



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**APLICACIÓN DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE
ADICIONADO CON AGENTE ANTAGONISTA PARA EL CONTROL
DEL MOHO GRIS EN JITOMATE
(*LYCOPERSICON ESCULENTUM*)**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO EN ALIMENTOS

P R E S E N T A:

JOSÉ SAMUEL MIRANDA DELGADO

ASESORAS:

M. en C. Alma Adela Lira Vargas

Dra. Ma. Andrea Trejo Márquez

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2016.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.



ÍNDICE GENERAL

	Página
Índice de Tablas y Figuras.....	i
RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. ANTECEDENTES.....	6
2.1. Generalidades del jitomate.....	6
2.2. Descripción morfológica y taxonomía.....	7
2.3. Clasificación y variedades.....	8
2.4. Composición fisicoquímica y valor nutricional.....	11
2.4.1. Beneficios de consumo.....	12
2.5. Importancia económica.....	12
2.6. Principales pérdidas postcosecha.....	15
2.7. Principales plagas y enfermedades.....	16
2.7.1. <i>Botrytis cinerea</i>	17
2.8. Principales métodos de conservación del tomate.....	19
2.9. Control biológico.....	22
2.9.1. Principales microorganismos antagonistas.....	25
2.9.2. Mecanismos de acción.....	28
2.10. Recubrimientos comestibles.....	29
2.10.1. Materiales de elaboración.....	29
2.10.2. Aplicación y funcionalidad.....	32
3. OBJETIVOS.....	35
3.1. Objetivo General.....	35
3.2. Objetivos Particulares.....	35
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	36
4.1. Cuadro metodológico.....	36
4.2. Material biológico.....	37
4.2.1. Recolección, transporte y recepción.....	37
4.2.2. Almacenamiento.....	37
4.3. Selección de agente antagonista.....	38
4.3.1. Pruebas por cultivos duales.....	38
4.3.2. Pruebas de concentración.....	40
4.4. Inoculación del fitopatógeno.....	40
4.5. Elaboración y aplicación de recubrimiento comestible.....	41



ÍNDICE GENERAL (Continuación)

	Página
4.6. Evaluación de viabilidad y calidad de tomate.....	42
4.7. Técnicas analíticas.....	43
4.7.1. Parámetros físicos.....	44
4.7.2. Parámetros fisicoquímicos.....	45
4.7.3. Parámetros químicos.....	46
4.7.4. Parámetros fisiológicos.....	46
4.7.5. Parámetros de evaluación de enfermedad.....	47
4.8. Análisis estadístico.....	48
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
5.1. Pruebas reto contra <i>Botrytis cinerea</i>	49
5.2. Pruebas <i>in vitro</i>	56
5.3. Parámetros de calidad.....	57
5.4. Parámetros de deterioro.....	77
6. CONCLUSIONES.....	82
7. RECOMENDACIONES.....	83
8. REFERENCIAS.....	84



ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Variedades de tomate de acuerdo a su forma.....	9
Tabla 2. Valor Nutricional de jitomate de invernadero.....	11
Tabla 3. Principales factores causantes de pérdidas post cosecha.....	15
Tabla 4. Enfermedades y plagas deteriorantes del jitomate.....	17
Tabla 5. Daño provocado por <i>Botrytis cinerea</i> en tomate.....	19
Tabla 6. Ventajas y desventajas de tecnologías en conservación de tomate.....	20
Tabla 7. Control biológico en diversos cultivos.....	23
Tabla 8. Componentes de matrices utilizadas como recubrimientos comestibles de frutas y hortalizas.....	30
Tabla 9. Aplicación de distintos recubrimientos comestibles en productos hortofrutícolas.....	34
Tabla 10. Índice de severidad por categoría.....	48
Tabla 11. Pruebas <i>in vitro</i> para elección de concentración de <i>Trichoderma harzianum</i> . A) [1×10^5 esporas/mL], B) [1×10^7 esporas/mL] y C) [1×10^8 esporas/mL] en periodos de 0, 3 y 6 días.....	56

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Cultivo de tomate en época prehispánica.....	6
Figura 2. Tomate utilizado como planta ornamental.....	6
Figura 3. Tipo de crecimiento de tomate A) Crecimiento determinado, B) Crecimiento indeterminado.....	7
Figura 4. Taxonomía del jitomate.....	8
Figura 5. Variedades de tomate según su forma.....	8
Figura 6. Grado de madurez del tomate.....	10
Figura 7. Variedad física de tomate.....	10
Figura 8. Producción mundial de jitomate.....	13
Figura 9. Estados productores de tomate en México.....	14
Figura 10. Participación del valor de las exportaciones mundiales.....	14
Figura 11. Esporulación de moho gris en tomate.....	18
Figura 12. Conidios de <i>Botrytis cinerea</i> vista en cámara de Neubauer.....	18
Figura 13. Taxonomía del hongo <i>Botrytis cinerea</i>	18
Figura 14. <i>Botrytis</i> sobre manzana roja.....	25
Figura 15. Cepas de A) <i>Bacillus sub.</i> B). <i>Trichoderma harzianum</i> mostradas a través de microscopio.....	26
Figura 16. Conidias de <i>Trichoderma harzianum</i> a través de microscopio.....	27
Figura 17. Modelo de “caja de huevo”, estructura conformacional del alginato de sodio.....	32
Figura 18. Propiedades funcionales de recubrimientos en alimentos.....	33



ÍNDICE DE FIGURAS (Continuación)

	Página
Figura 19. Crecimiento radial de hongos previo a pruebas reto durante 9 días a 25 °C.....	37
Figura 20. Preparación de medio de cultivo, sembrado de hongos en caja Petri.....	38
Figura 21. Diferentes pruebas de antagonismo mediante cultivos duales.....	39
Figura 22. A) Obtención de inóculo de <i>Trichoderma harzianum</i> . B) Conteo de esporas en cámara de Neubauer.....	41
Figura 23. Diagrama de proceso para jitomates recubiertos con alginato de sodio.....	42
Figura 24. Diagrama de proceso para la evaluación de tomates “in vivo”.....	43
Figura 25. A) Colorímetro MINOLTA. B) Determinación de color en tomates mediante colorímetro.....	44
Figura 26. Determinación de firmeza.....	44
Figura 27. A) Determinación de pH. B) Determinación de Acidez.....	45
Figura 28. Lavados de muestra para obtener licopeno de tomate.....	46
Figura 29. Pruebas reto por cultivos duales entre (A) <i>Fusarium sp</i> – <i>Botrytis cinérea</i> (B) <i>Trichoderma harzanium</i> – <i>Botrytis cinerea</i>	49
Figura 30. Escala de Bell. Competencia por espacio entre <i>Trichoderma harzanium</i> – <i>Botrytis cinerea</i> (A) y <i>Fusarium sp</i> – <i>Botrytis cinerea</i> (B).....	50
Figura 31. Tiempo de contacto entre A). <i>Fusarimu sp.</i> - <i>Botrytis</i> . B). <i>Trichoderma harzianum</i> - <i>Botrytis cinerea</i>	52
Figura 32. Crecimiento radial entre antagonistas y fitopatógenos a los cuatro días de establecidas las pruebas.....	53
Figura 33. Porcentaje de inhibición al crecimiento de <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Fusarium sp</i> , sobre <i>Borytis cinerea</i> en pruebas duales.....	55
Figura 34. Efecto de la aplicación de recubrimientos con agente antagonico sobre el color de tomates de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R).....	58
Figura 35. Efecto de la aplicación de recubrimientos con agente antagonico sobre la tonalidad de tomates de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R).....	60
Figura 36. Efecto de la aplicación de recubrimientos con agente antagonico sobre la saturación en color de tomates de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R).....	62
Figura 37. Cambios en la firmeza de tomate de invernadero por la aplicación de recubrimiento comestible y recubrimiento comestible con <i>Trichoderma harzianum</i> como antagonista a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R).....	63
Figura 38. Efecto de la aplicación de recubrimientos con agentes antagonicos en la pérdida de masa para tomates de invernadero a condiciones de almacenamiento y H.R. de 10 ° C y 85% respectivamente.....	65
Figura 39. Efecto de la aplicación de recubrimiento con agente antagonista sobre el contenido de sólidos solubles del jitomate de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R).....	67



