADO PELÍCULAS DE QUITOSÁN.

Objetivo	Resultados	Fuente
<p>Evaluación del almacenamiento de mangos (<i>Mangifera indica</i>) bajo tres condiciones de empaquetado: 1) cajas plásticas perforadas, 2) Cartones sellados con películas de Polietileno (LDPE) y 3) cartones sellados con películas de quitosán. Fueron almacenados a 27 ° C a 65% HR</p>	<p>Los resultados obtenidos con películas de quitosán presentaron mayor firmeza, deseable a lo largo del período de almacenamiento comparado con los otros dos tipos de empaque.</p> <p>El desarrollo del aroma y el corte con películas de quitosán fue mejor, además de ampliar el período de almacenaje más largo y retrasar la maduración.</p>	<p>Ponnachanna (2003)</p>
<p>Recubrimiento de quitosán al 4% para inhibir la podredumbre causada por <i>Sclerotinia</i> en Zanahorias</p>	<p>Se realizó un estudio microscópico en donde el micelio expuesto al quitosán se presentó deformado (torcido y ramificado)</p>	<p>Cheah (1997)</p>
<p>Mecanismo de acción antihongos de las películas de quitosán para inhibir la podredumbre causada por <i>Alternaria</i> (tizón temprano) como tratamiento poscosecha.</p>	<p>El quitosán inhibe el crecimiento del patógeno además de reducir la actividad de las enzimas que degradan el fruto.</p>	<p>Bhadkara (1997)</p>
<p>Se aplicaron los inductores de tolerancia ácido salicílico, ácido benzoico, ácido acético y quitosán por aspersión e inmersión en frutos de tomate.</p>	<p>En el caso de los frutos tratados con quitosán; activó los sistemas de antioxidantes y defensa celular contra el estrés abiótico y biótico. Además se registró una menor pérdida de peso. Finalmente se observaron cambios en el comportamiento de los frutos modificándose los sólidos solubles y la pérdida de peso.</p>	<p>Fuentes (2001)</p>

1.6.4 OLIGÓMEROS CON ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

Los oligómeros de quitosán son ampliamente usados en la medicina, en alimentos y cosméticos, debido a la excelente solubilidad y baja viscosidad que presentan. Existen diversos protocolos para obtener oligómeros de quitosán; por vía enzimática usando enzimas proteolíticas de fácil acceso como la papaína (lechoza), la bromelina (piña) y la lisozima (saliva, clara de huevos), con el objetivo inicial de producir oligómeros, aunque también se desea la obtención del monómero, la glucosamina, la cual, como se sabe, se usa profusamente en el tratamiento de la artritis reumática. Los resultados preliminares han sido muy positivos (Larez, 2006). También se pueden obtener por hidrólisis ácida, se ha reportado que poseen mayor actividad antifúngica frente a fitopatógenos, su actividad depende del tamaño de su estructura (Cabrera y Van P, 2005). El tamaño de los oligómeros facilita su unión con la superficie de la pared celular de los fitopatógenos. Se ha reportado que quitosanos de bajo peso molecular poseen mayor actividad antimicrobiana que los de alto peso molecular, debido al número total de grupos amino en la molécula (Kittur S. y col., 2005).

Matsushashi y Kume (1997), estudiaron la capacidad antimicrobiana de quitosano de bajo peso molecular obtenido por irradiación. La radiación causa cambios en las propiedades fisicoquímicas del quitosano, y es considerado un método útil para producir productos de bajo peso molecular a partir de carbohidratos. Estos autores encontraron que la fracción de 1×10^5 a 3×10^5 era capaz de inhibir completamente el crecimiento in Vitro de *E. coli*. En la figura 6.1 se observa la estructura de la glucosamina, los oligómeros están formados por la unión de varias glucosaminas.

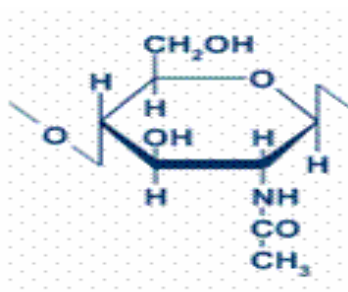


Figura N° 6.1. Estructura de la glucosamina
Fuente: Nutrientes esenciales carbohidratos (2007)

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto antifúngico del quitosán y oligómeros de quitosán, sobre los mohos patógenos que atacan al jitomate, “*In vitro*” e “*In vivo*” para prolongar su vida útil durante el almacenamiento.

Objetivo particular 1

Aislar y purificar los mohos patógenos que atacan al jitomate, a partir de frutos enfermos para identificar los patógenos presentes.

Objetivo particular 2

Evaluar la actividad antifúngica de quitosán y oligómeros de quitosán, “*In vitro*” enfrentando a los mohos identificados a diferentes concentraciones de quitosán y oligómeros de quitosán, para obtener la concentración a la que se inhibe su crecimiento

Objetivo particular 3

Evaluar la actividad antifúngica de quitosán y oligómeros de quitosán, “*In vivo*” a la concentración a la que se inhibe su crecimiento para prolongar la vida útil del jitomate.

3.1 SECUENCIA METODOLÓGICA

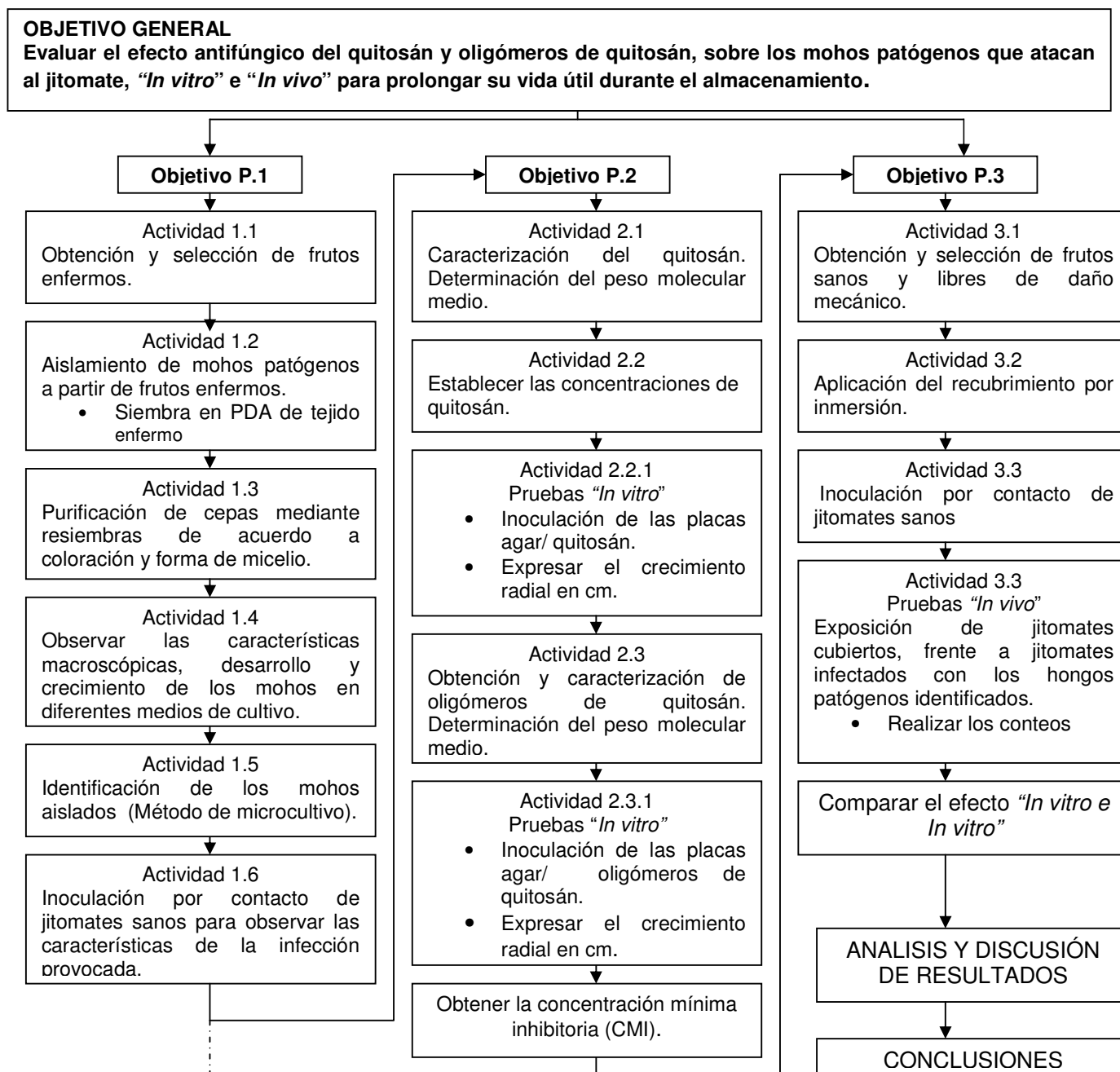


Figura Nº 7. Cuadro Metodológico

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.2 DESCRIPCIÓN DEL CUADRO METODOLÓGICO

A continuación se describe detalladamente las actividades realizadas para cada objetivo planteado, de acuerdo al cuadro metodológico figura 7.

3.2.1 Objetivo particular 1

3.2.1.1 Actividad 1.1 Obtención y selección de frutos enfermos.

De un lote de 165 jitomates de la variedad “saladett”, en estado de madurez rojo ó maduro proveniente de la Central de Abastos de Iztapalapa; se apartaron frutos que presentaron signos de ataque por microorganismos como son: infecciones en el extremo peduncular, desintegración de los tejidos, piel arrugada, exudado de líquido, olor característico a fermentación y micelio aéreo.

3.2.1.2 Actividad 1.2 Aislamiento y obtención de mohos patógenos a partir de frutos enfermos.

Se realizaron cortes de tejido en diferentes zonas infectadas de los jitomates enfermos, de acuerdo a la figura 7.2 se tomaron muestras de la zona ecuatorial y extremo peduncular; se sembraron en Agar Papa Dextrosa PDA ajustado a un pH de 5.5 y se incubaron a 25 °C por seis días. Se observó a simple vista el crecimiento de las colonias, que de acuerdo a coloración y tipo de micelio se fueron separando.

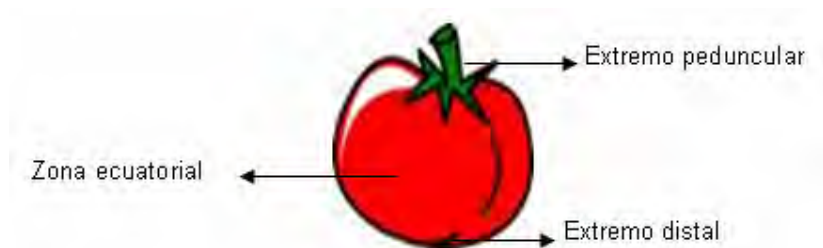


Figura N° 7.1 Zonas del fruto

3.2.1.3 *Actividad 1.3 Purificación de cepas mediante resiembras*

Para obtener un cultivo puro del patógeno, se resembró una porción de él en otra caja que contenía medio de cultivo PDA.

Se realizó el aislamiento sólo de los mohos que de acuerdo su morfología macroscópica afectan al jitomate; se evitó la contaminación de las cepas ya obtenidas, sellando individualmente las cajas que contenían las cepas.

3.2.1.4 *Actividad 1.4 Observar las características macroscópicas, desarrollo y crecimiento de los hongos en diferentes medios de cultivo.*

Al obtener las cepas puras se decidió resembrarlas en medios diferentes: Agar Czapek, Agar Sabourad, Agar Papa Dextrosa y Agar jitomate. El Método de preparación se describe en el anexo #1.

Posteriormente fueron incubadas a 25°C por siete días para observar sus características macroscópicas y facilitar su identificación. Se optó por elaborar el medio Agar – Jitomate para propiciar un mejor desarrollo de las colonias ya purificadas, considerando que se encuentran en un medio óptimo para su crecimiento.

3.2.1.5 *Actividad 1.5 Identificación de los mohos aislados*

Se hicieron microcultivos de las cepas aisladas, realizando cortes de agar estéril de 1.5 cm² de los medios de cultivo Agar Czapek, Agar Sabourad, Agar Papa Dextrosa y Agar jitomate, se colocaron sobre un portaobjetos con ayuda de unas pinzas previamente flameadas; se inoculó el moho en las cuatro esquinas del cuadro de agar, los microcultivos fueron incubados a 25°C durante 7 días en un ambiente húmedo. Una vez que creció el moho para la identificación, se colocó un cubreobjetos estéril sobre el portaobjetos y se observaron al microscopio binocular marca Euromex.

Para la identificación se requirió utilizar las características más importantes de los mohos, como son sus esporas y cuerpos fructíferos (de acuerdo a la figura 7.1.2); posteriormente se procedió a la comparación de las estructuras observadas al microscopio; con las señaladas por la literatura (Alexopoulos, 1985; Ávila, 2001; Carrillo, 2006; Sigurd, 1983), finalmente se procedió a la toma de fotografías.

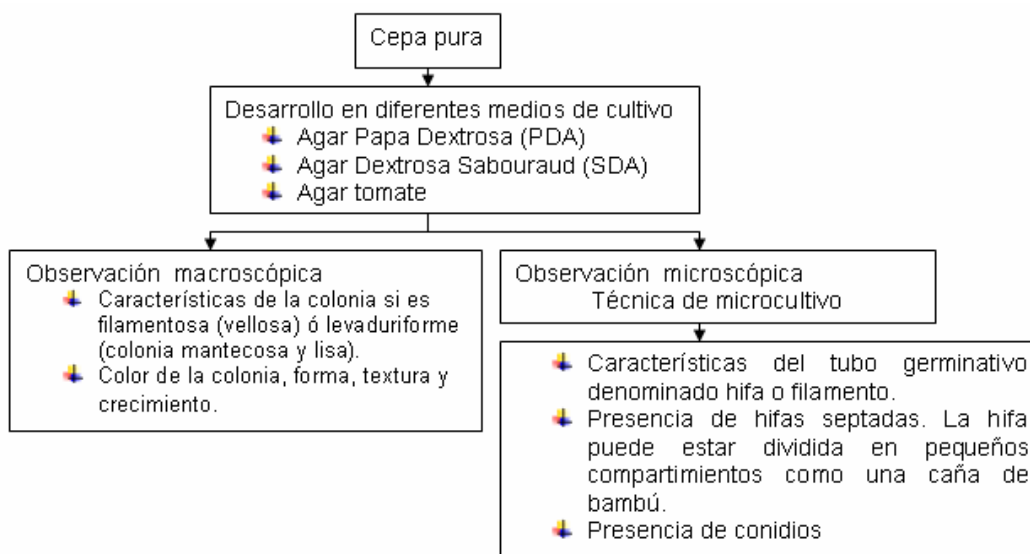


Figura. 7.1.2 Secuencia empleada para la identificación de mohos

3.2.1.6 *Actividad 1.6 Inoculación por contacto de jitomates sanos con los mohos identificados; para observar las características de la infección provocada.*

Previamente se realizó la resiembra de los mohos identificados en agar – Jitomate se incubaron a 25 ° C durante 7 días y de estos cultivos se tomaron los mohos para llevar a cabo la inoculación de los jitomates.

Para la aplicación del inóculo de los mohos, se obtuvieron cinco jitomates de la variedad “saladett” en estado de madurez rosado; sanos y libres de daño mecánico, se lavaron y se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 5% por 5 minutos, se enjuagaron con agua estéril y se dejaron secar a temperatura ambiente.

Se realizaron cortes circulares de agar-jitomate con crecimiento con un sacabocado de 0.5 cm. de diámetro los cuales se colocaron en tubos Eppendorff y se agregaron 0.7 ml de agua estéril; con ayuda de un vortex se agitaron hasta obtener una suspensión.

Posteriormente se provocaron lesiones en la epidermis del fruto, por medio de un hisopo estéril. Las lesiones se infectaron con el inóculo por contacto en el fruto los mismos que posteriormente se colocaron en cámara húmeda y se incubaron en cámara húmeda a 25 °C durante 10 días. Considerando el origen de la cepa como sitio de la lesión en el fruto.

3.2.2 Objetivo particular 2

3.2.2.1 *Actividad 2.1 Caracterización del quitosán. Determinación del peso molecular medio.*

El quitosán fue obtenido a partir de desacetilación de quitina (Sigma) según la metodología establecida en el laboratorio de Biotecnología de la FES-Cuautitlán.

Se determinó el peso molecular medio del quitosán, por el método de viscosidad intrínseca. La viscosidad intrínseca (η) se obtuvo a partir de la medición de la viscosidad relativa (η_{rel}). Para cada muestra se preparó una serie de 4 soluciones diluidas en ácido acético 0.3 M con 0.2 M de acetato de sodio. A éstas, al igual que el solvente, se les determinó el tiempo que invirtió la disolución en pasar a través del capilar. La temperatura se mantuvo constante y uniforme a 25 °C, la técnica se realizó por triplicado (Domard y Cols. 1986; Levine, 1996; Maron y Prutton 1999).

3.2.2.2 *Actividad 2.2 Establecer las concentraciones de quitosán*

Se ha demostrado que el quitosán reduce el crecimiento de un amplio rango de hongos a concentraciones de 0.5, 1, 1.5 y 2 % (Bautista, 2005; Cheah, 1997; El Ghaouth, 1992; y Fornes, 2004). Por ello en este trabajo se establecieron las concentraciones de 0.5, 1 y 1.5%.

3.2.2.3 *Actividad 2.2.1 Pruebas "In vitro".Inoculación de las placas agar/quitosán.*

Se prepararon un total de 30 placas agar/quitosán, a las concentraciones establecidas en la actividad 2.2; el método de preparación se describe en el anexo # 2. Para la inoculación de las placas se realizaron cortes circulares con un sacabocado de 0.5 cm. de diámetro de agar PDA con crecimiento y se colocaron sobre la superficie de la placa, se incubaron a 25°C durante 6 días. La inoculación se realizó por duplicado para cada moho identificado, se efectuó la observación cada tercer día de los mismos, registrando el crecimiento radial de la colonia en centímetros (Cheah L., 1997).

3.2.2.4 *Actividad 2.3 Obtención y caracterización de oligómeros de quitosán. Determinación del peso molecular medio.*

Para obtener los oligómeros de quitosán se realizó la hidrólisis del quitosán de acuerdo a la metodología propuesta por Rong X. y Song L. (2005). La técnica se basó en la adición de sales inorgánicas en la hidrólisis de quitosán bajo condiciones de radiación por microondas.

Se partió de quitosán con un peso molecular de 80 700 g/mol. Para hidrolizarlo previamente se disolvió en ácido Acético al 2%, posteriormente se le agregó 0.15 mol/L de cloruro de potasio y se mantuvo en agitación hasta obtener una solución homogénea. Se introdujo al horno de microondas marca Panasonic, junto con otro matraz que contenía aceite nujol; para controlar la reacción. La reacción se llevó a cabo en el cuarto nivel de potencia, aproximadamente a 800 W por veinte minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente. Después se ajustó a un pH de 7-8 con una solución 2 N de NaOH, el producto fue precipitado por la adición de éter etílico. Finalmente el precipitado obtenido de color blanco se secó a 40 °C por seis días y se pulverizó.

Se determinó el peso molecular de los oligómeros de quitosán, utilizando un viscosímetro de *Ostwald*, se determinó el tiempo que invirtió la disolución en pasar a través del capilar. La temperatura se mantuvo constante y uniforme a 25 °C (Domard A. y Cols. 1986).

3.2.2.5 *Actividad 2.3.1 Pruebas "In vitro".Inoculación de las placas agar/ oligómeros de quitosán.*

Se prepararon 40 placas agar-oligómeros de quitosán, a diferentes concentraciones, 0.1%, 0.3%,0.5%, 0.8%, y 1%, para la inoculación de las placas se realizaron cortes circulares con un sacabocado de 0.5 cm. de diámetro, de agar con crecimiento de los mohos identificados y se colocaron sobre la superficie de la placa, se incubaron a 25 ° C durante 12 días. La inoculación se realizó por duplicado, para cada cepa identificada. Se registró si existía crecimiento de los patógenos o si este se inhibía. La variable de respuesta fue la concentración mínima a la que se inhibió el crecimiento de los mohos identificados.

3.2.3 Objetivo particular 3

3.2.3.1 *Actividad 3.1 Obtención y selección de frutos sanos y libres de daño mecánico*

Se adquirió un lote de 25 jitomates variedad "saladett", provenientes de la Central de Abastos de Iztapalapa, en un estado de madurez rosado, sanos y libres de daño mecánico, se lavaron y se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 5% por 5 minutos, se enjuagaron con agua estéril y se dejaron secar a temperatura ambiente.

3.2.3.2 *Actividad 3.2 Aplicación del recubrimiento por inmersión*

A partir de la concentración a la que se inhibía el crecimiento de los mohos, se preparó la solución de oligómeros de quitosán, se utilizó ácido acético al 1% para su disolución, se ajustó a un pH de 5.5 y se le agregó glicerol al 1% como emulsificante.

Para la aplicación del recubrimiento se tomaron sólo 20 jitomates previamente lavados y sin exceso de agua, se introdujeron por 15 minutos en recipientes con la solución de oligómeros de quitosán; posteriormente se depositaron en rejillas para facilitar su secado a temperatura ambiente.

3.2.3.3 *Actividad 3.3 Inoculación por contacto de jitomates sanos*

Los cinco jitomates restantes se inocularon con las cinco cepas identificadas de acuerdo con la actividad 3.2.1.6

3.2.3.4 *Actividad 3.4 Pruebas "In vivo". Exposición de jitomates cubiertos, frente a jitomates infectados con los hongos patógenos identificados.*

Se expusieron cuatro jitomates recubiertos frente a un jitomate inoculado con el patógeno como se muestra en la figura 7.2 a 23 °C por doce días; se colocaron dentro de recipientes con papel absorbente embebido en agua. Finalmente se registraron los jitomates sanos y jitomates contaminados.



Figura N° 7.2 Cuatro frutos con recubrimiento frente a uno contaminado

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Objetivo particular 1

4.1.1 *Actividad 1.1 Obtención y selección de frutos enfermos.*

De acuerdo a la metodología planteada, de un lote de 165 jitomates de la variedad "saladett", en estado de madurez rojo ó maduro se obtuvieron ocho frutos enfermos, de los cuales se eligieron sólo tres frutos; los restantes se descartaron ya que presentaron características similares.

4.1.2 *Actividad 1.2 Aislamiento de mohos patógenos a partir de frutos enfermos.*

De los frutos enfermos se realizaron un total de siete cortes de tejido derivado de diferentes zonas del fruto, en la tabla 11 se muestran las zonas del fruto en donde se realizó el corte así como sus características.

Tabla N° 11. CORTES DE TEJIDO ENFERMO

Corte	Zona del fruto	Características
1	Zona ecuatorial	Micelio aéreo negro
2	Zona ecuatorial	Micelio denso blanquizco
3	Extremo peduncular	Mancha negra
4	Zona ecuatorial	Micelio denso seco
5	Extremo peduncular	Mancha blanca- amarillenta
6	Zona ecuatorial	Mancha blanca seca
7	Zona ecuatorial	Micelio aéreo blanquizco

4.1.3 *Actividad 1.3 Purificación de cepas mediante resiembras*

Se resembraron aproximadamente 60 veces hasta ir obteniendo en una sola placa de PDA una sola cepa como se observa en la figura 7.3.



Figura N° 7.3 Cepas en PDA

Finalmente se obtuvieron un total de 9 cajas a las que se les asignó una clave para su identificación, como se observa en la tabla 12.

Tabla N° 12. CARACTERÍSTICAS DE LAS CEPAS OBTENIDAS

Caja	Proviene del corte	Clave	Características
1	1	E-1	Micelio aéreo algodonoso ,blanquizco
2	1	E-2	Micelio blanquizco, al centro presenta color rosado
3	5	-	Colonia amarilla cremosa con bordes irregulares
4	5	P-1	Micelio blanquizco con crecimiento circular
5	3	E-3	Micelio lanoso color blanquizco – café de crecimiento irregular
6	3	-	Micelio blanquizco, al centro color rosado
7	6	-	Colonia cremosa de color naranja
8	6	-	Micelio blanquizco, al centro presenta color rosado + micelio aéreo
9	2	E-22	Micelio negro, colonia de aspecto polvozo

De las cuales se descartaron cuatro, ya que dos de ellas (caja 7 y 3) por su morfología macroscópica se trataba de levaduras; las otras dos cajas (6 y 8) se desecharon por presentar características macroscópicas iguales a las otras cajas. Finalmente se obtuvieron cinco cepas que se resumen en la tabla 13.

Tabla N° 13 RESUMEN DE CEPAS PURIFICADAS

Clave	Zona de origen
E-1	Zona ecuatorial
E-2	Zona ecuatorial
P-1	Extremo peduncular
E-3	Zona ecuatorial
E-22	Zona ecuatorial

4.1.4 *Actividad 1.4 Observar las características macroscópicas, desarrollo y crecimiento de los hongos en diferentes medios de cultivo.*

Para la identificación de las cepas purificadas fue importante observar su crecimiento en medios de cultivo diferentes, ya que las características tales como coloración y aspecto veloso de las colonias, facilitaron la identificación del patógeno y nos sirve en futuros proyectos como material de apoyo, ya que no se cuenta con material de este tipo para estos fines.

La morfología de las cepas cambió al resembrarlos en medios de cultivo diferentes debido a la composición de los mismos, en el caso la cepa identificada como E-1 ver tabla 14, el patógeno presentó coloración y tipo de micelio aéreo igual en los medios agar PDA, agar Jitomate y Agar Sabouraud, mientras que en el agar Czapek presentó cambios en sus características macroscópicas; el micelio era liso y de color blanco.

En la cepa identificada como E-3 ver tabla 15, presentó coloración verdosa y tipo de micelio igual en los diferentes medios de cultivo, es decir los nutrientes de los diferentes medios de cultivo empleados no modificaron el crecimiento de la cepa.

En la cepa identificada como P1 ver tabla 16, la colonia era de color blanco vellosa en los diferentes medios de cultivo utilizados es decir, no presentó cambios en su morfología.

En la cepa identificada como E-22 observar tabla 17, presentó una morfología distinta en los cuatro medios de cultivo utilizados, la coloración fue la misma; negra polvosa pero el crecimiento y forma de las colonias fue irregular.

La cepa identificada como E2 ver tabla 18, presentó un micelio blanquizco y vellosa en los cuatro medios de cultivo y al centro una coloración rosa.

El tipo de crecimiento varió según el medio de cultivo utilizado y en consecuencia, fue de gran ayuda para la identificación del patógeno ya que al realizar la observación de las cepas, fue posible determinar que las cepas obtenidas tenían un aspecto filamentososo-vellosa en los diferentes medios de cultivo. Se optó por el medio agar jitomate ya que propició al máximo el desarrollo de las cepas, provenientes de jitomates enfermos, Los medios de cultivo agar PDA, Agar Sabouraud y Czapek ya que nos garantizan un crecimiento óptimo del patógeno. Estos medios de cultivo contienen los nutrientes necesarios para el desarrollo de los hongos; ya que estos requieren hidratos de carbono como fuente de energía, nitrógeno que se suministra como sales inorgánicas, sea como nitrato o como sales de amonio, en un medio ácido. Los elementos químicos esenciales para el cultivo de hongos son: C, H, O, S, N, P, K, Mg, y Fe, (Sigurd y Broggers, 1953).

Tabla N° 14 MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE LA CEPA PROVENIENTE DE LA ZONA ECUATORIAL E-1

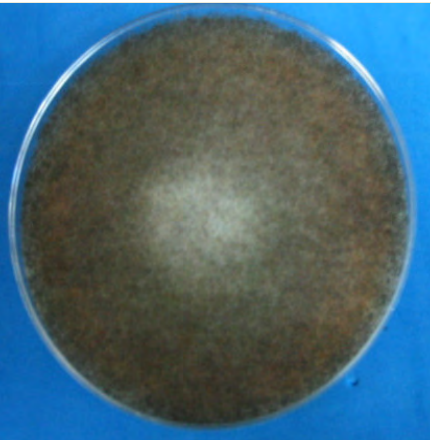
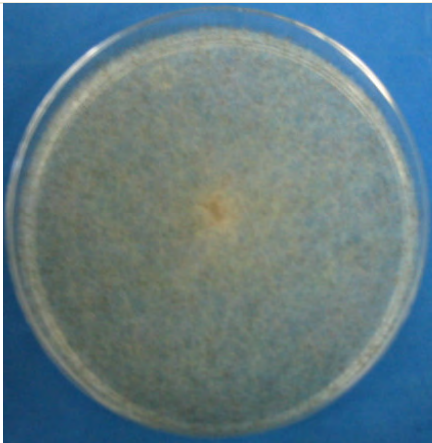
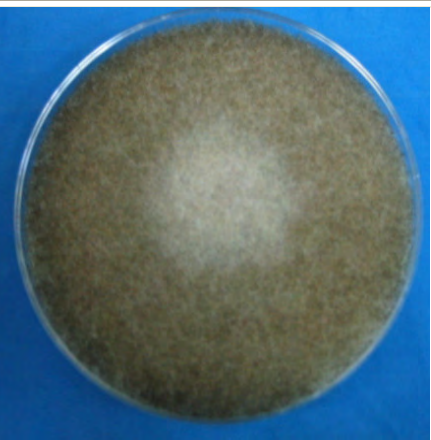
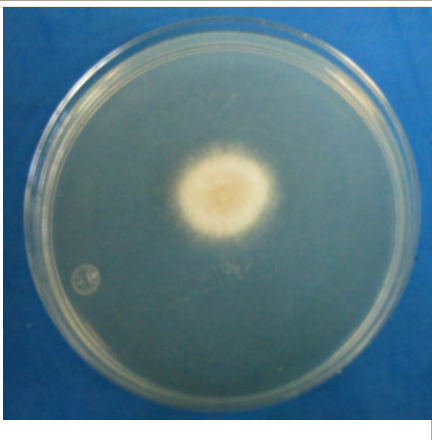
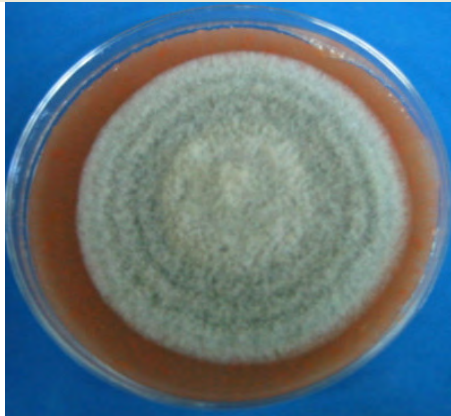
	<p>Agar tomate. Inicialmente aparece una mancha blanca en el centro</p> <p>Al segundo día se observa micelio aéreo blanquizco que cubre totalmente la superficie de la placa.</p> <p>Al tercer día, la colonia cubre prácticamente la superficie de la placa con micelio denso aéreo, algodonoso, gris oscuro.</p> <p>Al quinto día, la colonia es totalmente negra.</p>		<p>Agar PDA.</p> <p>El desarrollo del patógeno inicia con un micelio aéreo blanquizco, que se extiende por toda la superficie de la placa.</p> <p>Al tercer día se observa un crecimiento total en la superficie de la placa.</p> <p>Al quinto día la superficie de la placa es totalmente negra, al igual que el reverso de la misma.</p>
	<p>Agar Sabouraud. . Inicialmente aparece una mancha blanca en el centro</p> <p>Al segundo día se desarrolla un micelio aéreo blanquizco sobre la superficie de la placa.</p> <p>Al tercer día el micelio aéreo es semi negro.</p>		<p>Agar Czapek</p> <p>Inicialmente la colonia es lisa de color blanco con bordes irregulares.</p> <p>Al tercer día el crecimiento es liso, no hay presencia de micelio aéreo.</p> <p>Al quinto día la superficie de la placa se cubre totalmente de una colonia lisa de color blanco, sin presencia de micelio aéreo.</p>

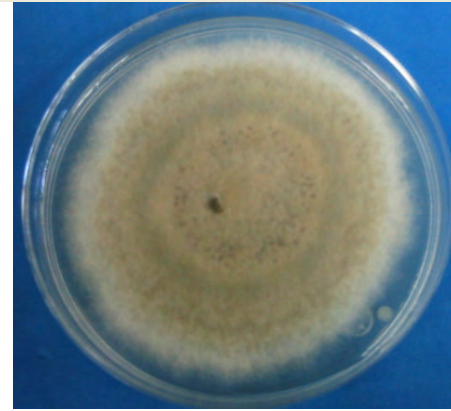
Tabla N°15 MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE LA CEPA PROVENIENTE DEL EXTREMO PEDUNCULAR E-3



Agar tomate. El crecimiento se observa al tercer día, una colonia de color blanco-verdosa de superficie lanosa y bordes irregulares.