ÍNDICE DE FIGURAS (Continuación)

	Página
Figura 40. Efecto de la aplicación de un recubrimiento con agente antagonista sobre el pH del tomate de invernadero a condiciones de almacenamiento (10° C y 85% H.R).....	69
Figura 41. Efecto de la aplicación de un recubrimiento con agente antagonista sobre la acidez del tomate de invernadero a condiciones de almacenamiento (10° C y 85% H.R).....	71
Figura 42. Efecto de la aplicación de recubrimientos con antagonista sobre el contenido de licopeno en jitomates de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R).....	73
Figura 43. Efecto de la aplicación de recubrimiento con agente antagonístico en la respiración de tomate de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% HR).....	75
Figura 44. Índice de deterioro causado por <i>Botrytis cinerea</i> en tomates sin y con recubrimiento a base de alginato con medio antagonista activo	78
Figura 45. Índice de severidad causado por <i>Botrytis cinerea</i> en tomate sin y con recubrimiento a base de alginato con medio antagonista activo	79
Figura 46. Seguimiento fotográfico de jitomate de invernadero inoculado con <i>Botrytis cinerea</i> con y sin recubrimiento a base de alginato de sodio y <i>Trichoderma harzianum</i> a través de 20 días en condiciones de 10 ° C y 85% H.R.....	81



1. RESUMEN





1. RESUMEN

México es uno de los principales países productores y exportadores de frutas y hortalizas, siendo el tomate el producto con mayor exportación a nivel nacional. Sin embargo, este producto es perecedero y susceptible al ataque de plagas y enfermedades antes, durante y después de la cosecha, siendo las enfermedades causadas por hongos y bacterias las que ocasionan mayores pérdidas postcosecha. Se han utilizado diversas tecnologías de conservación a través del tiempo, sin embargo muchas de ellas son de alto costo o difícil manipulación, aunadas al uso excesivo de plaguicidas y herbicidas que los han hecho más resistentes, por lo que una alternativa prometedora es el uso de agentes antagónicos como control biológico. Debido a lo anteriormente descrito el objetivo del presente proyecto fue evaluar el efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible adicionado con agente antagonista (*Trichoderma harzianum*, *Fusarium* sp) sobre la calidad y control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en jitomate (*L. esculentum*) para proponerlo como tratamiento en su conservación postcosecha. Mediante pruebas reto se seleccionaron los antagonistas (*Trichoderma harzianum* y *Fusarium* sp) obtenidos previamente en el Colegio de Postgraduados, compitiendo por espacio y nutrientes al patógeno *Botrytis cinerea* previamente aislado de tomate, después de ello se llevaron a cabo pruebas *in vitro* para determinar la mejor concentración. Dichas pruebas se efectuaron a condiciones de incubación de 27 ° C por 7 días. Posteriormente se elaboró un recubrimiento a base de alginato de sodio (1%) en medio acuoso, glicerol (1%) como plastificante y tween 80 (0.6%) como tensoactivo. Se inocularon dos lotes con el patógeno por contacto directo en solución acuosa-tween por 24 horas a 35°C. Únicamente 1 lote fue recubierto con antagonista diluido a concentración de [esporas/mL] previamente contadas en cámara de Neubauer. Finalmente se evaluaron sus características fisicoquímicas, fisiológicas e índice de decaimiento y severidad para su viabilidad a través de 20 días con muestreos cada 4. Las pruebas reto que presentaron mayor aprovechamiento de sustrato (73.33%) e inhibición de crecimiento del patógeno (72.08%) fueron con *Trichoderma harzianum*, 20.83% más con respecto a *Fusarium oxysporum* a pesar de entrar ambas en un mismo tiempo de contacto (7 días), así mismo la aplicación de 1×10^7 [esporas/mL] fue aquella que presentó resultados eficaces en la inhibición del patógeno, formando por completo un halo. Por otro lado la aplicación del



recubrimiento con antagonista logró modificar positivamente la coloración y retraso de senescencia del fruto, retrasando la aparición del patógeno hasta el 16° día y mostrando 25.6% menor incidencia que aquellos control. Finalmente se puede concluir que al aplicar el recubrimiento con *Trichoderma harzianum* es posible controlar biológicamente el crecimiento de *Botrytis cinérea* en tomate de invernadero a condiciones de almacenamiento, siendo una tecnología pos cosecha potencial y que aún tiene mucho por investigar.



2. INTRODUCCIÓN





2. INTRODUCCIÓN.

Las frutas y las verduras son componentes esenciales de una dieta saludable, y un consumo diario suficiente podría contribuir a la prevención de enfermedades importantes, como las cardiovasculares y algunos cánceres. En general, se calcula que cada año podrían salvarse 1,7 millones de vidas si se aumentara lo suficiente el consumo de frutas y verduras (FAO, 2015).

El cultivo de jitomate (*L. esculentum*) en México, es sin lugar a dudas el más importante en el orbe de la producción hortofrutícola y sólo comparable a nivel mundial con la producción y aceptación de papa. Su cultivo es de 20000 hectáreas y se encuentran bajo agricultura protegida (12000 de invernadero y 8000 de malla y macrotúnel) (FINRURAL, 2014).

Nuestro país ocupa el décimo lugar en producción de tomate con 3 millones de toneladas producidas al año. Así mismo es el principal exportador en el mundo con 1.5 millones de toneladas anuales, siendo el 50% de su producción y en su mayoría destinada a Estados Unidos (SAGARPA, 2013).

El jitomate es un alimento con alto contenido de licopeno, además de otros antioxidantes como la vitamina C, que ayudan en la prevención del cáncer en cualquiera de sus formas, ya sea consumido en fresco, mínimamente procesado o como subproducto.

El daño oxidativo del ADN está considerado como un importante factor causante de diversos tipos de cáncer. Así, las frutas y hortalizas, por su alto contenido en vitamina C, E y β -caroteno además de que pueden ser consideradas como importantes agentes preventivos del cáncer (Martínez *et al.* 2001).

Uno de los principales problemas que enfrenta la producción de jitomate en nuestro país es el excesivo uso de plaguicidas y agroquímicos para controlar y/o erradicar plagas y



enfermedades, además de las inadecuadas instalaciones en invernaderos (contaminación fluvial), incrementando así el costo de producción (Alarcón y Bolkan, 1994).

Aunado al decremento cualitativo expuesto en el periodo de recolección y hasta su consumo. Por otro lado el jitomate es vulnerable al ataque de microorganismos tales como el moho gris causado por *Botrytis cinerea*, donde su principal vía de acceso son heridas, cladosporosis (manchas amarillas), causado por *Cladosporium fulvu* o la necrosis medular de sus tallos causada por *Pseudomonas corrugada*, deteriorándolo y disminuyendo evidentemente su calidad (Bruna-Vázquez, 2000).