Al quinto día el cultivo presenta un crecimiento rápido de color verde oscuro a negro, lanoso.

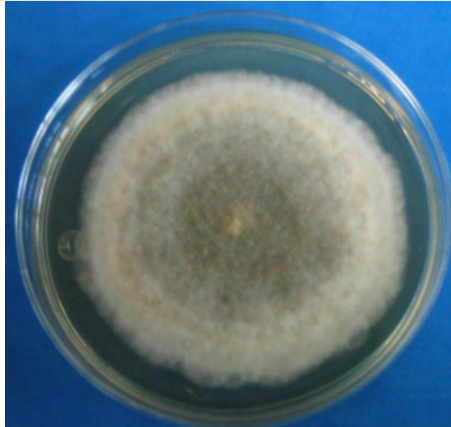
Al los 10 días la colonia tiende a un color negro al igual que el reverso de la placa.



Agar PDA. El crecimiento se observa al tercer día, una colonia de color blanco-verdosa de superficie lanosa y bordes irregulares.

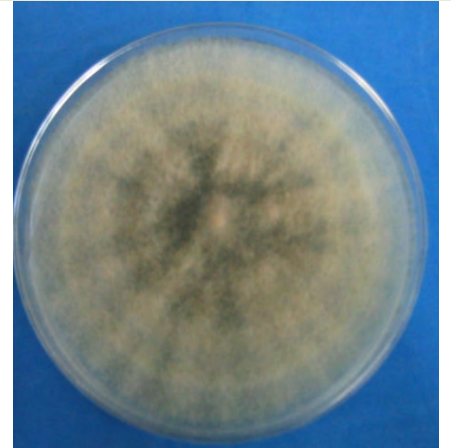
Al quinto día el cultivo presenta un crecimiento rápido de color verde oscuro a negro, lanoso.

Al los 10 días la colonia tiende a un color negro al igual que el reverso de la placa.



Agar Sabouraud. El crecimiento se observa al tercer día, una colonia de color blanco-verdosa de superficie lanosa y bordes irregulares.

Al quinto día el cultivo presenta un crecimiento rápido de color verde oscuro a negro, lanoso. Al los 10 días la colonia tiende a un color negro al igual que el reverso de la placa.

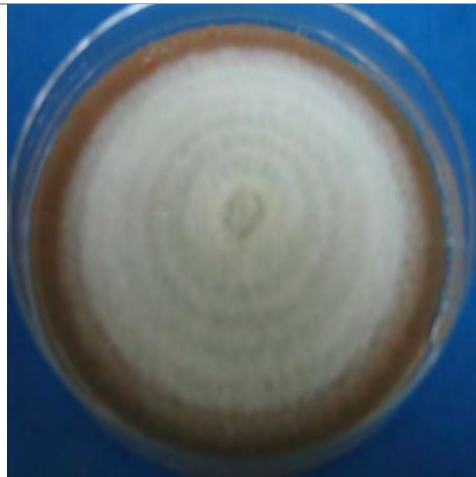


Agar Czapek El crecimiento se observa al tercer día, una colonia de color blanco-verdosa de superficie lanosa y bordes irregulares.

Al quinto día el cultivo presenta un crecimiento rápido de color verde oscuro a negro, lanoso.

Al los 10 días la colonia tiende a un color negro al igual que el reverso de la placa.

Tabla Nº 16 MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE LA CEPA PROVENIENTE DEL EXTREMO PEDUNCULAR P-1

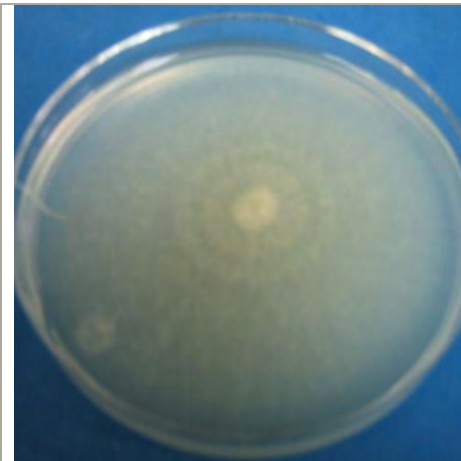


Agar tomate El cultivo es de crecimiento lento

La colonia al tercer día es de color blanco vellosa.

Al quinto día se observa un crecimiento en forma circular que se extiende sobre toda la superficie de la placa.

Al décimo día la colonia mantiene las mismas características que al inicio.



Agar PDA

El cultivo es de crecimiento lento

La colonia al tercer día es de color blanco vellosa.

Al quinto día se observa un crecimiento en forma circular que se extiende sobre toda la superficie de la placa.

Al décimo día la colonia mantiene las mismas características que al inicio.



Agar Sabouraud

El cultivo es de crecimiento lento

La colonia al tercer día es de color blanco vellosa.

Al quinto día se observa un crecimiento en forma circular que se extiende sobre toda la superficie de la placa.

Al décimo día la colonia mantiene las mismas características que al inicio.



Agar Czapek

El cultivo es de crecimiento lento

La colonia al tercer día es de color blanco vellosa.

Al quinto día se observa un crecimiento en forma circular que se extiende sobre toda la superficie de la placa.

Al décimo día la colonia mantiene las mismas características que al inicio.

Tabla N° 17 MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE LA CEPA PROVENIENTE DE LA ZONA ECUATORIAL E-22



Agar tomate. El cultivo es de crecimiento rápido. Al inicio el cultivo se observan colonias de color blanco vellosas, diseminadas por toda ala superficie de la placa

Al tercer día El cultivo adquiere una coloración negra polvosa.

Al quinto día la placa se cubre totalmente de las colonias negras. El reverso de la placa se observa de color negro.



Agar PDA. La colonia es de crecimiento rápido. El crecimiento inicia con una mancha blanquizca vellosa. Al tercer día se forman colonias de forma circular que se encuentran diseminadas por toda la superficie de la placa, presentan una coloración negra polvosa.

Al quinto día las colonias son completamente de color negro y cubren totalmente la placa. El reverso de la placa es de color negro.



Agar Sabouraud. La colonia es de crecimiento rápido. El crecimiento inicia con una mancha blanquizca vellosa .Al tercer día se forman colonias de forma circular que se encuentran diseminadas por toda la superficie de la placa, presentan una coloración blanco – verdosa y en los bordes de las colonias una coloración negra.

Al quinto día las colonias van tomando una coloración negra. El reverso de la placa se observa de color negro.

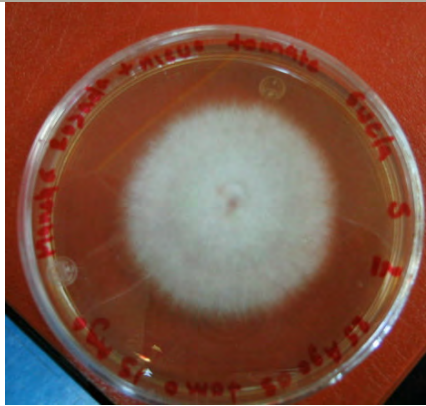


Agar Czapek

El cultivo es de crecimiento rápido. Al inicio la colonia es de color blanco vellosa. Al tercer día se observan colonias de forma irregular sobre la superficie de la placa, de coloración verdosa y en los bordes de color negro.

Al quinto día las colonias de forma irregular van adquiriendo una coloración negra. El reverso de la placa también, se observa de color negro.

Tabla N° 18 MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE LA CEPA PROVENIENTE DE LA ZONA ECUATORIAL E-2



Agar Sabouraud. Colonia de crecimiento lento. El crecimiento de la colonia inicia con una mancha blanca vellosa y algodonosa. De bordes irregulares

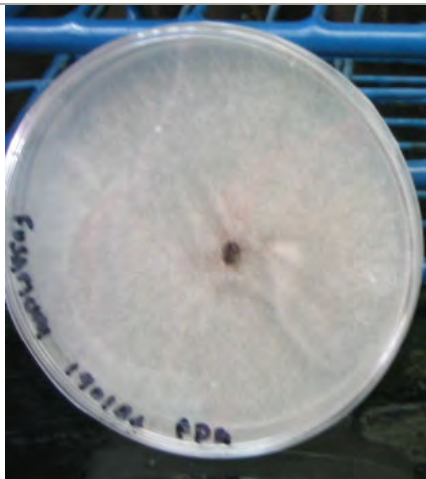
Al tercer día se observa una colonia de forma circular vellosa y algodonosa, muestra en el centro de la colonia una coloración rosa, al reverso de la placa se observa la coloración rosa de un color más intenso.



Agar Czapek. El crecimiento de la colonia es lento.

Inicialmente la colonia es una mancha blanca, vellosa de color blanco de crecimiento irregular.

Al quinto día la colonia abarca toda la superficie de la placa, presenta una coloración blanca, vellosa en el centro un color rosado.



Agar PDA. El crecimiento de la colonia es lento.

Inicialmente la colonia es una mancha blanca, vellosa de color blanco.

Al tercer día la colonia crece uniformemente sobre la placa.

Al quinto día la colonia abarca toda la superficie de la placa, presenta una coloración blanca, vellosa y en el centro un color rosado al reverso de la placa se observa la coloración rosa de un color más intenso.

4.1.5 Actividad 1.5 Identificación de los mohos aislados

Los microcultivos de las cepas purificadas fueron observados al microscopio, posteriormente se comparó la estructura observada con las mostradas en la literatura (Alexopoulos, 1985; Agrios, 1995; Ávila, 2001; Sigurd, 1953).

4.1.6 Descripción microscópica de la cepa E-1



Figura N° 8 .Esporangio(A) característico de Rhizopus stolonifer

En la figura 8, se observaron esporangiósporas de forma esférica y de color blanco, después negro brillante (Sigurd y Broggers, 1953). Sus rizoides son numerosos y pardos, la espora germina mediante el tubo de germinación que da origen a un micelio muy ramificado de color gris (Ávila y Sosa; 2001).

Las estructuras corresponden al patógeno ***Rhizopus stolonifer***.

4.1.7 Actividad 1.6 Inoculación por contacto del fruto con el patógeno identificado como *Rhizopus stolonifer*, la figura 9 muestra las características de la infección.

Al fruto se le provocaron lesiones en toda la superficie, ya que el patógeno penetra sólo por heridas (Namesny, 1999).

Descripción: La pieza mostró características propias de la **podredumbre húmeda**: tejido de la superficie blando provocado por la enzima galacturonasa producida por el propio patógeno, exudando líquido. Presencia de micelio inicialmente blanco y al término de la pudrición negro. Además de olor a fermentación (MacNab, 1983; Ponce, 1992).



Figura N° 9. Fruto infectado con Rhizopus stolonifer

4.1.8 Descripción microscópica de la cepa E-3

En la figura 10 se muestran las estructuras observadas del microcultivo de la cepa E-3.



Figura N° 10. Conidios de *Alternaria solani*

Se observaron conidióforos solitarios, los conidios son alargados con una base ancha y el extremo es más delgado con septos transversales de color oscuro (Sigurd y Broggers, 1953).

Los conidios de *Alternaria* tienen septos transversales y longitudinales y se los conoce como dictiosporas, además son pardos y picudos. Nacen por la brotación apical de una célula conidiógena o de la espora anterior, dando lugar en este último caso a una cadena que suele ramificarse (Carrillo, 2006). Las estructuras observadas corresponden al moho *Alternaria solani*.

4.1.9 Actividad 1.6 Inoculación por contacto del fruto con el patógeno identificado como *Alternaria solani*,

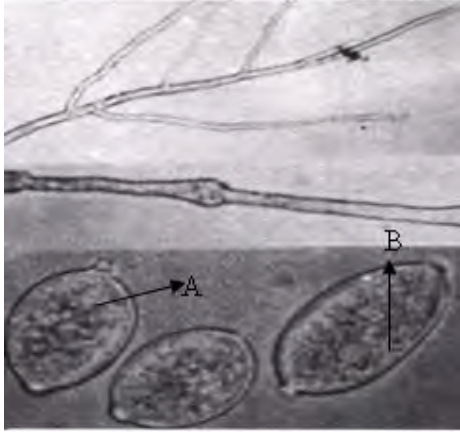
Las lesiones se provocaron en la superficie del fruto, en el extremo peduncular (figura 11), ya que la enfermedad tiene su origen en esa zona (MacNab y Sherf, 1983). El origen de la cepa fue la zona ecuatorial. Descripción: El fruto presenta los síntomas provocados por **Podredumbre por *Alternaria***, la cual se caracteriza por lesiones pardo-oscuro ligeramente hundidas y recubiertas de numerosas esporas del hongo; el tejido se mantiene firme, y la superficie ligeramente deprimida. *Alternaria* comúnmente aparece en frutos dañados por frío (Enfermedades del Tomate, 2007).



Figura N° 11. Fruto infectado con *Alternaria solani*

4.1.10 Descripción microscópica de la cepa P-1

En la figura 12 se muestran las estructuras observadas de la cepa P-1



El micelio de este hongo produce esporangióforos ramificados. En las puntas de las bifurcaciones se forman esporangios papilados que tienen forma de limón (Agris G., 1995). Los esporangios presentan forma de limón, dentro de ellos se aprecian algunas zoosporas (Alexopoulos J. C., 1985).

Las estructuras corresponden al patógeno ***Phytophthora infestans***

Figura N° 12. Esporangios (A) y zoosporas (B) de *Phytophthora infestans*

4.1.11 Actividad 1.6 Inoculación por contacto del fruto con el patógeno identificado como *Phytophthora infestans*, la figura 13 muestra las características de la infección

El sitio donde se le aplicó el inóculo proveniente de la placa agar- jitomate fue en el extremo peduncular figura 13, sitio en donde aparece la enfermedad (Namesny, 1999). El origen de la cepa fue el extremo peduncular.

Condiciones: cámara húmeda,
temperatura 25° C

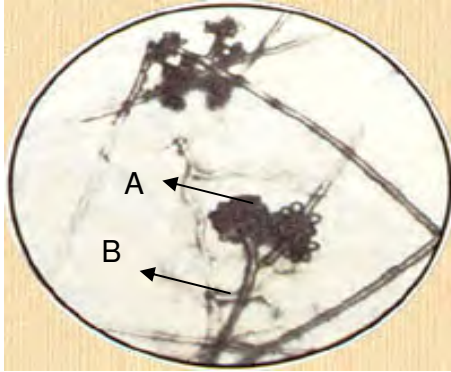
Descripción: Los síntomas que presenta, micelio blanquizco con tejidos blandos y arrugados (Namesny, 1999).



Figura N° 13 Fruto infectado con *Phytophthora infestans*

4.1.12 Descripción microscópica de la cepa E-22

El microcultivo de la cepa E-22 sus estructuras se observan en la figura 14.



Se observaron conidióforos largos y ramificados, los conidios son ovoides de color negro. La estructura se asemeja a un racimo de uvas, el hongo libera fácilmente los conidios y estos son diseminados, provocando así el desarrollo de la enfermedad (Agrios, 1995).

Figura N°14 Estructuras de *Botrytis cinerea*, (A) conidios y (B) conidióforo

4.1.13 Actividad 1.6 Inoculación por contacto del fruto con el patógeno identificado como *Botrytis cinerea*, la figura 15 muestra las características de la infección

Se provocaron lesiones en toda la superficie del fruto. Ya que esta **Podredumbre gris** ataca toda la superficie del fruto inicialmente por los hombros del fruto (MacNab y Sherf; 1983). Condiciones: cámara húmeda, temperatura 25° C

Descripción: Inicialmente aparece un abundante micelio negro posteriormente los tejidos se ablandan y se vuelven aguanosos, conforme se pudren los tejidos, la epidermis del fruto se rompe (Agrios, 1995).



Figura N° 15. Fruto infectado con *Botrytis cinerea*,

4.1.14 Descripción microscópica de la cepa E-2

En la figura 16 se muestran las estructuras observadas del microcultivo de la cepa E-2.



Se mostraron conidióforos simples, cortos que terminan en varios microconidios, alargados y estrechos, curvados y con extremos afilados (Ávila y Sosa, 2001).