Por ello a través del tiempo se han desarrollado diversas tecnologías para la conservación de alimentos, dentro de estas tecnologías se encuentra el almacenamiento a bajas temperaturas, uso de atmósferas controladas y modificadas, tratamientos térmicos, películas comestibles y ozono; sin embargo, estos tratamientos presentan desventajas en su aplicación como lo es el alto costo, su difícil control y la degradación del alimento (Notario-Medellín y Sosa-Morales, 2012), (Artes y Artés, 2007). Es por ello que recientemente se ha utilizado el control biológico como método de conservación.

El control biológico es una de las diversas tecnologías aplicadas a los alimentos que permiten prolongar la vida útil de los alimentos y en la cual microorganismos nombrados “antagonistas” ejercen un efecto inhibitorio y antibiótico a aquellos precursores de plagas y enfermedades. De acuerdo a Bruna-Vázquez (2000), el control biológico reduce la cantidad de inóculo de un patógeno causado por uno o más organismos.

Especies pertenecientes al género de las *Pseudomonas* y *Bacillus*, así como *Trichoderma* han demostrado tener un efecto inhibitorio eficaz en cultivos de fresa (*Fragaria cammarosa*), pimienta y cebolla sobre el crecimiento de *Botrytis cinerea* de acuerdo a Infante *et al.* (2009), esto debido a su capacidad reproductiva, plasticidad ecológica y efecto estimulante.



Así mismo es posible aplicar tecnologías de conservación que coadyuven a obtener ciertos objetivos. La aplicación de recubrimientos como medios de transporte de compuestos anti fúngicos es una tecnología muy costeable y que de acuerdo a las propiedades químicas y mecánicas de las matrices, crearán interacciones distintas (Notario-Medellin y Sosa-Morales, 2012) con el producto.

Debido a lo anteriormente descrito, es importante considerar la realización de un proyecto que tenga como objeto evaluar los efectos que se generan al aplicar un control biológico en la vida de anaquel y calidad del tomate durante la etapa de poscosecha.



2. ANTECEDENTES





2. ANTECEDENTES

2.1. Generalidades del jitomate

El origen del jitomate se remonta a la época prehispánica de México y de la región andina, particularmente Bolivia, Chile, Ecuador y Perú, su domesticación fue llevada a cabo en México, formando parte de huertos como se muestra en Figura 1. Sin embargo, no presentaba aún una importancia económica grande (Hernández-Yépez, 2013).



Figura 1. Cultivo de tomate en época prehispánica.
Fuente: Azcoytia (2012).

Su nombre procede del nahuatl “xictli” que significa ombligo y “tomatl” que significa tomate. Fue hasta la llegada de los españoles que se apreciaron sus cualidades organolépticas (SRE, 2015).

Países como Portugal, Italia y España ya se utilizaba como alimentación humana y fueron estos mismos quienes llevaron esta hortaliza a sus colonias ubicadas en el continente asiático y africano a mediados de siglo XVII, sin en cambio, otros países del norte de Europa solo la utilizaban como planta ornamental (Figura 2), debido a los colores llamativos de sus frutos. A Australia se distribuyó gracias a las colonias de Estados Unidos en el siglo XIX (Ríos *et al.*, 2003).

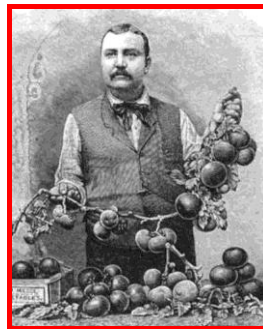


Figura 2. Tomate utilizado como planta ornamental.
Fuente: Azcoytia (2012).



2.2. Descripción morfológica, taxonomía y variedades

La planta del jitomate cuenta con un sistema radicular amplio, formado por una raíz principal que puede llegar hasta los 60 cm de profundidad y se encuentra provista por ramificaciones secundarias. El crecimiento de la planta puede ser determinado (inflorescencias en extremo del ápice) e indeterminado (crecimiento continuo de manera vertical) como se muestra en la Figura 3 (Von-Haeff *et al.*, 1983).

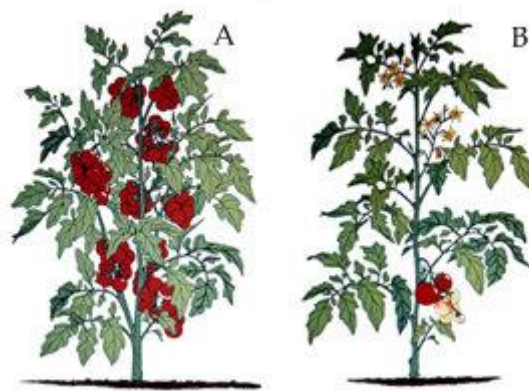


Figura 3. Tipo de crecimiento de tomate A) Crecimiento determinado, B) Crecimiento indeterminado.

Fuente: SECICO (2008).

Las partes principales de las plantas de jitomate de acuerdo a Hernández-Yépez (2013):

- **Tallo:** Es anguloso y recubierto en toda su extensión de pelos de naturaleza glandular, brindándole olor característico. Al comienzo el tallo es erguido, pero durante el crecimiento puede rastrear por el suelo (crecimiento determinado o indeterminado).
- **Hojas:** También están constituidas de pelos glandulares, constituidas por 7-9 folíolos dentados.
- **Inflorescencias:** Simples o ramificados, llegando a tener hasta 50 flores por inflorescencia.
- **Frutos:** Son bayas globulares de entre 3 a 16 cm de ancho, llegando a pesar entre 35 hasta 750 g, dependiendo su variedad.



La taxonomía del tomate se observa en la Figura 4.

Clase:	<i>Dicotiledóneas</i>
Orden:	<i>Solanales (Personatae)</i>
Familia:	<i>Solanaceae</i>
Subfamilia:	<i>Solanoidae</i>
Tribu:	<i>Solanae</i>
Género:	<i>Lycopersicon</i>
Especie:	<i>Esculentum</i>

Figura 4. Taxonomía del jitomate.
Fuente: Hunziker (1979).

2.3 Clasificación y variedades.

Actualmente existen más de 70 variedades de tomates, diferenciadas principalmente por su tipo de crecimiento, forma, tamaño, cantidad de carpelos y grado de madurez (Alvarado *et al.*, 2009).

- *De acuerdo a su forma.*

De acuerdo a su forma existen cuatro tipos de variedades más importantes y van desde el más pequeño (Cherry) hasta el más grande (bola grande) como se observa en la Figura 5, (SAGARPA, 2010).







Figura 5. Variedades de tomate según su forma.
Fuente: SAGARPA (2010).

Dentro de las variedades más destacadas se encuentran aquellas que se mencionan en la Tabla 1.



Tabla 1. Variedades de tomate de acuerdo a su forma.

Tipo	Descripción
 <p>Cherry</p>	Se produce en plantas de crecimiento indeterminado. Es pequeño y de piel delgada. Se agrupan en ramilletes de 15 a más de 50 frutos. Tiene sabor dulce. Existen de color rojo y amarillo.
 <p>Saladette</p>	Variedad italiana para conserva de tomate pelado, fruto pequeño bi o trilocular, forma de pera, tamaño homogéneo de los frutos.
 <p>Pera</p>	Utilizada cada vez menos para la industria conservera para tomate pelado.
 <p>Bola</p>	Tomate consumido principalmente en Norte América. (Bola estándar y grande).

Fuente: SAGARPA (2010).

- *Según su grado de madurez.*

Los jitomates se clasifican por su grado de madurez, el número de días entre que es plantado y su cosecha. De madurez temprana se cosechan a los 55-65 días. De mediana maduración se consideran de 66 a 80 días, los de mayor maduración requieren más de 80 días. Ver Figura 6 (SAGARPA, 2010).



Figura 6. Grado de madurez del tomate.
Fuente: SAGARPA (2010).

- *De acuerdo a su color:*

Que va desde el verde lima (inmaduro) hasta rojo intenso (maduro).

- *De acuerdo a su tamaño:*

Depende del diámetro transversal del fruto. Chico (menor a 4 cm de diámetro), mediano (4 a 7 cm de diámetro) y grande (mayor a 7 cm de diámetro) ver Figura 7.

- *Según su peso:*

Varía desde 30 gramos hasta 750 gramos (SAGARPA).



Figura 7. Variedad física de tomate.
Fuente: Hernández -Yépez (2013).

De acuerdo a las múltiples diferencias entre variedades de jitomate en el mundo, se tiene diferencia en la composición química en cada uno de ellos, así como su valor nutricional. El jitomate que mayormente se cultiva en los invernaderos de Puebla son el saladette además de variedades criollas (ramsés, cid, cóndor, reserva, uv305), siendo la temporada de cosecha en el mes de Mayo y Junio.



Dentro de las variedades ya mencionadas, el cultivo de tomate saladatte es de las más ventajosas, ya que son jitomates de excelente calidad y rendimiento, además de poseer una buena firmeza y larga vida de anaquel. Su hábito de planta es vigoroso y con buena cobertura de follaje, además de ser resistente a nemátodos (Hazera-México, 2015).

2.4. Composición fisicoquímica y valor nutricional.

La composición química del tomate así como su valor nutricional (Tabla 2) depende de diversos factores como lo son la variedad, época de producción, grado de madurez y condiciones de cultivo y almacenamiento (Coronel y Castillo, 2009).

Tabla 2. Valor Nutricional de jitomate de invernadero.

Componentes	Contenido por cada 100 g
Energía (KJ)	56
Constituyentes Básicos (g)	
AGUA	94.7
PROTEÍNA	1
GRASA	0.1
FIBRA	1.5
CARBOHIDRATOS (g)	
Glucosa	0.9
Fructosa	1
ACIDOS ORGÁNICOS (g)	
Cítrico	0.48
Málico	0.08
VITAMINAS (mg)	
Vitamina C	60
Tiamina	0.04
Rivoflavina	0.02
Licopeno	3.4

Fuente: Hernández-Yépez, (2013).

Al ser una hortaliza, presenta contenido de humedad alto, además de aporte calórico importante, los azúcares representan 50% en peso seco siendo glucosa y fructosa en su mayoría. Los ácidos orgánicos (principalmente cítrico y málico) representan 10% en



peso seco. Tanto azúcares como ácidos presentan un papel fundamental en el sabor del fruto (Adalid, 2011).

2.4.1. Beneficios de consumo.

Consumir tomate fresco y/o procesado es benéfico para la salud del consumidor (Gardner *et al.*, 1997), debido a que:

- **Fortalece el sistema nervioso y muscular.** Potasio.
- **Prevención del cáncer.** Alto contenido en antioxidantes. (licopeno, vitamina C y E).
- **Refuerzo del sistema inmunológico.** Por su aporte de vitaminas y minerales, el jitomate aumenta la resistencia a infecciones.
- **Previene problemas cardiacos.** Antioxidantes bloquean radicales libres (mal colesterol), mejorando la circulación de la sangre.
- **Combate el estreñimiento.** Es un laxante suave debido a su contenido en fibra regulando la función intestinal y daños gastrointestinales.
- **Diurético, anti inflamatorio y cicatrizante.**

Los productos procesados de jitomate presentan mayor contenido en licopeno a comparación con producto fresco. Esto debido a la reducción de agua en relación con los procesos de concentración, deshidratación y calentamiento durante su proceso. (Gardner *et al.*, 1997).

Debido al alto consumo de jitomate en todo el mundo y sobre todo en países latinoamericanos, aunado a los beneficios de consumo que presentan los mismos, tiene gran importancia económica a través de toda su cadena productiva.

2.5. Importancia económica

La producción mundial del jitomate en el 2014 se distribuyó de la siguiente manera: China con 36% de producción ocupó el primer lugar, Estados Unidos con 14% le sigue



y Turquía con el 12%. México ocupa el 10° lugar con 3% de participación como se presume en la Figura 8 (FAO, 2014).

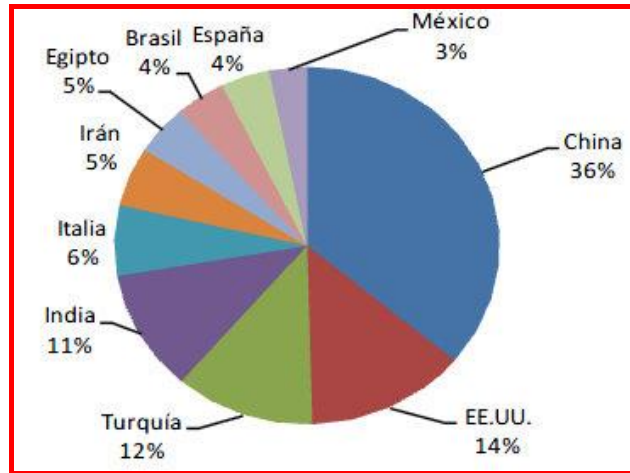


Figura 8. Producción mundial de jitomate.
Fuente: FAO (2014).

En cuanto a producción nacional, el jitomate es el 8° cultivo con mayor valor en México siendo el ‘saladette’, ‘bola’ y ‘cherry’ las más cosechadas. En 2012 generó 13,146 mdp, el 3.2% del valor total del sector agrícola y participó con el 0.3% de la superficie sembrada nacional, alcanzando una cifra record de 2.8 millones de toneladas (SIAP-SAGARPA, 2012).

En la Figura 9 se muestra la producción en volumen y la retribución monetaria para los estados que más generan jitomates en México, siendo la zona norte una de las más productoras.

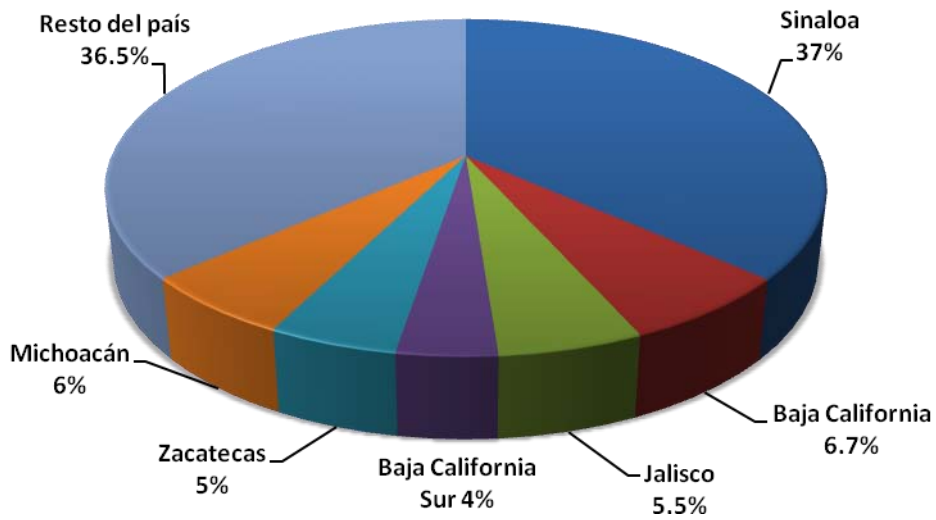


Figura 9. Estados productores de tomate en México.
Fuente: SIAP-SAGARPA (2012).