Los conidios se producen solos o en bolas de conidios, son hialinos y unicelulares o tabicados transversalmente. De acuerdo a la estructura que presenta se identificó como *Fusarium culmorum*

Figura N°16. Microconidios de *Fusarium culmorum*

4.1.15 Actividad 1.6 Inoculación por contacto del fruto con el patógeno identificado como *Fusarium culmorum*, la figura 15 muestra las características de la infección.

Se le provocaron heridas en toda la superficie del fruto (figura 17), ya que este patógeno se desarrolla por medio de heridas en cualquier parte del fruto (Namesny, 1999).

Condiciones: cámara húmeda, temperatura 25° C.

Se observaron síntomas característicos de la **Podredumbre por *Fusarium*** micelio de color blanco cremoso, tejidos arrugados y exudado de líquido (Namesny, 1999).



Figura N° 17. Fruto infectado con *Fusarium culmorum*

Los microorganismos aislados y purificados a partir de jitomates enfermos fueron identificados como: *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria Solani*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium culmorum* que de acuerdo a la literatura consultada (Agrios, 1995; Namesny, 1999 y MacNab y Sherf, 1983) estas infecciones causadas por mohos; se presentan desde el campo y posteriormente aparecen en la recolección. Al inocular los jitomates sanos con los mohos identificados se observó el desarrollo de la enfermedad así como los síntomas provocados; confirmando de esta manera la identificación de los patógenos.

4.2 Objetivo particular 2

4.2.1 *Actividad 2.1 Caracterización del quitosán. Determinación del peso molecular medio.*

El peso molecular medio obtenido fue de 80, 700 g/mol, Se determinó el peso molecular ya que la actividad antifúngica del quitosán esta relacionada con su longitud de cadena (Larez V., 2006), el peso molecular de este quitosán se considera alto, el cual ha demostrado tener actividad antifúngica (Bautista B. y col.,2005).

4.2.2 *Actividad 2.2.1 Pruebas "In vitro".Inoculación de las placas agar/ quitosán.*

Se evaluó la actividad antifúngica del quitosán expresando los resultados obtenidos en base al crecimiento radial de la colonia del moho (Cheah L., 1997 y Bhadkara M., 1997). Se empleó el término fungicida; cuando el quitosán evitaba el crecimiento del moho y fungistático cuando el quitosán actuaba como inhibidor del crecimiento (Aguilar y col., 2004).

En la tabla 19 se muestra el crecimiento radial del los mohos al tercer y sexto día a las concentraciones de 0.5, 1 y 1.5 %.

Tabla 19. CRECIMIENTO RADIAL EN PLACAS AGAR-QUITOSÁN

Patógeno	0.5%		1%		1.5%		Observaciones
	3° día	6° día	3° día	6° día	3° día	6° día	
<i>Rhizopus stolonifer</i>	6cm	9 cm.	1.5cm	9cm	9cm	9cm	Presencia de micelio bien desarrollado. Inicialmente blanco al término negro.
<i>Alternaria solani</i>	3cm	9cm	2cm	9cm	5cm	9cm	Desarrollo al máximo de micelio y coloración verdosa.
<i>Phytophthora infestans</i>	*	*	*	*	*	*	Efecto fungicida.
<i>Botrytis cinerea</i>	5cm	9cm	4cm	9cm	1.5cm	3cm	Desarrollo al máximo de sus estructuras.
<i>Fusarium culmorum</i>	*	*	*	*	*	*	Efecto fungicida.

* (No existió crecimiento radial)

Las pruebas realizadas “*In vitro*” para demostrar la actividad antifúngica del quitosán con un peso molecular de 80,700 g/mol a las concentraciones de 0.5%, 1% y 1.5%, mostraron inhibición del 100% sólo en dos cepas; identificadas como *Fusarium culmorum* y *Phytophthora infestans*. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Hirano y Nagao (1989); en donde estudiaron el efecto del quitosán de alto peso molecular, en el desarrollo “*In vitro*” de *Fusarium* y *Phytophthora*, se encontró que el quitosán era efectivo en la inhibición de estos microorganismos. El quitosán actuó como agente fungicida.

No se observó el mismo efecto en los patógenos *Rhizopus stolonifer* y *Alternaria Solani* ya que presentaron un crecimiento radial en toda la superficie de la placa en las tres concentraciones (0.5, 1 y 1.5%) de quitosán al tercer y sexto día, estos desarrollaron completamente sus características macroscópicas como presencia de micelio y coloración.

El quitosán no actuó como agente fungistático. Morales y Salazar (2001), reportaron un efecto fungistático a la concentración de 0.7% en el patógeno *Rhizopus stolonifer* obtenido a partir de fresas enfermas; se esperaban resultados similares, sin duda es difícil comparar los resultados reportados en la literatura, ya que el origen del patógeno y las concentraciones nos proporcionan resultados diferentes.

En el caso de *Botrytis cinerea*, se mostró que sólo en la concentración de 1.5% se presentó un crecimiento lento sin llegar a desarrollar coloración negra, propia que presenta al término de su crecimiento, mientras que a las concentraciones de 0.5 y 1 % el crecimiento es al máximo sobre la superficie de la placa.

Los mohos *Fusarium culmorum* y *Phytophthora infestans* quedaron totalmente inhibidos en las concentraciones de 0.5%. 1% y 1.5% de quitosán con un peso molecular de 80,700 g/mol. Mientras que *Alternaria Solani*, *Botrytis cinerea* y *Rhizopus stolonifer* presentaron un crecimiento radial total sobre la placa, por lo que se trabajó con oligómeros de quitosán, estos han demostrado una mayor actividad antimicrobiana, los oligómeros fueron obtenidos a partir de la metodología propuesta por Ronge y Song (2005).

4.2.3 *Actividad 2.3 Obtención y caracterización de oligómeros de quitosán. Determinación del peso molecular medio.*

El quitosán de 80,700 g/mol se degradó hasta obtener un peso molecular medio de 29,140.50 g/mol, Este peso obtenido es menor que el original esto nos confirmó la degradación del quitosán. Se puede suponer que en los oligómeros obtenidos existe una mezcla de oligómeros de diferentes tamaños, ya que al hidrolizar el polímero se secciona al azar. Se ha reportado que oligómeros de quitosán molecular poseen mayor actividad antifúngica que los de alto peso molecular, debido al número total de grupos amino en la molécula (Kittur S. y col, 2005)

4.2.4 Actividad 2.3.1 Pruebas “*In vitro*”. Inoculación de las placas agar/ oligómeros de quitosán

Inicialmente se prepararon las concentraciones 0.1, 0.3 y 0.5 % en donde se observó un crecimiento lento del moho y en algunos casos fue inhibido totalmente (Tabla 20). Se evaluó la actividad antifúngica de los oligómeros de quitosán expresando los resultados obtenidos en base al crecimiento radial de la colonia del moho (Cheah L., 1997 y Bhadkara M., 1997). Se empleó el término fungicida; cuando el quitosán evitaba el crecimiento del moho y fungistático cuando el quitosán actuaba como inhibidor del crecimiento (Aguilar y col., 2004).

Tabla 20. CRECIMIENTO RADIAL EN PLACAS AGAR- OLIGÓMEROS DE QUITOSÁN

Patógeno	0.1%		0.3%		0.5%		Observaciones
	5º día	8º día	3º día	6º día	3º día	6º día	
<i>Rhizopus stolonifer</i>	9cm	9 cm.	9cm	9cm	4.5cm	6cm	Presencia de micelio aéreo blanco, sin llegar a ala coloración negra. Efecto fungistático.
<i>Alternaria solani</i>	2cm	3cm	1.1cm	3.5cm	*	*	Desarrollo al máximo de micelio y coloración verdosa.
<i>Phytophthora infestans</i>	1.5cm	3cm	1.5cm	3.2cm	1cm	1.5	Efecto fungistático.
<i>Botrytis cinerea</i>	9cm	9cm	4.5cm	9cm	2cm	5cm	Desarrollo al máximo de sus estructuras.
<i>Fusarium culmorum</i>	*	*	*	*	*	*	Efecto fungicida.

* (no existió crecimiento radial)

En el caso del patógeno *Rhizopus stolonifer* presentó un crecimiento total en la superficie de la placa en las concentraciones de 0.1% y 0.3 % al quinto y octavo día; con presencia de micelio aéreo blanco sin llegar a la coloración negra; el esporangio sólo llegó al color blanco; los oligómeros presentaron un efecto fungistático. Ya en la concentración de 0.5% se observó una inhibición mayor que en las concentraciones anteriores, ya que el crecimiento radial y el desarrollo aéreo de la hifa se vio reducido.

Esto podría suponer que existe una mayor exposición de los oligómeros, frente al patógeno debido a su menor tamaño, inhibiendo así el crecimiento del moho.

En el caso de *Alternaria solani* existió crecimiento en la concentración de 0.1% al igual que en la concentración de 0.3 %; este crecimiento fue mínimo ya que se presentó hasta el quinto día y transcurrió lentamente hasta el octavo día. Ya en la concentración de 0.5% no existió crecimiento. *Alternaria* desarrolló favorablemente todas sus características macroscópicas como son; micelio lanoso coloración verdosa a café pero, su crecimiento radial se detuvo, los oligómeros presentaron un efecto fungistático.

El crecimiento radial de *Botrytis cinerea* fue disminuyendo a las concentraciones de 0.3% y 0.5%. Presentó desarrollo de micelio y coloración característicos.

En el moho *Fusarium culmorum* no existió crecimiento radial en las tres concentraciones de oligómeros al igual que en las placas agar- quitosán (0.5, 1 y 1.5%). Se mantuvo el efecto fungicida del quitosán y los oligómeros de quitosán sobre el patógeno.

En el caso de *Phytophthora infestans* existió un crecimiento radial hasta el quinto día en las tres concentraciones (0.1, 0.3 y 0.5). Observándose un efecto fungistático. Se hace mención que *Phytophthora infestans* no mostraba crecimiento en las placas de agar- quitosán 0.5, 1 y 1.5 %.

En la figura 18 se observa que al ir aumentando la concentración de oligómeros de quitosán el crecimiento y desarrollo de los patógenos se ve reducido.



Figura 18. Crecimiento de hongos patógenos en placas agar – oligómeros de quitosán a concentraciones de 0.1, 0.3 y 0.5%. Imágenes tomadas a los 15 días de inocular las placas. a) *Phytophthora infestans*, b) *Rhizopus stolonifer*, c) *Botrytis cinerea*, d) *Alternaria solani* y e) *Fusarium culmorum*

Con los resultados obtenidos, se aumentó aún más la concentración de oligómeros de quitosán, se prepararon placas agar- oligómeros de quitosán a las concentraciones de 0.8% y 1%.

Registrándose los resultados en la tabla 21. Los mohos *Phytophthora infestans* y *Fusarium culmorum* no presentaron crecimiento radial en las dos concentraciones, quedó totalmente inhibido su crecimiento.

Tabla 21. CRECIMIENTO RADIAL EN PLACAS AGAR- OLIGÓMEROS DE QUITOSÁN

Patógeno	0.8%			1%			Observaciones
	6º día	8º día	12día	6º día	8º día	12º día	
<i>Rhizopus stolonifer</i>	4cm	7 cm.	9cm	1.5cm	3cm	9cm	Efecto fungistático.
<i>Alternaria solani</i>	*	*	1.9cm	*	*	*	Efecto fungistático.
<i>Phytophthora infestans</i>	*	*	*	*	*	*	Efecto fungicida.
<i>Botrytis cinerea</i>	*	1.7cm	4cm	*	3cm	4.5cm	Efecto fungistático.
<i>Fusarium culmorum</i>	*	*	*	*	*	*	Efecto fungicida.

* (no existió crecimiento radial)

Se observó en el caso del hongo *Rhizopus stolonifer* a la concentración de 0.8% al sexto día el crecimiento radial fue de sólo 4 cm. y llegó hasta 9cm. al 12º día, con un micelio blanco aéreo, sin llegar a desarrollar la coloración negra. En la concentración al 1% al sexto día fue de 1.5 cm. y si llegó a cubrir totalmente la superficie de la placa, pero no se desarrolló al máximo ya que el micelio permaneció de color blanco.

Alternaria solani, mostró un crecimiento radial de 1.9 cm. en la concentración de 0.8%, pero se presentó hasta el doceavo día, Ya en la concentración de 1% se presentó el efecto fungicida ya que no existió crecimiento del patógeno.

En el caso de *Botrytis cinerea* si existió crecimiento de 1.7 cm. hasta el octavo día a la concentración de 0.8%. En ambas concentraciones el crecimiento llegó hasta 4.5 cm. al doceavo día. El crecimiento de las colonias no fue total sobre la placa.

Los oligómeros al 1% en las pruebas “*In vitro*” presentaron un efecto fungicida en tres mohos identificados como: *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans* y *Fusarium culmorum*. Mientras que en los mohos *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani* los oligómeros presentaron un efecto fungistático. Según el reporte de Aguilar *et al*, 2004; los oligómeros de quitosán al 1% no actúan como fungicida, sino sólo como inhibidor del crecimiento (efecto fungistático).

En este trabajo los oligómeros presentaron los dos efectos; fungistático y fungicida. Los resultados mostraron que los oligómeros de quitosán, pueden ser usados en la inhibición de una amplia variedad de mohos patógenos, que atacan a frutos y hortalizas durante la etapa poscosecha. En la figura 19 se muestra las placas agar- oligómeros de quitosán a la concentración de 0.8 y 1%, el crecimiento radial fue disminuyendo al aumentar la concentración.

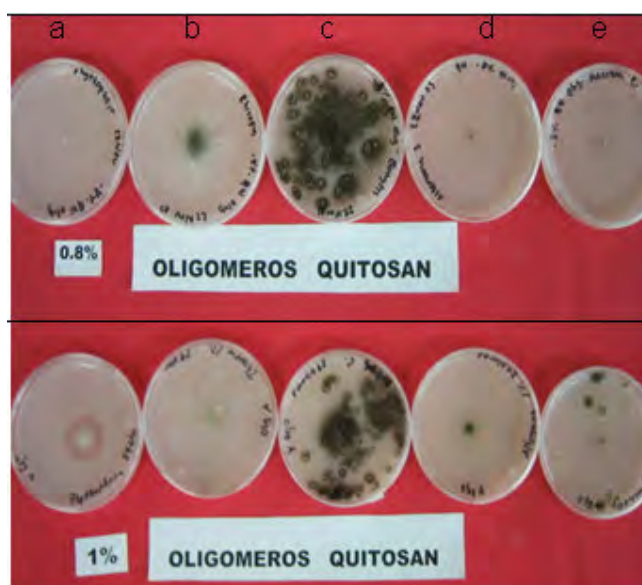
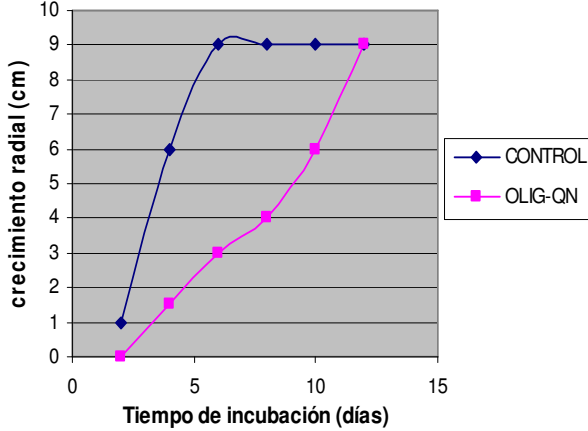
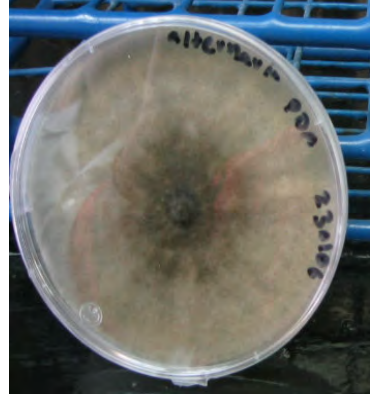