- *Exportaciones/Importaciones*

México es el principal exportador de jitomates frescos en el mundo, con alrededor de 20% del volumen y 25% del valor comercializado como se muestra en la Figura 10. El país exporta alrededor de 1.5 millones de toneladas al año que representa entre el 50 y 70% del volumen de producción, Estados Unidos es el país al que más se exporta SIAP-SAGARPA, (2012).

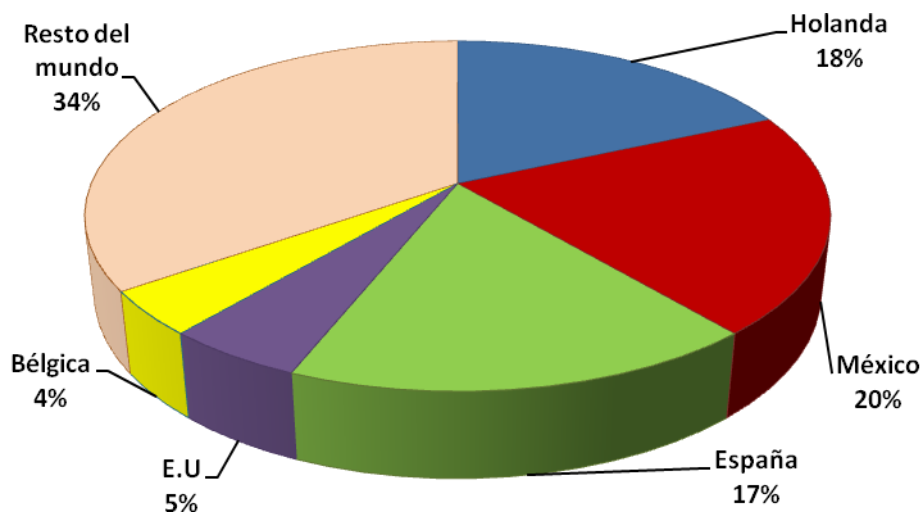


Figura 10. Participación del valor de las exportaciones mundiales.
Fuente: SIAP-SAGARPA (2012).



- *Precio*

El precio de esta hortaliza depende de la estacionalidad de la producción y de las condiciones climáticas, aunque este riesgo se atenúa en vista de que más del 90% del volumen de producción se obtiene mediante riego.

El valor de dicho precio es afectado de igual manera por su demanda y consumo, consumo que se encuentra directamente enlazado a la calidad de los frutos y que a su vez es afectada por pérdidas pos cosecha originadas por factores climáticos, químicos, genéticos y fisiológicos (Romojaro *et al.*, 2003).

2.6. Principales pérdidas post cosecha

De acuerdo a la FAO (2015) las prácticas post cosecha son aquellas actividades que empiezan en el momento y lugar de la cosecha y terminan en la mesa del consumidor, asegurándose que de un extremo a otro exista una renta máxima de todas ellas, minimizando las pérdidas.

Toivonen (2007) hace mención a tres principales tipos de pérdidas post cosecha relacionadas con jitomate; pérdidas cuantitativas (pérdidas por reducción de peso debido al agua y pérdida de producto), pérdidas cualitativas (cantidades pérdidas debido a su diferencia en estándares de calidad) y pérdidas nutricionales (que como su nombre lo dice, se deben a la pérdida de elementos nutritivos y vitaminas). Estas pérdidas se deben principalmente a diversos factores y situaciones internas y externas al cultivo como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Principales factores causantes de pérdidas post cosecha.





Factor	Causa
<p data-bbox="347 1798 488 1827">Nutricional</p> 	<p data-bbox="635 1839 1361 1944">Tanto el desequilibrio de nutrientes como la falta de elementos químicos afecta el crecimiento y estado fisiológico del fruto, alterándolo.</p>



Tabla 3. Principales factores causantes de pérdidas post cosecha (Continuación).

<p>Agronómico</p> 	<p>Características del suelo, drenaje, textura y disponibilidad de nutrientes afectan la calidad y aventajan el crecimiento microbiológico</p>
<p>Ambiental</p> 	<p>La intensidad y calidad de luz, temperaturas, humedades relativas y contenido de CO₂ son algunos de ellos, influyendo sobre la actividad patogénica, modificación de membranas celulares</p>
<p>Genético</p> 	<p>El genoma no solamente determina la calidad y cantidad del fruto, sino que además de ello depende su vida útil y comercial.</p>

Fuente: Alarcón-Zayas (2013).














2.7. Principales plagas y enfermedades

Las diferentes enfermedades y plagas que se desarrollan en los jitomates de invernadero dependen de factores físicos químicos y fisicoquímicos, los cuales aceleran e incrementan la microflora natural de los mismos, así mismo el uso inadecuado de sustancias químicas (herbicidas, funguicidas) y el mal manejo del producto, lo deteriora provocando daños irreversibles y contaminación de plagas (SAGARPA 2010).

En la Tabla 4 se observan las diversas enfermedades y plagas causantes del deterioro del jitomate de invernadero.



Tabla 4. Enfermedades y plagas deteriorantes del jitomate.

Plaga		Enfermedad	
  <p>Fig. 19: Mosca blanca del tomate.</p>	Mosca Blanca	<p>Odiopsis (<i>Fusarium o.</i>)</p>   <p>Fig. 24y 25: Odiopsis en las hojas y oscurecimiento de vasos causado por Fusarium.</p>	
  <p>Fig. 20: Trips</p>	Trips		
  <p>Fig. 21: Pulgón en hoja de tomate</p>	<p>Pulgón Polilla</p>   <p>Fig. 22: Polilla del tomate.</p>	<p>Pudrición gris (<i>Botrytis c.</i>)</p>   <p>Fig. 26: Deterioro del jitomate a causa del Botrytis.</p>	
 <p>Fig. 23: Araña roja, mancha amarilla en hojas.</p>		Araña roja	

Fuente: Bruna-Vázquez (2000).

Uno de los agentes causantes del deterioro de tomate más importantes es aquel que produce ablandamiento y pudrición y que es ocasionado por el hongo patógeno *Botrytis cinerea*.

- *Botrytis cinerea*.

El moho gris o conocida comúnmente como “pudrición gris” de los jitomates de invernadero y hortalizas en general es una enfermedad aérea que es causada por el hongo *Botrytis cinerea*.

El hongo puede afectar frutos recién formados, verdes y próximos a cosechar según (Bruna-Vázquez 2000). En los frutos las lesiones son blandas y acuosas, y se presentan en la región apical y en la unión del pedúnculo con el fruto (Figura 11), y se caracterizan por la abundante esporulación de color grisáceo o café oscuro.



Figura 11. Esporulación de mohó gris en tomate.
Fuente: FAGRO (2012).

Posee conidios hialinos en forma de huevo formado en ramas de conidióforos sobre la superficie tal y como se muestra en la Figura 12. La organización de las esporas en forma de racimos le brinda el nombre *Botrytis* (del griego “uva”). Forma esclerocios lisos y negros cerca de la epidermis del huésped (Quinche, 2009).



Figura 12. Conidios de *Botrytis cinerea* vista en cámara de Neubauer.
Fuente: Quinche, (2009).

De acuerdo a Agrios (1991), la taxonomía del *Botrytis c.* se encuentra constituida de la siguiente manera (Figura 13):

Nombre común:	<i>Moho gris</i>
Nombre científico:	<i>Botrytis cinerea</i>
Clase:	<i>Deuteromycetes</i>
Orden:	<i>Moniliales</i>
Género:	<i>Botrytis</i>
Familia:	<i>Cinerea</i>

Figura 13. Taxonomía del hongo *Botrytis cinerea*.
Fuente: Quinche, (2009).




Requiere temperaturas de entre 18 a 23 ° C para el desarrollo micelar, esporulación y proceso de infección. Más aún produce pérdidas considerables en almacenamiento debido a que se desarrolla bien a temperaturas bajas (Syngenta, 2007).

Esta enfermedad se desarrolla óptimamente a temperaturas de 20 y 25 ° C y condiciones de humedad relativa alta, siendo el factor más importante para su infección. Como segundo factor se tienen las heridas provocadas por insectos, patógenos o por el manejo inadecuado del producto (FAO, 2003).

De acuerdo a San Fuentes y Ferreira (1997), otro factor importante que favorece la infección del fruto con *Botrytis c.* es el daño que este presente, ya que su principal vía de acceso son las heridas y cortes. Las principales fuentes de propagación las constituyen los conidios y los restos vegetales que son dispersados por el viento, salpicaduras de lluvia, gotas de condensación en plástico y agua de riego (Ver tabla 5).

Tabla 5. Daño provocado por *Botrytis cinerea* en tomate.

Enfermedad	Hongo	Síntomas	Condiciones	
Moho gris (mancha fantasma)	<i>Botrytis cinerea</i>	Afecta flores, tallos y frutos produciendo lesiones y coloración parda. Esporula rápidamente y ablanda el fruto	Densidades de siembra, lluvias continuas, humedades relativas altas y temperaturas de 15 a 22° C	

Fuente: Bruna-Vázquez (2000)

2.8. Principales métodos de conservación del tomate

Existen diversas técnicas para prolongar la vida útil de frutas y hortalizas durante su almacenamiento. Dentro de las tecnologías utilizadas se puede encontrar el almacenamiento a bajas temperaturas, uso de atmósferas modificadas y controladas, tratamientos térmicos, películas, control biológico y recubrimientos comestibles, las cuales se explican en la Tabla 6 (Notario-Medellin y Sosa-Morales, 2012).



Tabla 6. Ventajas y desventajas de tecnologías en conservación de tomate.







Método de Conservación	Condiciones	Ventajas	Desventajas	Referencia
Refrigeración 	T < 12 °C 1-2 semanas.	<ul style="list-style-type: none"> Utilizado para reducir la maduración y daño causado por hongos. 	<ul style="list-style-type: none"> A temperaturas menores de 10 °C por más de 2 semanas y/o 5 °C por 5-6 días causan daño, alterando color y sabor, picaduras en superficie y ablandamiento. 	Cantwell (2006).
Atmósfera Controlada 	4 kPa O ₂ + 96 kPa N ₂) a 12 °C por 21 días.	<ul style="list-style-type: none"> Retrasa la madurez y los cambios en firmeza y color externo. La atmósfera controlada reduce pérdidas de clorofila y de síntesis de licopeno, carotenoides y xantófilas. 	<ul style="list-style-type: none"> Disminuye el contenido de micronutrientes como (Vitamina C). Si se someten niveles de CO₂ por encima de 5% puede ocasionar maduración irregular. Produce ablandamiento prematuro y pardeamiento. Difícil control. 	López-Valenzuela <i>et al.</i> (2011).
Tratamientos térmicos 	<ul style="list-style-type: none"> Inmersión en agua caliente (40 °C) Calefacción con aire(+45°C) Tratamientos de vapor saturado 	<ul style="list-style-type: none"> Tratamiento físico no contaminante. Controla actividad de microorganismos presentes. Inhibe enzimas degradativas. 	<ul style="list-style-type: none"> Presentan daños estructurales por cambios bruscos de temperatura. Se producen disturbios en coloración. El desarrollo del licopeno se detiene a altas temperaturas, pero la síntesis de carotenoides (amarillos y naranjas) continúa. 	Notario-Medellín y Sosa-Morales (2012).
Ozono 	10µL/L por 10 min.	<ul style="list-style-type: none"> Posee poder desinfectante. Disminución del deterioro, reblandecimiento y pérdida de peso. No afecta parámetros físicos ni químicos. 	<ul style="list-style-type: none"> Tecnología poco costeable. 	Rodoni <i>et al.</i> (2010).



Tabla 6. Ventajas y desventajas de tecnologías en conservación de tomate (continuación).

<p>Atmósferas Controladas</p> 	<p>Niveles de O₂ (3-8%) y CO₂ (2-5%).</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Reduce respiración y generación de etileno. • Retarda ablandamiento y cambios en color. 	<ul style="list-style-type: none"> • Complicado control. • Medianamente costeable. • Es necesario aplicarla con otra tecnología. 	<p>Notario-Medellín y Sosa-Morales (2012).</p>
<p>Recubrimientos Comestibles</p> 	<p>Películas a base de biopolímeros de alto peso molecular. (proteínas, carbohidratos y lípidos)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Tecnología muy costeable. • Crean barrera ante gases, disminuyendo intercambio entre ellos (retardo de senescencia). • Proporcionan brillo y textura. • Vehículos para aditivos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Conocimiento de la interacción que se desea obtener. 	

El utilizar estas tecnologías de conservación en alimentos ha tenido un auge especial en las últimas décadas, sobre todo para el alargamiento de vida de frutas y hortalizas, sin embargo muchas de ellas son muy costosas y/o su aplicación es sumamente compleja. Es por ello que se han aplicado tecnologías en las que el control biológico afecta organismos patógenos causantes del deterioro y que a su vez no afectan de manera negativa el medioambiente (García-Torrente y Estrada, 2010).



2.9. Control Biológico.

El control biológico es un proceso natural y viene definido como la disminución de la cantidad del inóculo de una enfermedad causada por un patógeno a través de uno o más organismos o por el hombre (García-Torrente y Estrada, 2010).

Por otro lado Bruna-Vázquez, (2000), menciona que el control biológico es la reducción en la cantidad de inóculo de un patógeno causado por uno o más organismos a excepción de los seres humanos.

Orietta y Vega, (2001) enuncian la existencia de interacciones entre patógenos potenciales y sus antagonistas, contribuyendo a que no se desarrollen dichas enfermedades y que además coexisten de manera natural en las superficies de las plantas.

El control biológico de plagas se remonta siglos atrás, entre los años 1300-1800. Ya en 1840 se perfeccionó y ya se utilizaban en Italia la suelta de depredadores para controlar la polilla. Sin embargo, no se desarrolló hasta finales de la década de los sesenta, en respuesta a los daños que el uso intensivo de pesticidas infligía sobre el medioambiente (García-Torrente y Estrada, 2010). Algunas de sus aplicaciones se muestran en la Tabla 7.



Tabla 7. Control biológico en diversos cultivos.