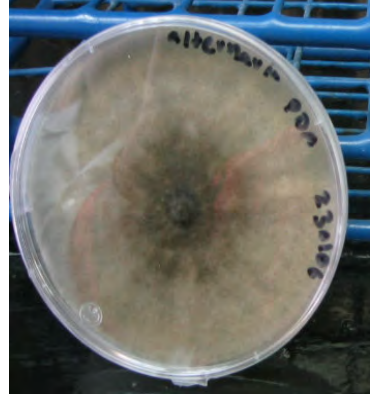

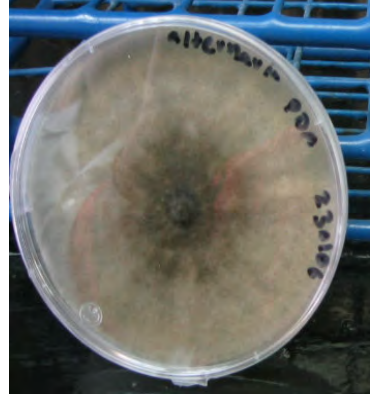


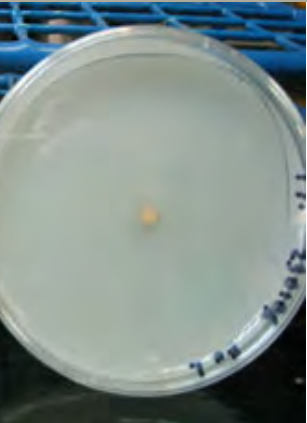

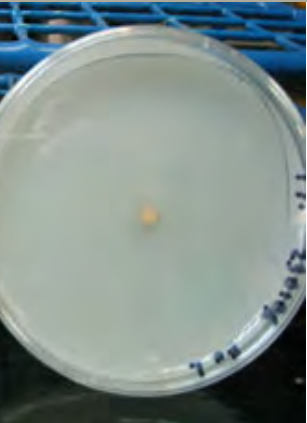

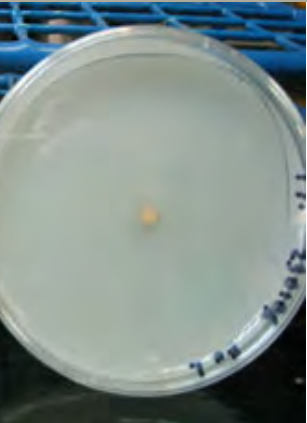
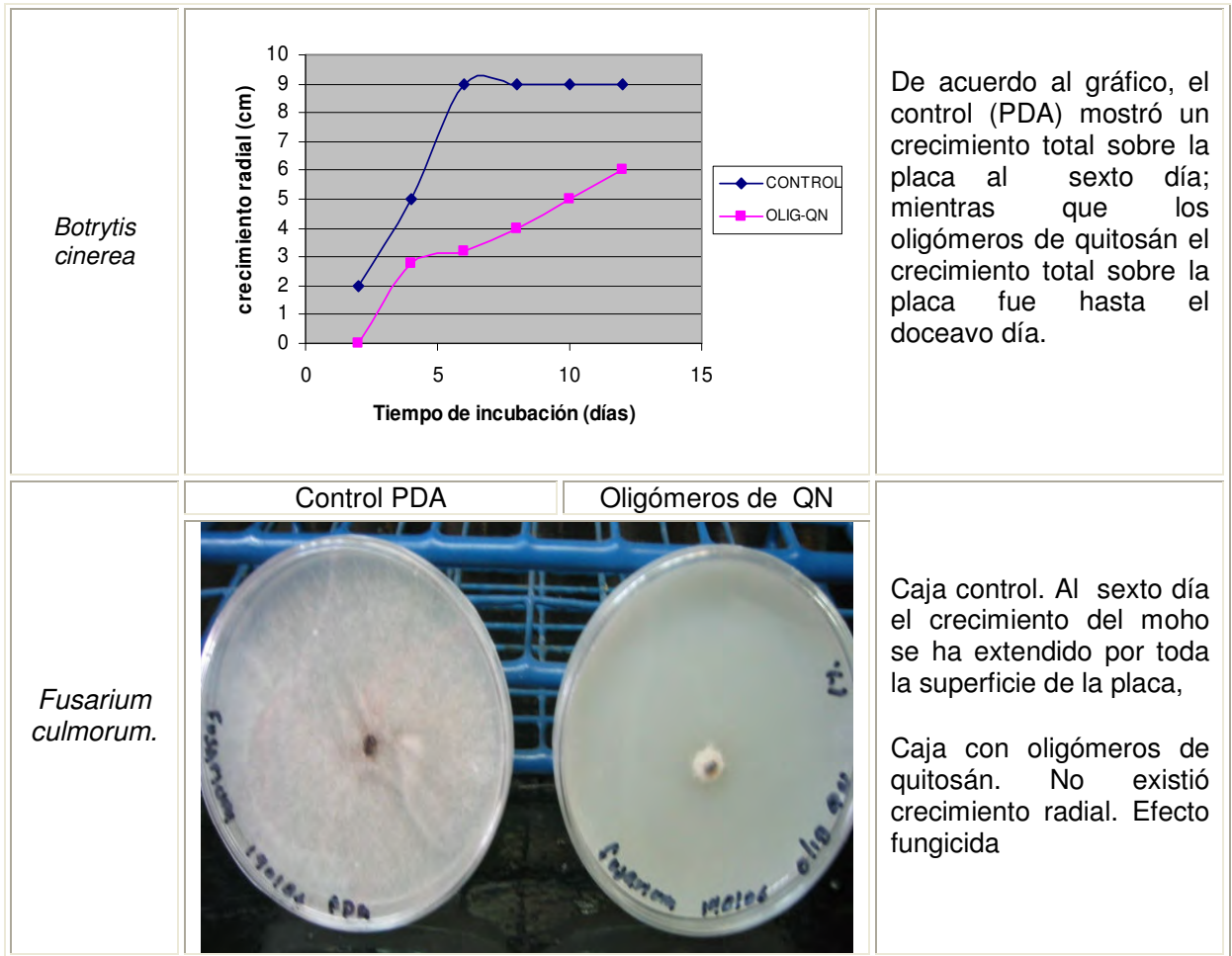


Figura N°19. Crecimiento de hongos patógenos en placas agar – oligómeros de quitosán a concentraciones de 0.8 y 1%. Imágenes tomadas a los 15 días de inocular las placas. a) *Phytophthora infestans*, b) *Rhizopus stolonifer*, c) *Botrytis cinerea*, d) *Alternaria solani* y e) *Fusarium culmorum*.

4.2.5 Las placas agar- oligómeros de quitosán al 1% se compararon con un control, el cual sólo contenía agar PDA. En la Tabla 22 se muestran los resultados obtenidos. En el caso del mohos *Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinerea*, los resultados se presentan en gráficos en donde se observó el efecto del tiempo de incubación de placas agar-oligómeros de quitosán comparado con el control sobre el crecimiento radial del patógeno. En los mohos *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans* y *Fusarium culmorum* sólo se muestran las imágenes en donde se observó el efecto fungicida de los oligómeros de quitosán al 1% comparados con el control.

Tabla Nº 22 PRUEBAS “IN VITRO” OLIGOMEROS DE QUITOSÁN AL 1% COMPARADOS CON EL CONTROL

Moho	 <p>En el gráfico se observó que el control (PDA) presentó un crecimiento total sobre la placa (9cm) desde quinto día. En los oligómeros de quitosán el crecimiento del moho se retrasó, ya que hasta el doceavo día el crecimiento radial llegó a los 9cm. Efecto fungistático</p>	Observaciones				
<p><i>Rhizopus stolonifer</i></p>	<p>En el gráfico se observó que el control (PDA) presentó un crecimiento total sobre la placa (9cm) desde quinto día. En los oligómeros de quitosán el crecimiento del moho se retrasó, ya que hasta el doceavo día el crecimiento radial llegó a los 9cm. Efecto fungistático</p>					
<p><i>Alternaria solani</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="448 812 816 842">Control PDA</th> <th data-bbox="821 812 1125 842">Oligómeros de QN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="448 848 816 1239">  </td> <td data-bbox="821 848 1125 1239">  </td> </tr> </tbody> </table> <p>Caja Control. Al sexto día el crecimiento del moho es total sobre la placa de PDA</p> <p>Caja con oligómeros de quitosán. No existió crecimiento radial. Efecto fungicida</p>	Control PDA	Oligómeros de QN			<p>Caja Control. Al sexto día el crecimiento del moho es total sobre la placa de PDA</p> <p>Caja con oligómeros de quitosán. No existió crecimiento radial. Efecto fungicida</p>
Control PDA	Oligómeros de QN					
						
<p><i>Phytophthora infestans</i></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="448 1257 816 1287">Control PDA</th> <th data-bbox="821 1257 1125 1287">Oligómeros de QN</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="448 1293 816 1713">  </td> <td data-bbox="821 1293 1125 1713">  </td> </tr> </tbody> </table> <p>Caja control. Al octavo día el crecimiento del moho se ha extendido por toda la superficie de la placa</p> <p>Caja con oligómeros de quitosán. No existió crecimiento radial. Efecto fungicida</p>	Control PDA	Oligómeros de QN			<p>Caja control. Al octavo día el crecimiento del moho se ha extendido por toda la superficie de la placa</p> <p>Caja con oligómeros de quitosán. No existió crecimiento radial. Efecto fungicida</p>
Control PDA	Oligómeros de QN					
						



Los oligómeros de quitosán al 1% presentaron un efecto fungicida en los mohos *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans* y *Fusarium culmorum*, ya no existió crecimiento radial, mientras que en los controles el crecimiento fue total sobre la placa de PDA. En el caso del mohos *Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinerea*, los oligómeros de quitosán al 1% mostraron en las gráficas, un crecimiento que se ve inhibido en los doce días de incubación; en cambio los controles mostraron un crecimiento radial, sobre la totalidad de la placa al quinto y sexto día. Con los resultados obtenidos se realizaron las pruebas “*In vivo*” de acuerdo a la metodología planteada.

4.3 Objetivo particular 3

4.3.1 *Actividad 3.2 Aplicación del recubrimiento por inmersión*

Se aplicó el recubrimiento por inmersión de una solución de oligómeros de quitosán al 1%; a un lote de 20 jitomates. Se dejaron secar por una hora, los jitomates cubiertos presentaron una apariencia brillante (figura 20).



Figura 20. Fruto cubierto con oligómeros de quitosán

4.3.2 *Actividad 3.3 Inoculación por contacto de jitomates sanos*

En la tabla 23 se muestra, el sitio en donde se aplicó el inóculo

Tabla N° 23. SITIO DE APLICACIÓN DEL INÓCULO A JITOMATES SANOS

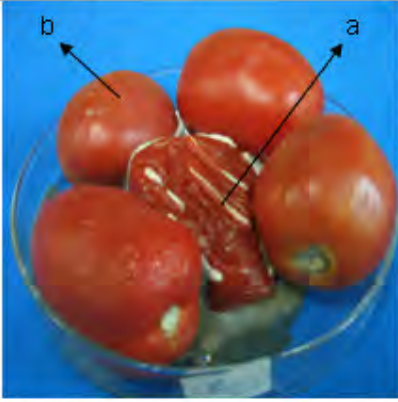

Inoculación con:	Sitio de aplicación
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Zona ecuatorial
<i>Alternaria solani</i>	Extremo peduncular
<i>Phytophthora infestans</i>	Extremo peduncular
<i>Botrytis cinerea</i>	Zona ecuatorial
<i>Fusarium culmorum</i>	Zona ecuatorial

La inoculación con *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium culmorum*; se aplicó en la zona ecuatorial ya que esta infección aparece en toda la superficie del fruto (Namesny, 1999). En el caso de *Alternaria solani* y *Phytophthora infestans* el inóculo se aplicó en el extremo peduncular ya que la infección se encuentra desde las hojas y se extiende hasta el extremo peduncular del fruto (Carrillo L., 2006; MacNab y Sherf, 1983).

4.3.3 Pruebas “In vivo” actividad 3.3 Exposición de jitomates cubiertos, frente a jitomates infectados con los mohos patógenos identificados.

4.3.4 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate inoculado con el patógeno *Rhizopus stolonifer*, en la tabla 24 se muestran los frutos sanos y los frutos contaminados al 7° y 12° día.

Tabla N° 24. *Rhizopus stolonifer* “In vivo”

Cuatro jitomates cubiertos frente a uno contaminado T 23 °C				
Moho	7° día		12° día	
	sanos	infectados	sanos	infectados
	3	1	3	1
<i>Rhizopus stolonifer</i>				
	(a) fruto al que se le provocó la infección (b) fruto infectado			



El fruto al que se le provocó la infección con el moho *Rhizopus stolonifer* (a) contaminó únicamente a un fruto (b), durante los doce días de exposición; mientras que los tres frutos restantes permanecieron sanos. El fruto al que se le provocó la infección(a) presentó tejidos arrugados, exudado de líquido y presencia de micelio aéreo color negro además de olor a fermentación; síntomas característicos de la podredumbre húmeda causada por el patógeno *Rhizopus stolonifer* (Namesmy A., 1999).

El fruto infectado (b) de acuerdo a la tabla 24, presentó la infección desde el 7º día en la zona ecuatorial, ya al doceavo día la infección era total sobre el fruto ya que presentó tejidos completamente arrugados y micelio aéreo. La penetración del moho se originó posiblemente por una lesión en el fruto que al aplicar el recubrimiento no se selló totalmente. Los frutos cubiertos con oligómeros de quitosán al 1% que permanecieron sanos, sólo presentaron una apariencia arrugada, debido a la pérdida de peso el fruto. Esto se debió posiblemente a la concentración que se utilizó, ya que la solución de oligómeros de quitosán presentó una baja viscosidad que al aplicarla en los frutos se obtuvo una mayor permeabilidad de vapor de agua.

González *et al*, 2005; concluyen que al aumentar la concentración, aumenta la viscosidad; obteniendo una menor permeabilidad de agua ya que al aplicar el recubrimiento se forma una barrera alrededor del fruto, la cual impide que se pierda vapor de agua.

4.3.5 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate infectado con el patógeno *Alternaria solani*. En la tabla 25 se muestran los frutos sanos y los frutos contaminados al 7° y 12° día.

Tabla N° 25. *Alternaria solani* "In vivo"



Cuatro jitomates cubiertos frente a uno contaminado T 23 °C				
Moho	7° día		12° día	
	sanos	infectados	sanos	infectados
	4	0	4	0
<i>Alternaria solani</i>				

El efecto fungicida de los oligómeros de quitosán al 1% se mantuvo durante los 12 días de exposición al patógeno, ya que los cuatro frutos expuestos permanecieron totalmente sanos. Esto se debió posiblemente, a las características de los oligómeros de quitosán ya que debido a su menor tamaño existió una mayor exposición frente al patógeno (Kittur S. y col., 2005) evitando así su crecimiento. *Alternaria solani* aparece frecuentemente en el extremo peduncular ó a través de heridas en la piel, por lo que los frutos expuestos al patógeno no presentaron heridas impidiendo así, la entrada del inóculo. El fruto al que se le provocó la infección (tabla 25), presentó micelio con coloración verdosa. El efecto fungicida se mantuvo "In vitro" e "In vivo" por 12 días.

El jitomate es frecuentemente atacado por *Alternaria*; aunque los controles químicos están disponibles para esta enfermedad, su uso ha sido restringido por la salud, utilizar los oligómeros de quitosán al 1% puede ser sin duda, la mejor opción para el control de la enfermedad provocada por el patógeno y así aumentar la vida poscosecha del fruto. Los oligómeros de quitosán al 1% evitaron el crecimiento del moho *Alternaria solani* al 100%.

4.3.6 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate infectado con el patógeno *Phytophthora infestans*, en la tabla 26 se muestran los frutos sanos y los frutos contaminados al 7° y 12° día.

Tabla N° 26. *Phytophthora infestans* "In vivo"



Cuatro jitomates cubiertos frente a uno contaminado T 23 °C				
Moho	7° día		12° día	
	sanos	infectados	sanos	infectados
	4	0	4	0
<i>Phytophthora infestans</i>				
	(a) fruto al que se le provocó la infección			

El efecto fungicida de los oligómeros de quitosán al 1% se mantuvo durante los 12 días de exposición al patógeno, ya que los frutos no mostraron ningún signo de contaminación; sólo presentaron piel arrugada debido a la pérdida de peso durante el tiempo de exposición. Esto se le atribuyó a la concentración de oligómeros de quitosán utilizada, ya que la barrera formada alrededor del fruto permitió la pérdida de vapor de agua. El fruto al que se le provocó la infección(a), mostró el micelio blanquecino del moho, *Phytophthora infestans* produce la infección en el cáliz (Namesmy, 1999).