Especie/ Género del antagonista	Fitopatógeno	Cultivo/ Producto	Efecto	Referencias
<ul style="list-style-type: none"> <i>Trichoderma harzianum</i> <i>Trichoderma Longibrachiatum</i> <i>Trichoderma konningi</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Phytophthora Infestans</i> <i>Alternaria solani</i> [1×10^4] 	Medio de cultivo PDA a 27 ° C y 12 h de luz fluorescente y 40% H.R.	Al menos 10 de los 20 aislados de <i>Trichoderma spp.</i> Inhibieron el crecimiento de <i>A. solani</i> en un 65%. Los aislados Tk-4 y Tl-18 presentaron mayor capacidad inhibitoria contra <i>A. solani</i> y <i>P. infestans</i> , respectivamente.	Michel-Aceves <i>et al.</i> (2008).
<ul style="list-style-type: none"> <i>Pseudomonas fluorescens</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Esclerotium rolfsii</i> 	Agar Nutritivo + PDA y King B + PDA y liofilización. 30 ° C.	Las cepas de <i>Pseudomonas f.</i> disminuyeron el crecimiento micelial del hongo por debajo de 40 mm comparado con el testigo (100 mm).	Villa <i>et al.</i> (2005).
<ul style="list-style-type: none"> <i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Burkholderia cepacia</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Curvularia sp.</i> <i>Fusarium sp.</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Alternaria alternata</i> 	Medio King B, compuesto por: 8.7 mL de glicerol, 1.5 g de peptona, 1.5 g de K ₂ HPO ₄ y 1.5 g de MgSO ₄ (todo por L de H ₂ O mili Q). 30 ° C por 7 días.	Los metabolitos producidos por las cepas bacterianas inhibieron el crecimiento de <i>Curvularia sp.</i> , las cepas que menor efecto inhibitorio mostraron fueron las de <i>B. cepacia</i> y <i>P. fluorescens</i> , frente a los hongos fitopatógenos <i>Curvularia sp. A1</i> y <i>A. alternata M2</i> .	Trujillo <i>et al.</i> (2007).
<ul style="list-style-type: none"> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Alternaria solani</i> <i>Cladosporium ulvum</i> 	Cultivo de tomate variedad ARO-4 de invernadero.	Excreción de sideróforos a partir de las 2 horas de crecimiento bacteriano, la mayor concentración se alcanzó a las 18 horas con un rendimiento de 20958 micro moles/ g de sustrato.	Villa <i>et al.</i> (2005).
<ul style="list-style-type: none"> <i>Trichoderma viride.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa.</i> <i>Bacillus subtilis.</i> [10^2 UFC/mL] 	<ul style="list-style-type: none"> <i>Phytophthora spp.</i> <i>Fusarium monilliforme.</i> <i>Rhizoctonia solani</i> Comunes en cultivos de pimienta, cebolla y tomate. [10^2 UFC/mL] 	(Caldo Sabourad + Agar Dextrosa) 0.1 mL para patógenos. (Caldo Agar Nutritivo) para antagonistas. 72 horas de incubación + 25 ° C.	<i>R. solani</i> mostró ligera resistencia, obteniéndose 3 mm y 20 mm relativamente de crecimiento sobre el agar. <i>Trichoderma viride</i> se aprecia que inhibe a <i>R. solani</i> y <i>Phytophthora spp.</i> , con ligero crecimiento de <i>F. monilliforme</i> (27mm).	Noja-Izzeddin y Medina (2011).



Tabla 7. Control biológico en diversos cultivos (continuación).

<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus subtilis</i> (Czpek + 20%/40%) 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Alternaria porri</i>. • <i>Pyrenochaeta terrestres</i>. • <i>Fusarium monilliforme</i> Aislados de cebolla. <ul style="list-style-type: none"> • <i>Alternaria s.</i> • <i>Sthemphylium s.</i> • <i>Phytophthora i.</i> Aislados de tomate 	<p>Extracto de Malta. Caldo de Malta 25ª C por 7 días</p>	<p><i>Bacillus subtilis</i> evidenció tener un alto potencial y espectro de acción in Vitro, así como biocontrol de patógenos que afectan tanto a la parte de cultivo bajo tierra como aérea. <i>Alternaria porri</i> (84-100%), <i>Pyrenochaeta terrestres</i> (81-94%), <i>Fusarium sp</i> (85-88%), <i>Alternaria s.</i> (73-93%), <i>Stemphylium s.</i> (80-89%) y <i>Phynophthora i.</i> (90-100%)</p>	<p>Castellanos <i>et al.</i> (2008).</p>
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus subtilis cepa 21.</i> Aislado de cultivos sanos de fresa. [1x10⁷ conidios/mL] 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fusarium sp.</i> • <i>Rhizopus sp.</i> • <i>Rhizoctonia sp.</i> • <i>Alternaria sp.</i> 	<p>Jitomate de invernadero (variedad "Gabriela"). Agar Nutritivo a 35 ° C y 24 horas de agitación constante.</p>	<p>Los resultados mostraron que los tratamientos aplicados a solución concentrada de <i>B. subtilis</i> N° 21 en la raíz y follaje respectivamente, fueron mejores que los tratamientos T3 y T4, en cuanto a peso, diámetro polar y diámetro.</p>	<p>Basurto-Cadena <i>et al.</i> (2010).</p>
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Bacillus subtilis 21</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Armillaria mellea.</i> • <i>Rosellinia necatrix.</i> • Aisladas de arbustos de níspero de Valencia España. 	<p>PDA a condiciones ambientales por 7 días.</p>	<p>Al enfrentar la cepa bacteriana contra el hongo fitopatógeno <i>A. mellea</i>, se observa, después de 8 días de incubación, que el hongo es fuertemente inhibido cuando se aproxima a la bacteria, notándose incluso una zona menos oscura, donde el hongo no se desarrolla. Por otra lado, la inhibición que lleva a cabo <i>B. subtilis</i> frente al hongo fitopatógeno <i>R. necatrix</i> después de 4 días de incubación, observándose también una zona libre del crecimiento del hongo.</p>	
<ul style="list-style-type: none"> • <i>TRIANUM G</i> [1.5X10⁸ UFC/g] • <i>TRIANUM P</i> [6X10⁸ UFC/g] (<i>Trichoderma harzianum</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> • Tomate (<i>Lycopersicum esculentum L.</i>) • Pepino (<i>Cucumis sativus Mill.</i>) • Pimiento (<i>Capsicum annum L.</i>) 	<p>Polvo TRIANUM. Resistente de 10 a 34 ° C y pH de 4 a 8.5</p>	<p>La altura de las plantas tratadas con <i>T. harzianum</i> tuvo diferencias significativas entre tratamientos. Comparando el tratamiento con <i>T. harzianum</i> con el testigo, este aumento representó un 36% más en tomate, un 17% en pimiento y un 6% en pepino.</p>	<p>Galiano <i>et al.</i> (2007).</p>
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Trichoderma harzianum.</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Phytophthora capsici.</i> 	<p>Caldo Papa Dextrosa. Incubado a 25 ° C y 3 semanas. CRECIMIENTO. PDA +CZAPEK PDA + Laminarina + glucosa 3:1 (v/v) Incubados a 23, 25, 27 y 30 °C.</p>	<p><i>T. harzianum</i> demostró un efecto antagónico contra <i>Phytophthora capsici</i> en los cultivos duales realizados en medio PDA enriquecido con laminarina-glucosa (3:1, v/v), aumentando su actividad antifúngica mediante la secreción del enzima hidrolítico (β-1,3-glucanasa), la cual degrada la pared celular de patógeno y reduce totalmente la colonia del patógeno.</p>	<p>Ezziyyani <i>et al.</i> (2004).</p>



Figura 14. *Botrytis* sobre manzana roja.
Fuente: Fagro.edu

2.9.1. Principales microorganismos antagonistas

- *Bacterias.*

Las bacterias pertenecientes al grupo de las *Pseudomonas fluorescens* y las del género *Bacillus* son consideradas para controlar enfermedades foliares, según Orietta y Vega (2001).