Los oligómeros de quitosán al 1% presentaron un efecto fungicida “*In vitro e In vivo*”. *Phytophthora infestans* aparece desde el campo causando la pudrición de raíz y tallo, posteriormente aparece en el almacenamiento; la aplicación de oligómeros de quitosán como operación poscosecha, extendería la vida útil del jitomate.

4.3.7 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate infectado con el patógeno *Alternaria solani*, en la tabla 27 se muestran los frutos sanos y los frutos contaminados al 7° y 12° día.

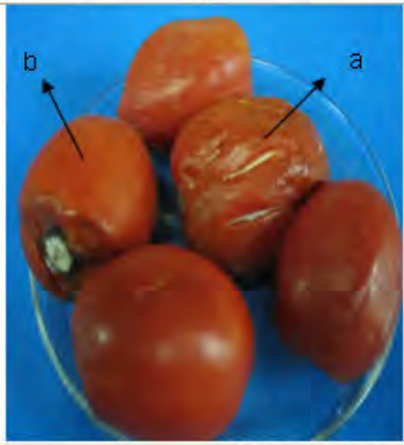
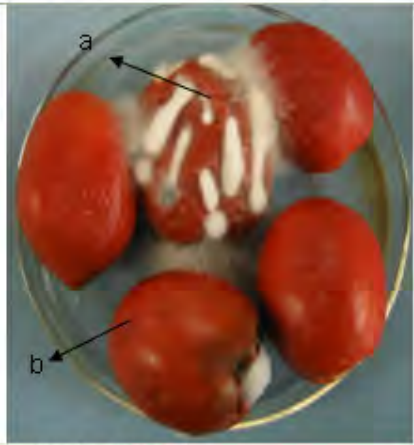
Tabla Nº 27 *Botrytis cinerea* “*In vivo*”

Cuatro jitomates cubiertos frente a uno contaminado T 23 °C				
Moho	7° día		12° día	
	sanos	infectados	sanos	infectados
	4	0	4	0
<i>Botrytis cinerea</i>				
	(a) fruto al que se le provocó la infección			

Los oligómeros de quitosán al 1% en las pruebas “*In vivo*” presentaron un efecto fungicida, ya que los cuatro jitomates expuestos permanecieron sanos durante los doce días. En las pruebas “*In vitro*” los oligómeros presentaron un efecto fungistático, ya que sólo inhibían el crecimiento del moho, en las pruebas “*In vivo*” se esperaba un resultado similar, sin embargo ningún fruto se contaminó; esto se debió a que el fruto al que se le provocó la infección tabla 27 (a), no desarrolló totalmente los síntomas de la enfermedad, ya que no hubo desarrollo de micelio color negro ni exudado de líquido, esto fue determinante para que los demás frutos no se contaminaran.

4.3.8 Exposición de cuatro jitomates sanos, frente a un jitomate infectado con el patógeno *Fusarium culmorum*, en la tabla 28 se muestran los frutos sanos y los frutos contaminados al 7° y 12° día.

Tabla N° 28. *Fusarium culmorum* "In vivo"

Cuatro jitomates cubiertos frente a uno contaminado T 23°C				
Moho	7° día		12° día	
	sanos	infectados	sanos	infectados
	3	1	3	1
<i>Fusarium culmorum</i>				
	(a) fruto al que se le provocó la infección (b) fruto infectado			

Desde el 5° día uno de los cuatro frutos cubiertos con oligómeros de quitosán mostró tejidos arrugados e infección en el pedúnculo (b); mientras que los tres restantes se mantuvieron sanos. El fruto infectado (b) mostró contaminación en el extremo peduncular, mostrando micelio blanquizco y exudado de líquido. El fruto al que se le provocó la infección (a) presentó los síntomas característicos propios de la infección, como son micelio blanquizco cremoso y una podredumbre húmeda. *Fusarium culmorum* presentó un efecto fungicida "In vitro" el efecto no se mantuvo en las pruebas "In vivo". Debido a que este fitopatógeno penetra sólo por heridas, por lo que al aplicar el recubrimiento a los frutos, posiblemente la película no selló pequeñas fisuras en el fruto, que permitieron la entrada del inóculo del moho. Los oligómeros de quitosán al 1% evitaron la contaminación de tres frutos a pesar de estar expuestos con las esporas del moho.

4.3.9 COMPARACIÓN DEL EFECTO “*In vitro*” e “*In vivo*”

Al realizar la comparación entre ambos, no se observó el mismo efecto; ya que en el caso de las pruebas “*In vitro*” con oligómeros de quitosán al 1% los mohos patógenos *Rhizopus stolonifer*, y *Botrytis cinerea* presentaron un efecto fungistático; mientras que los hongos *Phytophthora infestans*, *Alternaria solani* y *Fusarium culmorum* se inhibieron totalmente. En las pruebas “*In vivo*” con oligómeros de quitosán al 1% *Rhizopus stolonifer* y *Fusarium culmorum* mostraron un efecto fungistático; mientras que *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Alternaria solani* quedaron totalmente inhibidos. En la tabla 29 se muestra el resumen de las pruebas “*In vitro*” e “*In vivo*”.

Tabla N° 29 Resumen “*In vitro*” e “*In vivo*”

Oligómeros de quitosán al 1%		
Moho	“ <i>In vitro</i> ”	“ <i>In vivo</i> ”
Efecto		
<i>Rhizopus stolonifer</i>	fungistático	fungistático
<i>Alternaria solani</i>	fungicida	fungicida
<i>Phytophthora infestans</i>	fungicida	fungicida
<i>Botrytis cinerea</i>	fungistático	fungicida
<i>Fusarium culmorum</i>	fungicida	fungistático

Esto se debió probablemente a las características que presentó la solución de oligómeros de quitosán al 1%, ya que mostró una baja viscosidad que se le atribuye al bajo peso molecular de los oligómeros (Aguilar *et al*, 2004), al aplicar el recubrimiento a los jitomates, la película posiblemente no selló aquellas lesiones o fisuras en la piel del fruto, provocando la entrada del inóculo de los fitopatógenos ó también se puede suponer que al trabajar con una solución de oligómeros de bajo peso molecular, se formó una película muy delgada provocando a su vez una pérdida de peso en los frutos; ya que presentaron tejidos arrugados.

En las pruebas "*In vitro*" no intervienen las características del fruto ya que, sólo nos sirvió como un dato de apoyo y tener una idea de con cual concentración se puede formar la película, para inhibir el crecimiento de los mohos identificados. Mientras que en las pruebas "*In vivo*" intervienen las características del fruto, tales como la pérdida de peso y color; además de las características de la película.

En la figura 21, se observan los frutos cubiertos que fueron expuestos a los mohos patógenos, a los 12 días de exposición. Los frutos se mostraron sanos, en la parte interna y se observó la coloración roja, típica del estado de madurez en que se encuentran. Los oligómeros de quitosán sin duda, alargan la vida útil del jitomate por un período de 12 días a temperatura ambiente, ya que inhiben el crecimiento de los mohos que comúnmente atacan al jitomate en la etapa poscosecha. El trabajo realizado nos muestra las bases para realizar futuros proyectos, teniendo como referencia los resultados "*In vitro*" e "*In vivo*"; se requiere modificar la concentración de los oligómeros de quitosán para obtener el efecto fungicida sobre los mohos que comúnmente atacan la vida poscosecha del jitomate. Además de evaluar los parámetros físicos y químicos del fruto que presenta durante el período de almacenamiento.



Figura N° 21. Frutos cubiertos con oligómeros de quitosán al 1%

5. CONCLUSIONES

- ✚ A partir de jitomates enfermos se realizó el aislamiento, purificación e identificación de cinco cepas: *Rhizopus stolonifer*, *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium culmorum*, causantes de las podredumbres poscosecha que atacan al jitomate.
- ✚ Se resembraron las cinco cepas en medios diferentes y se observó que *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans* no presentan cambios en sus estructuras; mientras que *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea* y *Fusarium culmorum* presentaron cambios en coloración, forma de crecimiento y tipo de micelio, debido a la composición de los nutrientes de los medios de cultivo.
- ✚ Para la identificación de las cepas aisladas, se requirió la descripción completa del patógeno en la literatura consultada.
- ✚ En las pruebas “*In vitro*” con quitosán de alto peso molecular, presentó un efecto fungicida sólo en los mohos *Phytophthora infestans* y *Fusarium culmorum*. Mientras que en los mohos *Rhizopus stolonifer*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani*, el quitosán no mostró efecto fungicida ni fungistático.
- ✚ Los oligómeros de quitosán obtenidos por radiación bajo condiciones en microondas, presentaron una mayor actividad fungicida y fungistática que el quitosán de alto peso molecular, frente a los principales mohos que atacan la vida poscosecha del jitomate, que tiene como consecuencia prolongar la vida útil del jitomate.
- ✚ En las pruebas “*In vitro*” los oligómeros a la concentración de 1% presentaron un efecto fungicida frente a las cepas identificadas como *Alternaria solani*, *Phytophthora infestans* y *Fusarium culmorum* mientras que con las cepas *Rhizopus stolonifer* y *Botrytis cinerea*, presentaron un efecto fungistático.

- ✚ En las pruebas “*In vivo*” se decidió recubrir los frutos en el estado de madurez rosado, al término de 12 días los frutos desarrollaron la coloración roja, típica del estado de madurez rojo maduro.
- ✚ En las pruebas “*In vivo*” se inhibieron totalmente los mohos *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Alternaria solani* mientras que en los mohos *Rhizopus stolonifer* y *Fusarium culmorum* se observó un efecto fungistático.
- ✚ Los frutos cubiertos con oligómeros de quitosán, presentaron tejidos arrugados debido a la pérdida de peso, durante los 12 días de exposición. Esto se puede mejorar realizando algunos ajustes al recubrimiento, como aumentar aún más la concentración, para crear una película de mayor grosor sin modificar las características físicas, fisicoquímicas y químicas del jitomate.
- ✚ El uso de películas de oligómeros de quitosán es una alternativa viable para mantener la calidad y aumentar la vida de anaquel del jitomate.

6. RECOMENDACIONES

Al llevar a cabo la realización del proyecto, sin duda surgen nuevas cuestiones o variables que pueden dar inicio a nuevos proyectos:

- ✚ Manejar otra variedad del jitomate ó en diferentes estados de madurez para evaluar si se tiene el mismo efecto antifúngico de los oligómeros de quitosán al 1%

- ✚ Trabajar individualmente con cada moho, variando las concentraciones de los oligómeros de quitosán.

- ✚ Recubrir los frutos y someterlos en diferentes condiciones almacenamiento.

- ✚ Combinar el recubrimiento con algún tipo de cera y observar el efecto y así descartar el uso de fungicidas.

- ✚ Realizar pruebas físicas, químicas y fisicoquímicas a frutos cubiertos durante el período de almacenamiento, para observar si el recubrimiento no modifica sus características.

- ✚ Obtener por otro método la hidrólisis del quitosán, para obtener oligómeros de diferente peso molecular.

7. REFERENCIAS CONSULTADAS

1. Alexopoulos J. C. (1985) "Introducción a la Micología". Ediciones OMEGA. Barcelona, España. pp. 577,564,356,209,175.
2. Agrios G. (1995). "Fitopatología" Noriega editores, México. pp.274-431.
3. Aguilar G. C.; Contreras E. C.; Loredó T. A.; Reyes V.L. y Rodríguez H. R. (2004) "Producción de oligosacáridos de quitosán por vía enzimática y su capacidad fungistática en tortillas de maíz" Universidad Autónoma de Coahuila. México.
4. Ávila S. y Sosa D. (2001) "Manual ilustrado de Micología" TESIS: Químico Farmacéutico Biólogo. FES-Cuautitlán. UNAM. México. pp.49-50,53.
5. Bhadkara M. V. (1997). "Mechanisms of antifungal action of Chitosan in post-harvest tomato *Alternaria* interaction inhibiting the progress of Blackmold" Department of Food Science and Nutrition and Horticultural Research Center. Lava University. Canada. 8, (1): 33-43.
6. Bautista B., Hernández L., Trejo E. y Melo G. (2005) "Effect of Chitosan on in vitro Development and Morphology of Two Isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. Revista Mexicana de Fitopatología 23: 62-67.
7. Cabrera J. y Van P. (2005) "Preparation of chitooligosaccharides with degree of polymerization higher than 6 by acid or enzymatic degradation of Chitosan" Biochemical Engineering Journal. 25:165-172.

-
8. Carrillo L. (2006) "Los Hongos de los Alimentos y forrajes". Publicación electrónica. Disponible en www.unsa.edu.ar/matbib/hongos. Accesado en diciembre 2006.
 9. Cheah L.H. (1997) "Chitosan coating for inhibition of *Sclerotinia* rots of carrots" New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science. 25: 89-92.
 10. Cheftel J. C. (1986). "Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos". Volumen 1. Editorial Acribia. Zaragoza, España. pp. 135-138.
 11. Domard, A.; Rinaudo, M.; Terrasin, C. (1986) International Journal of Biological Macromolecules 8:105-107
 12. El Ghaouth, A.; Arul, J.; Grenier, J. y Asselin A. (1992) "Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits. Phytopathology. 82, (44): 398-402.
 13. Enfermedades del Tomate. Publicación electrónica. Disponible en <http://vegetablemdonline.ppath.cornell>. Accesado en Enero 2007.
 14. Fuentes O. L. (2001) "Postharvest performance of tomato with tolerant elicitors" Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coah. México. pp. 192-196.
 15. Fornes F. (2004) "Low Concentrations of Chitosan Coating reduce water spot incidence and delay peel pigmentation of Clementine mandarin fruit" Universidad Politécnica de Valencia, España. Journal of the Science of Food and Agriculture. 105-85, (7):1105-1112.

-
16. Gallegos G. D, y Osnaya S. F. (1997). "Manejo de cosecha y postcosecha para la comercialización de frutas y hortalizas. en fresco". TESIS: Ingeniero en alimentos FES-Cuautitlán. UNAM. México. pp.135, 146,166.
 17. Gómez. P. K. (2000) "Efecto de la temperatura de almacenamiento y uso de cera sobre la actividad respiratoria y algunos atributos de calidad de frutos de parchita *Pasiflora edulis* f. *flavicarpa* Degener cv Maracuya". Universidad Rómulo Gallegos. Venezuela. 17:1-9
 18. González G., Aguilar I., Monroy G., Díaz C. y Ayala Z. (2005) "Cubiertas comestibles de quitosano. Una alternativa para prevenir el deterioro microbiano y conservar la calidad de papaya fresca cortada" Dirección de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Hermosillo Sonora, México. pp 121-133
 19. Hirano, S. y Nagao, N. (1989). Effect of chitosan, pectic acid, lysosyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. Agricultural and Biological Chemistry. 53,(11):3065-3066
 20. Información oportuna de Mercados. (2002).Publicación electrónica <http://www.siea.sagarpa.gob.mx/InfOMer/analisis/antomate.html>.
 21. Jaramillo V. (2003)"Monografía sobre *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary" Universidad Nacional de Colombia, Medellín. pp. 7
 22. Kittur S.; Vishu K.; Varadaraj C. y Tharanathan R. (2005) "Chitooligosaccharides preparation with the aid of pectinase isozyme from *Aspergillus niger* and their antibacterial activity" Carbohydrate Research. 340:1239-1245.

-
-
23. Larez V. (2003) "Algunos usos del Quitosano en Sistemas Acuáticos". Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias Revista Iberoamericana de Polímeros. Mérida Venezuela. 4, (2):91-109
24. Larez V. (2006) "Avances en Química", Universidad de los Andes, Facultad de Ciencias Revista Iberoamericana de Polímeros. 1, (2):15-21. Artículo divulgativo www.saber.ula.ve/avancesenquimica
25. Lim S. H. y Hudson S. (2003). "Review of chitosan and its derivatives as antimicrobial agents and their uses as textile chemicals". Journal of Macromolecular Science. 4, (2):223-241.
26. Levine I. (1996). "Fisicoquímica" Ediciones Mc Graw-Hill. cuarta edición volumen 1. p.721.
27. Maron S. y Prutton C. (1999) "Fundamentos de fisicoquímica". Editorial Limusa. México. p. 971.
28. MacNab. A. y Sherf A. (1983) "Identifying Diseases of Vegetables" Publisher by the Pennsylvania State University. Pp. 1-6.
29. Matsushashi S. y Kume T. (1997). Enhancement of antimicrobial activity of chitosan by irradiation. Journal Science Food Agricultural. 73, (2): 237-241.
30. Morales Z. y Salazar R. (2001) "Estimación del efecto antifúngico de una película de quitosán sobre los parámetros de calidad y grado de madurez de la fresa Fragaria vesca variedad solana. Durante su vida útil. TESIS: Ingeniería en Alimentos. FES- Cuautitlán. UNAM. pp. 88-92.

-
31. Morevas O. y Carbajal L (1995) "Tablas de composición de alimentos". Ediciones Pirámide. España. pp.50-21.
 32. Murillo B. J (1989). "El cultivo del jitomate en México". División de ciencias agropecuarias. UNAM, FESC. México. pp.8-20,62-68.
 33. Namesny A. (1999) "Post- recolección de hortalizas" Volumen III. Ediciones de horticultura. España. pp. 241-278.
 34. Pantastico B. E. (1979). "Fisiología de la Post-recolección Manejo y Utilización de Frutas y Hortalizas tropicales y subtropicales". Compañía Editorial Continental S.A. México. pp.28.
 35. Ponce B. y Rosas C. (1992) "Algunos aspectos en el manejo postcosecha del jitomate (*Lycopersicum esculentum*) de las variedades bola" TESIS: Ingeniero en Alimentos FES-Cuautitlán. UNAM. México. pp 45-62,68.
 36. Ponnachanna C. S. (2003). "Quality of mango fruits during storage: effect of synthetic and eco-friendly films" Journal of the Science of Food and Agriculture. 84, (8):818-824.
 37. Rong X y Song L. (2005) "Acid Hydrolysis of Chitosan to oligómeros under Microwave irradiation" Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao China. Science Direct. 340:2150-2153.
 38. Salgado M.; Pulido M.; Hernández M y Bruzón O. (2005). "Empaque en la conservación poscosecha en híbridos de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill*)" Temas de Ciencia y Tecnología. Cuba. 9, (25):7-16.
 39. Sigurd F. y Broggers B. (1953) "Practical Mycology - Manual for Identification of Fungi" Oslo, Norway. pp. 14-116

-
40. SECOFI. (2006) <http://www.economia-noms.gob.mx/>.
41. Secretaría de economía (1997). Dirección General de Normas, NMX-FF-031-1997-SCFI. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano hortalizas frescas tomate (*Lycopersicon esculentum mill.*) especificaciones. <http://www.economia.gob.mx/work/normas/nmx/nmx-ff-031-1997-scfi>
42. Trevor V. (2002) "Postharvest Technology" Department of Vegetable Crops, University of California, USA. 15,(3):279-292
43. Troncoso R. y Sánchez A. (2004). "Effect of benzil isothiocyanate on tomato fruit infection development by *Alternaria alternata*" Dirección de Tecnología de Alimentos de Origen Vegetal, Sonora, México. Journal of the Science of Food and Agriculture. 10,(002):321-329
44. Wills R.H y Lee T. H. (1977). "Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas Post- recolección". Editorial Acribia, Zaragoza España. pp.18-27.

ANEXOS

ANEXO 1

Preparación de medios de cultivo

1. Agar Papa Dextrosa PDA

Composición por litro

Papa 200g

Dextrosa 20g

Agar bacteriológico 15g

- Disolver 39 g de agar Papa Dextrosa en 1L de agua destilada.
- Ajustar pH 5.6 ± 0.2
- Esterilizar en el autoclave durante 15 minutos a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Desinfectar el área de trabajo con fenol y se colocar dos mecheros en el área, para mantener condiciones estériles. Dejar enfriar, y vaciar en cajas petri estériles y dejar solidificar.

2. Agar Czapek

Composición por litro

Sacarosa 30g

Nitrato de sodio 2g

- Disolver 49 g de agar Czapek en 1L de agua destilada
- Ajustar pH 7.3
- Esterilizar en el autoclave durante 15 minutos a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Desinfectar el área de trabajo con fenol y se colocar dos mecheros en el área, para mantener condiciones estériles. Dejar enfriar, y vaciar en cajas petri estériles y dejar solidificar.

3. Agar Sabouraud

Composición por Litro

Peptona especial 10

D (+) –glucosa 40

Agar – agar 15

- Disolver 65 g de agar Sabouraud en 1L de agua destilada.
- Se clarifica el medio
- Ajustar pH 5.6 ± 0.1
- Esterilizar en el autoclave durante 15 minutos a 121°C

Desinfectar el área de trabajo con fenol y se colocar dos mecheros en el área, para mantener condiciones estériles. Dejar enfriar, y vaciar en cajas petri estériles y dejar solidificar

4. Agar jitomate

Material utilizado

Triturador

Agar bacteriológico

Matraz Erlenmeyer 500ml

Jitomates sanos

Autoclave

Mecheros

Probetas

- Lavar 700 g. de jitomate "Saladett" en un estado de madurez rojo o maduro, se picaron en pequeños trozos, posteriormente se realizó un puré.
- Obtener 450ml de puré y aforar hasta 1 L con agua destilada y se adicionaron 15g de agar bacteriológico previamente disuelto en 200ml de agua. Se mezclaron perfectamente, se ajustó el pH a 5.6 ± 0.2
- Esterilizar en el autoclave durante 15 minutos a 121°C

Desinfectar el área de trabajo con fenol y se colocar dos mecheros en el área, para mantener condiciones estériles. Dejar enfriar, y vaciar en cajas petri estériles y dejar solidificar

ANEXO 2

Preparación de las Placas agar- quitosán

Agar Papa Dextrosa PDA

Preparar agar PDA de acuerdo al anexo 1, reduciendo la cantidad de agua destilada al 50%

Quitosán/ oligómeros de quitosán

- Disolver en 500 ml el quitosán ó oligómeros de quitosán a la concentración que se requiera.
- Disolver al 2% con ácido acético.
- Ajustar pH 5.5
- Esterilizar en el autoclave durante 15 minutos a 121 °C

Mezclar ambas soluciones preparadas, evitando el enfriamiento de las mismas.

Desinfectar el área de trabajo con fenol y se colocar dos mecheros en el área, para mantener condiciones estériles. Dejar enfriar, y vaciar en cajas petri estériles y se dejan solidificar.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

Número del Capítulo	Página
1 Objetivo y campo de aplicación	1
2 Referencias	1
3 Definiciones	2
4 Clasificación y designación del producto	4
5 Especificaciones	4
6 Muestreo	12
7 Métodos de prueba	12
8 Marcado, etiquetado, empaque y embalaje	12
9 Apéndice A	15
10 Bibliografía	19
11 Concordancia con normas internacionales	19
Apéndice Informativo	20

PRODUCTOS ALIMENTICIOS NO INDUSTRIALIZADOS PARA CONSUMO HUMANO -
HORTALIZAS FRESCAS - TOMATE - (*Lycopersicon esculentum Mill.*) - ESPECIFICACIONES

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma mexicana establece las especificaciones mínimas de calidad que deben cumplir los tomates o jitomates (*Lycopersicon esculentum Mill.*) de la familia de las Solanáceas, en todas sus variedades, para ser consumidos en estado fresco y comercializados en territorio nacional, después de su acondicionamiento y empaçado. Se incluyen los tomates destinados para el procesamiento industrial, así como sus esquilmos o rezaga (ver Apéndice B).

NOTA - En algunas regiones de la República Mexicana el tomate es conocido como jitomate.

2 REFERENCIAS

La presente norma se complementa con la siguiente norma oficial mexicana y las siguientes normas mexicanas vigentes:

NOM-030-SCFI Información comercial - Declaración de cantidad en la etiqueta - especificaciones.

NMX-FF-006 Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - Fruta fresca - Terminología.

NMX-FF-009 Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - Fruta fresca - Determinación del tamaño en base al diámetro ecuatorial.

NMX-Z-012/1 Muestreo para la inspección por atributos-Parte 1: Información general y aplicaciones.

NMX-Z-012/2 Muestreo para la inspección por atributos - Parte 2: Métodos de muestreo, tablas y gráficas.

NMX-Z-012/3 Muestreo para la inspección por atributos -Parte 3: Regla de cálculo para la determinación de planes de muestreo.

NMX-FF-031-1997-SCFI

3 DEFINICIONES

Para efectos de esta norma deben consultarse las definiciones establecidas en la norma mexicana NMX-FF-006 (ver 2 Referencias), además de complementarse con lo indicado a continuación:

3.1 Algo suave

Cuando el tomate no es áspero o con protuberancias.

3.2 Apariencia

Aspecto externo del tomate que denota un color, forma y tamaño normales, característicos del tipo de tomate (tipo bola o tipo alargado como la variedad saladette).

3.3 Bien desarrollado

Cuando el tomate manifiesta un crecimiento normal. Los tomates con protuberancias o aquellos que contienen pulpa seca y espacios abiertos no son considerados como "bien desarrollados".

3.4 Bien formado

Cuando el tomate no presenta deformación física de acuerdo a la forma típica de la variedad; para el tipo bola debe ser un fruto oblongo simétrico, siendo mayor su diámetro ecuatorial que su diámetro polar; para el tomate tipo alargado su forma es oblonga alargado simétricamente, siendo mayor su diámetro polar que su diámetro ecuatorial.

3.5 Bofo (fofo)

Cuando el tomate por sus espacios internos vacíos cede fácilmente a una presión ligera manual.

3.6 Coloración

Se refiere a la manifestación de color que puede presentar el tomate en sus dos tipos (bola y alargado), tanto interna como externamente. Este factor se asocia con la madurez del producto y puede presentarse dentro de la escala de color indicada en el inciso 5.3.2.

3.7 Daño

Cuando el tomate presenta un defecto, el cual disminuye su apariencia o su calidad comestible (ver tabla 2).

3.8 Daño muy severo

Cuando el tomate presenta un defecto, el cual disminuye muy seriamente su calidad o apariencia (ver tabla 2).

3.9 Daño severo

Cuando el tomate presenta un defecto el cual disminuye seriamente su apariencia o calidad comestible (ver tabla 2).

3.10 Enteros

Cuando los tomates están exentos de mutilación o golpes que alteren su integridad.

3.11 Flojo

Cuando el tomate presenta un exceso de flacidez por magulladuras o demasiado maduro.

3.12 Forma

Los tomates deben presentar la forma típica de la variedad, misma que está en función de los tipos cultivados en México, el tipo bola y el tipo alargado (ver inciso 5.3.1).

3.13 Homogeneidad

Cuando los tomates son similares en tamaño, forma, color y grado de madurez.

3.14 Limpio

Cuando el tomate está prácticamente libre de tierra y otras materias extrañas.

3.15 Madurez

Indica el estado de desarrollo alcanzado por el fruto, es decir, cuando ha alcanzado la madurez fisiológica y el estado de desarrollo que le asegura alcanzar un completo proceso de maduración comercial. Se considera tierno, cuando el fruto aún está en etapa de crecimiento y no ha alcanzado la madurez comercial.

3.16 Malformado

Cuando el tomate difiere de su forma típica de la variedad (la forma típica del tomate tipo bola debe ser un fruto oblongo simétrico y para el tipo alargado oblongo alargado simétricamente; se considera malformado aquel fruto que tiene forma de riñón).

3.17 Poco áspero

Cuando el tomate presenta protuberancias o ranuras leves.

3.18 Sanos

Cuando los tomates están libres de enfermedades o defectos severos que afecten su calidad.

3.19 Tiernos

Son aquellos tomates cortados antes de su punto sazón, por lo que no alcanza su madurez fisiológica.

3.20 Tomate

El fruto carnoso, oblongo u ovalado, de color verde a rojo, succulento y fragante, de la planta de tallos rastreros, perteneciente a la familia de las Solanáceas, género y especie (*Lycopersicon esculentum*).

4 CLASIFICACIÓN Y DESIGNACIÓN DEL PRODUCTO.

4.1 Clasificación

El producto objeto de esta norma se clasifica en los grados de calidad siguientes:

México 1

México 2

México 3

NOTA- Además existe la combinación entre los grados México 1 y México 2, la cual se especifica en el inciso 5.7.3.3.

4.2 Designación

El tomate en sus tres grados de calidad, se designa en dos tipos: bola y alargado.

5 ESPECIFICACIONES

El tomate objeto de esta norma, debe cumplir con las especificaciones siguientes:

5.1 Requerimientos mínimos

En todos los grados de calidad y sin perjuicio de las disposiciones especiales establecidas para cada una de las tolerancias admitidas, los tomates deben cumplir las siguientes especificaciones, las cuales se verifican sensorialmente.

- a) Estar enteros,
- b) De aspecto fresco,
- c) Características similares de variedad (ver inciso 5.4),
- d) Sanos interior y exteriormente; excluyendo los productos afectados de pudrición o de alteraciones que los haga no aptos para el consumo,
- e) Maduros,
- f) No sobremaduro o flojo,
- g) Limpios,
- h) Bien desarrollados,
- i) Sin daños manchados por heladas o congelación,
- j) Libres de daños por asoleado,
- k) Exentos de olor y/o sabor extraños,
- l) Exentos de humedad exterior anormal,
- m) Estar exentos de daños causados por plagas o enfermedades.

5.2 Madurez y consistencia

5.2.1 Madurez

El tomate debe presentar un punto de madurez mínimo, el punto sazón o grado de madurez fisiológico, que es cuando los frutos presentan el color, la forma, el tamaño y textura característicos de la variedad, esto se verifica sensorialmente.

5.2.2 Consistencia

En relación a su consistencia los frutos pueden ser compactos y bofos (fofos); en los primeros la placenta llena todas las cámaras o gajos y en los segundos, la placenta no llena las cámaras o gajos. Así mismo, los frutos pueden ser duros, cuando a una presión manual mantienen su forma; firmes, cuando a la misma presión sufre cierta deformación; y suaves, cuando cambia su forma.

5.3 Forma y color

5.3.1 Forma

La forma se determina por el índice obtenido de dividir el diámetro polar entre el diámetro ecuatorial. Para el tipo bola sus valores son menores a la unidad y para el tipo alargado sus valores son mayores a la unidad.

Los tomates deben presentar la forma típica de la variedad, misma que está en función del tipo de tomate.

Al evaluarse la homogeneidad del producto de acuerdo a su forma, los tomates se dividen en bien formados, razonablemente bien formados y malformados.

5.3.2 Color

La coloración que presente la epidermis o piel del tomate indica su etapa de maduración. El tomate debe presentar cualquiera de los siguientes seis colores, los cuales se verifican visualmente:

- a) Verde.- Significa que la piel del tomate está completamente verde. El color verde puede variar de verde claro a oscuro.
- b) Quebrado (verde - rosa).-Significa que hay una interrupción distinta en el color de verde hasta amarillo, rosado o rojo en no más del 10 % de la piel.
- c) Rayado (rayando).-Significa que entre el 10 % y el 30 % de la superficie del tomate muestra un cambio definido del color verde hasta amarillo, rosado o rojo, o una mezcla de éstos.
- d) Rosa.- Significa que entre el 30 % y el 60 % de la superficie del tomate, muestra un color rosado o rojo.
- e) Rojo claro.-Significa que entre el 60 % y el 90 % de la superficie tiene color rosado/rojo o rojo.
- f) Rojo.-Significa que más del 90 % de la superficie del tomate muestra color rojo.

NOTAS:

- 1-Ver apéndice B que muestra la carta de colores del tomate.
- 2-Cualquier tomate que no satisfaga los colores antes mencionados, debe considerarse como de color mixto.
- 3.-Se encuentran algunas variedades de tomate de colores poco comunes como anaranjados, amarillos, etc., que no se encuentran sujetos en esta norma.

5.4 Características similares de variedad

El tomate una vez empacado, debe presentar las características de firmeza de pulpa, color, tamaño, forma y madurez, que corresponden a la variedad indicada.

Las variedades de pulpa blanda y maduración temprana no se deben mezclar con variedades de pulpa firme y maduración intermedia o tardía, y las variedades de fruto rojo no se mezclan con variedades de color diferente.

5.5 Especificaciones de grados de calidad

5.5.1 México 1

Los tomates de este grado deben ser de calidad superior y presentar la forma, el desarrollo y coloración típicos o propios de la variedad.

Deben ser uniformes en cuanto al grado de madurez, coloración y tamaño, debiendo cumplir íntegramente con las especificaciones señaladas en el inciso 5.1, además de satisfacer los requisitos siguientes:

- a) Bien formados (típica de la variedad),
- b) Suaves,
- c) Exentos de cualquier daño.

No deben tener defectos, salvo que sean superficiales y muy leves, siempre y cuando no afecte el aspecto general del producto, calidad, conservación o presentación del mismo.

5.5.2. México 2

Este grado comprende los tomates que no pueden clasificarse en el México 1, pero que satisfacen las especificaciones sensoriales mínimas detalladas en el inciso 5.1, además de satisfacer los requisitos siguientes:

- Razonablemente bien formados.
- Ligeramente suaves.
- No presentar daños severos (ver tabla 2).

NOTA- El México Combinación, consiste en la combinación de los tomates de los grados de calidad México 1 y del México 2, de tal forma que cuando menos el 60 % de los tomates cumplan con los requerimientos del grado México 1.

5.5.3 México 3

Este grado comprende los tomates que no pueden clasificarse en los grados de calidad superiores, pero que satisfacen las especificaciones sensoriales mínimas detalladas en el inciso 5.1, además de satisfacer los requisitos siguientes:

- a) Pueden estar malformados,
- b) Ligeramente suaves,
- c) No presentar daños severos (ver tabla 2).

5.6 Especificaciones de tamaño

El tamaño de los tomates se determina con base en su diámetro ecuatorial, utilizando la norma mexicana NMX-FF-009 (ver 2 Referencias).

Los tomates en sus dos tipos (bola y alargado) se calibran de acuerdo a lo indicado en la tabla 1. Para los tomates del tipo alargado se consideran las variedades roma que son cerasyformes y piriformes comúnmente llamados "roma", "pera", "bulle", o "guaje" y saladette que es denominado "elongatum". El tamaño de estas variedades debe ser especificado conforme al diámetro mínimo y diámetro máximo expresados en milímetros, de acuerdo a la tabla 1.

TABLA 1.- Clasificación por tamaño del tomate

a.-Tipo bola

Tamaño	Diámetro en, mm (in)			
	Mínimo ¹⁾		Máximo ²⁾	
	mm	(in)	mm	(in)
Chico	54	(2 1/8)	58	(2 9/32)
Mediano	57	(2 1/4)	64	(2 17/32)
Grande	63	(2 1/2)	71	(2 25/32)
Extragrande	70	(2 3/4)	En adelante	

NOTAS:

- 1) Cuando el tomate en, posición vertical, no puede pasar por una abertura circular del diámetro designado.
- 2) Cuando el tomate, en cualquier posición, puede pasar por una abertura circular del diámetro designado.

b.- Tipo alargado

Tamaño	Diámetro en, mm (in)			
	Mínimo ¹⁾		Máximo ²⁾	
	mm	(in)	mm	(in)
Chico	38	(1 1/2)	52	(2 1/16)
Mediano	51	(2)	60	(2 3/8)
Grande	59	(2 5/16)	71	(2 13/16)
Extragrande	70	(2 3/4)	En adelante	

NOTAS:

- 1) Cuando el tomate, en posición vertical, no puede pasar por una abertura circular del diámetro designado.
- 2) Cuando el tomate, en cualquier posición, puede pasar por la abertura circular del diámetro designado.

5.7 Especificaciones de tolerancia

Las tolerancias con respecto al tamaño, color y defectos de los tomates que no cumplen con las especificaciones de los grados indicados, se determina en porcentaje de unidades o de masa sobre el total de productos contenidos en el mismo empaque, mediante el conteo de unidades o por determinación de masa (pesada) de las mismas respecto al total del empaque admitiéndose las indicadas en esta sección.

5.7.1 Tolerancia de tamaño

En cualquier lote del producto y para todos los grados de calidad, se acepta un 10 % de tomates que sean más pequeños que el diámetro mínimo especificado, o más grandes que el diámetro máximo especificado.

5.7.2 Tolerancia de color

En cualquier lote del producto y para todos los grados de calidad, se acepta un 10 % de tomates que no reúnan el color especificado, incluyendo el 5 % de tomates de color verde, siempre y cuando el color declarado no sea éste.

5.7.3 Tolerancias de defectos

5.7.3.1 México 1

a) Para defectos en punto de embarque: Se permite que el 10 % de los tomates de cualquier lote no satisfagan los requerimientos para esta clasificación, con tal de que no más de la mitad de esta tolerancia (5 %), presenten defectos ocasionados por daños muy severos (ver tabla 2), incluyendo tomates con no más de 1 % de pudrición.

b) Para defectos en tránsito o en destino: Se permite que el 15 % de los tomates de cualquier lote no satisfagan los requerimientos para esta clasificación, con tal de que los tomates en este porcentaje no excedan los porcentajes de los siguientes defectos:

1) El 5 % de tomates estén aguados o dañados por pudrición.

2) El 10 % de los tomates estén dañados por magullamiento en los hombros, decoloración o por cicatrices en cualquier parte del tomate.

3) El 10 % de los tomates tengan otros defectos, con tal de que no más del 5 % sean tomates que estén muy seriamente dañados por cualquier causa, con la excepción de tomates aguados o podridos (ver tabla 2).

5.7.3.2 México 2

a) Para defectos en punto de embarque: Se permite que el 10 % de los tomates de cualquier lote no satisfagan los requerimientos para esta clasificación, con tal de que no más de la mitad de esta tolerancia (5 %), sean defectos ocasionados por daños muy severos, incluyendo tomates con no más de 1 % de pudrición.

b) Para defectos en tránsito o en destino: Se permite que el 15 % de los tomates de cualquier lote no satisfagan los requerimientos para esta clasificación, con tal de que los tomates incluidos en este porcentaje no excedan los porcentajes de los siguientes defectos.

- 1) El 5 % de tomates estén aguados o dañados por pudrición.
- 2) El 10 % de tomates estén dañados por magullamientos en los hombros, decoloración o por cicatrices en cualquier parte del tomate.
- 3) El 10 % de tomates que tengan otros defectos, con tal de que no más del 5 % sean tomates que estén muy seriamente dañados por cualquier causa, con la excepción de tomates aguados o podridos (ver tabla 2).

5.7.3.3 México combinación

- a) Para defectos en punto de embarque: Se permite que el 10 % de los tomates de cualquier lote no satisfaga los requerimientos del México 2, con tal de que no más de la mitad de esta tolerancia (5 %), sean defectos ocasionados por daños muy severos, incluyendo tomates con no más de 1 % de pudrición.
- b) Para defectos en tránsito o en destino: Se permite que el 15 % de los tomates de cualquier lote no satisfaga los requerimientos del México 2, con tal de que los tomates incluidos en este porcentaje no excedan los porcentajes de los siguientes defectos:
 - 1) El 5 % de tomates aguados o dañados por pudrición, 10 % para tomates dañados por magullamiento en los hombros, decoloración o por cicatrices en cualquier parte del tomate.
 - 2) El 10 % de tomates tengan otros defectos, con tal de que no más del 5 % de los tomates se encuentren dañados muy seriamente por cualquier causa, con la excepción de tomates aguados o podridos (ver tabla 2).

5.7.3.4 México 3

Para defectos en punto de embarque: Se permite que el 10 % de los tomates de cualquier lote no satisfagan los requerimientos de esta clasificación, con tal de que no más de la mitad de esta tolerancia (5 %), presenten defectos ocasionados por daños muy severos, originados por insectos y no más de un décimo de la tolerancia (1 %) sean tomates aguados o podridos.

Para defectos en tránsito o en destino: Se permiten que el 15 % de los tomates de cualquier lote no satisfagan los requerimientos para esta clasificación, con tal de que los tomates incluidos en este porcentaje no excedan los porcentajes de los siguientes defectos:

- a) El 5 % de los tomates se encuentren aguados o dañados por pudrición, o bien, el 10 % de los tomates estén dañados por magullamiento en los hombros, decoloración o por cicatrices en cualquier parte del tomate.
- b) El 10 % de los tomates para tomates tengan otros defectos, con tal que no más del 5 % sean tomates estén seriamente dañados por insectos (ver tabla 2).

TABLA 2.- Clasificación de daños

Daño	Daño severo	Daño muy severo
Cicatriz		
Más de 10 mm (3/8 in) de largo acumulado	Más de 16 mm (5/8 in) de largo acumulado	Más de 25 mm (1 in) de largo acumulado
Rajaduras de crecimiento (radicales)		
Más de 13 mm (1/2 in) de largo	Más de 19 mm (3/4 in) de largo	Más de 25 mm (1 in) de largo
Rajaduras de crecimiento (concéntricas)		
Más de 13 mm (1/2 in) de largo acumulado	Más de 19 mm (3/4 in) de largo acumulado	Más de 73 mm (2 7/8 in) de largo acumulado
Decoloración interna (mancha café)		
Más de 13 mm (1/2 in) de diámetro acumulado	Más de 25 mm (1 in) de diámetro acumulado	Más de 32 mm (1 1/4 in) de diámetro acumulado
Estrías		
Cualquier cantidad aparente	Más de 16 mm (5/8 in) en el área	Más de 25 mm (1 in) en el área
Áreas hundidas		
Cualquier cantidad que afecte la apariencia	Cualquier cantidad que afecte seriamente la apariencia	Cualquier cantidad que afecte muy seriamente la apariencia
Cara de gato		
Más de 13 mm (1/2 in) circular	Más de 19 mm (3/4 in) circular	Más de 25 mm (1 in) circular
Cicatriz de cierre		
Más de una cicatriz de cierre completa que no afecte seriamente la apariencia	Una o más cicatrices de cierre que afecten la apariencia muy seriamente	Una o más cicatrices de cierre que afecte la apariencia muy seriamente
NOTA- Estas medidas están basadas en tomates de 64 mm (2 1/2 in) de diámetro. Si el tomate es más grande el daño permitido será más grande y viceversa.		

6 MUESTREO

Para efectuar la verificación de las especificaciones de calidad, tamaño y color del producto objeto de esta norma, se debe aplicar un muestreo de común acuerdo entre el proveedor y el comprador, recomendando el empleo de uno de los sistemas de muestreo contemplados en las normas mexicanas NMX-Z-012/1, NMX-Z-012/2 y/o NMX-Z-012/3 (ver 2 Referencias) o de lo contrario el método indicado en la tabla 3.

TABLA 3.- Determinación de una muestra representativa

Lote (No. de cajas)	Muestra (No. de cajas)
1 - 100	2
101 - 400	4
401 - 600	6
601 - 1 000	8
1 001 - 1 400	10
1 401 - 1 800	12
1 801 - 2 200	14
2 201 - 2 600	16
2 601 - 3 000	18
3 001 -En adelante	20

7 MÉTODO DE PRUEBA

Para verificar el tamaño del producto objeto de esta norma, deben aplicarse los métodos de prueba indicados en la norma mexicana NMX-FF-009 (ver 2 Referencias), así como lo indicado a continuación:

7.1 Cálculo de porcentajes

Cuando se conoce el número de unidades contenidas en el empaque, el cálculo de porcentajes se debe determinar en base a un conteo de los frutos. Cuando las unidades contenidas en el empaque se desconocen, el cálculo se debe determinar en base al peso neto (masa neta) de los tomates muestreados en relación al peso neto (masa neta) del empaque o por otro método equivalente.

8 MARCADO, ETIQUETADO, EMPAQUE Y EMBALAJE

8.1 Marcado o etiquetado

Para el marcado o etiquetado se recomienda tener en cuenta las disposiciones establecidas en la norma oficial mexicana NOM-030-SCFI (ver 2 Referencias).

8.1.1 Empaques destinados al consumidor final

Además de las especificaciones establecidas en la norma, siempre que el contenido no sea visible desde el exterior, se debe indicar mediante marcado o etiquetado, la naturaleza del producto, siendo opcional el indicar la variedad del producto.

8.1.2 Empaques no destinados a la venta al por menor

Cada empaque debe llevar en la impresión o etiqueta, en letras agrupadas en el mismo lado, con caracteres legibles, indelebles y visibles desde el exterior, las indicaciones siguientes.

- Identificación.

Debe contener el nombre y domicilio o identificación reconocida del productor, exportador, importador, emparador y/o expedidor.

- Naturaleza del producto.
 - a) Nombre del producto, si el contenido no es visible desde el exterior,
 - b) Tipo comercial [bola o alargado].
- País de origen.

Debe especificarse además del país de origen, la región donde se cultiva o denominación nacional, regional o local.
- Identificación comercial.
 - a) Grado de calidad,
 - b) Tamaño,
 - c) Masa neta en kilogramos al empacar.

Para cualquier lote de producto y cuando los empaques estén marcados de acuerdo a la tabla 1, la información del marcado o etiquetado deben ser legibles en un 85 %.

8.2 Empaque

a) Con excepción de lo dispuesto en el inciso 5.7, el contenido de cada empaque debe ser homogéneo, compuesto por tomates del mismo origen, grado de calidad, tamaño, variedad y/o tipo comercial. En grado México 1, el contenido de cada empaque debe ser también homogéneo en madurez o color.

b) La parte visible del contenido del empaque debe ser representativo de todo el contenido.

c) Los tomates deben empacarse de modo que se les asegure una protección conveniente.

d) Los empaques deben estar exentos de cualquier material y olor extraño.

e) Los empaques deben satisfacer las características de calidad, higiene, ventilación y existencia para asegurar la manipulación, el transporte y la conservación adecuada del producto.

f) Los materiales usados en el interior del empaque deben ser nuevos, limpios y de calidad que eviten daños externos o internos al producto.

g) El uso de materiales, especialmente papel o sellos, que lleven especificaciones comerciales, está permitido siempre y cuando la impresión o el etiquetado se realice con tintas o pegamentos no tóxicos.

h) Los empaques que se utilizan comúnmente para los tomates tipo bola y alargados, son los siguientes:

- 1) Caja de 15,14 cm (5 3/4 in) de altura, de cartón (2 tandas)..
- 2) Caja de 18,4 cm (7 1/4 in) de altura, de cartón (3 tandas).
- 3) Caja de 11,3 kg (25 libras) de cartón (a granel).
- 4) Caja 4/7 de bushel de cartón (a granel).
- 5) Mini-jaba o mini-reja de 18,4 cm (7 1/4 in) de altura, de madera.

NOTAS:

1-Las medidas interiores de los empaques no se proporcionan, debido a la diferencia que existe de un fabricante a otro. Estos empaques no deben rebasar los 20 Kg. netos.

2-La mini-jaba o mini-reja únicamente se utiliza para mercado nacional o doméstico.

3-El tamaño de los tomates empacados en cualquier tipo de envase debe ser señalado de acuerdo a la tabla 1. Los contenedores individuales no deben marcarse con más de una designación de tamaño. Están exentos los empaques destinados al consumidor final y en caso de que los paquetes fuesen marcados se deben aplicar los mismos requisitos.

8.3 Embalaje

El embalaje debe ser de un material que garantice el buen manejo y conservación del producto.

10 BIBLIOGRAFÍA

NOM-008-SCFI-1993 Sistema General de Unidades de Medida.

NMX-FF-031-1982 Productos alimenticios no industrializados para consumo humano - Fruta fresca - Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) - Especificaciones.

NMX-Z-013/01-1977 Guía para la presentación, redacción y estructuración de las normas mexicanas.

United States Standards for Grades of Fresh Tomatoes - United States Department of Agriculture. 1991.

11 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

Esta norma no concuerda con ninguna norma internacional por no existir referencia alguna al momento de su elaboración.

APÉNDICE INFORMATIVO

Apéndice A

Tomate para Procesamiento Industrial

Requisitos que debe cumplir el tomate industrial:

- 1.- Completamente maduro. Color 6 o más (ver Apéndice B).
- 2.- A granel sin empaque.
- 3.- Debe contar con la autorización de movilización del organismo de certificación, quién a su vez debe verificar la existencia del contrato de compraventa entre el productor y la industria procesadora.

-
- 4.- Pasar por los puntos de inspección o revisión, con que cuente el organismo de certificación encargado de la aplicación de la norma con el fin de verificar que los requerimientos sean cumplidos.

Apéndice B

Escala de colores del Tomate. La presente carta de colores original se encuentra disponible en el Comité Técnico de Normalización Nacional de Productos Agrícolas, Pecuarios y Forestales; cede en la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, domicilio en Lope de vega 125

P.H., Col. Polanco, C.P. 11560, México D.F., Tel. 250-94-65