Kin *et al.*, (1997) encontró que el género *Bacillus* tuvo mayor control biológico sobre patógenos del trigo a comparación del género *Pseudomona*. Así mismo Korsten y De Villiers (1997) descubrieron que el *Bacillus subtilis* (Figura 15 A) tiene efecto similar al de fungicidas comerciales para el tratamiento de aguacate en pos cosecha. Con respecto a este último se ah evaluado la liberación de sustancias antifúngicas (subtilina) las cuales actúan sobre la pared celular del hongo.

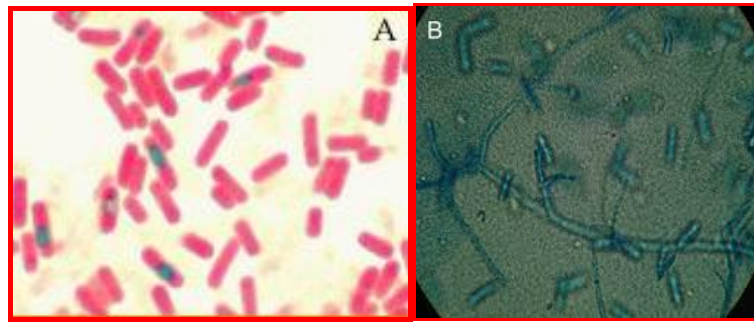


Figura 15. Cepas de A) *Bacillus sub.* B). *Trichoderma harzianum* mostradas a través de microscopio.

Fuente: Scielo.org

- *Hongos*

Dichos microorganismos también ejercen un efecto de antagonismo sobre patógenos y se han estudiado a lo largo del tiempo, siendo de los más efectivos los siguientes.

Hongos pertenecientes al género *Trichoderma sp* se encuentran en prácticamente todos los suelos y que debido a su versatilidad y fácil manipulación son utilizados comúnmente en el control de patógenos. Se caracteriza por ser hongo saprófito y en ocasiones anaerobios facultativos (Infante *et al.*, 2009).

--*Trichoderma harzianum*.

Hongo saprófito de coloración verde oscuro o amarillenta con esporulación densa. De micelio ralo y con conidios ramificados como se observa en la Figura 16 B (Rifai, 1969). De acuerdo a Stefanova *et al.* (1999), presentan clamidosporas, las cuales toleran condiciones ambientales adversas, las cuales le permiten sobrevivir a través del tiempo.

Muchas e las cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, tales metabolitos inhiben el desarrollo de otros microorganismos ejerciendo un efecto antibiótico. Martínez, (1998) cita que durante numerosos experimentos la cepa *Trichoderma harzianum* produce diversos antibióticos, como lo son: trichodermina, alameticina, dermadina, trichotecenos y trichorcianinas.



Las condiciones idóneas de crecimiento son en medio agar a temperatura óptima de 20 a 28 ° C, pero pueden desarrollarse desde 6 y hasta 32 ° C. Humedad relativa de 92% y esporulación de 93%-95%, posee respuesta a la luz azul y violeta, esporulando de manera avanzada. El micelio es escaso, de textura velutinosa. La escasa formación de micelio aéreo hace que la superficie sea levemente hirsuta, con el tiempo el centro de la colonia se torna algodonoso y se observa la esporulación en la zona periférica de la colonia en pústulas conidiógenas de color blanco, que luego se tornan verde grisáceo como se observa en la figura 16, el medio se torna a color vino tinto (Domsch *et al.*, 1993).

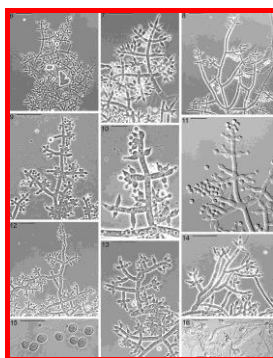


Figura 16. Conidias de *Trichoderma harzanium* a través de microscopio.
Fuente: Mycologia.org

--Cladosporium:

Hongo perteneciente a la familia de las *demaciaceas*, que engloba a más de 40 especies, la mayoría saprofitas, siendo una de los más aislados y con más conteo en el mundo. Es amplio productor de asma y esporosis, e incluso algunas especies actúan como oportunistas y son capaces de intervenir en ciertos procesos micóticos pulmonares, atacar la piel y lesiones neurotrópicas.

--Clonostachy rosea:

Conocido comúnmente como *Gliocladium roseum*, es un hongo perteneciente a la familia de las bionectrisaceas y de carácter sapofrito, aunque puede ser parásito de otros hongos y nemátodo. Se introduce en un amplio rango de compuestos volátiles orgánicos, lo que los vuelve tóxicos (Sánchez-Mata, 2002).



2.9.2. Mecanismos de acción de los antagonistas

Los microorganismos antagonistas no tienen un solo mecanismo de acción, ya que pueden actuar de distintas maneras sobre el mismo fitopatógeno. De esto dependerá su selección como agente para el control biológico.

- Competencia.

Orietta y Vega (2001) lo definen como un comportamiento desigual de 2 o más microorganismos ante un mismo requerimiento (sustrato), en el que debe existir cierta escasez o limitación del mismo para que haya dicha competencia. Esta puede ser por sustratos, oxígeno o espacio.

- Interacción directa.

Esta interacción es mayormente conocida como parasitismo, la cual consiste en la utilización del patógeno como alimento para el antagonista. Generalmente implican enzimas extracelulares propias del antagonista como quitinasas y celulasas (Lecuona, 1996).

Por otra parte es posible complementar esta tecnología con la aplicación de recubrimientos comestibles, ya que no sólo se encargan de brindarle cierta conservación al alimento, sino que además funcionan como barreras protectoras a los gases (reduciendo la cantidad de O₂ y aumentando el CO₂). Dichas matrices se encuentran conformadas por macromoléculas de lípidos, proteínas y carbohidratos, las cuales también sirven como vehículos para la incorporación de aditivos (Ramos-García *et al.*, 2010).



2.10. Recubrimientos comestibles.

Mc Hugh y Senesi (2000) enuncian a los recubrimientos comestibles como una capa delgada de material comestible aplicado como revestimiento sobre alimento, a diferencia de las películas comestibles las cuales son previamente elaboradas de manera sólida y aplicada posteriormente como recubrimiento.

Por otro lado Carrasco *et al.* (2012) lo describe como una capa delgada de un biopolímero (proteína o polisacárido como solución hidrocoloide o como una emulsión con lípidos) y aplicadas sobre la superficie de un alimento en adición o reemplazo de la corteza natural, y que se comportan principalmente como barreras que reducen la difusión de gases (O_2 , CO_2 , vapor de agua), permitiendo extender la vida útil del alimento.

Fueron utilizados cientos de años antes, como ejemplo se tiene la cera de abeja, ocupada en cítricos alrededor del Siglo XII en China China (Debeaufort *et al.*, 1998). Así mismo dicho autor menciona que durante el Siglo XIX se empleaba sacarosa como recubrimiento sobre nueces, almendras y avellanas, para evitar la oxidación y enranciamiento.

2.10.1. Materiales de elaboración.

Recubrimientos comestibles se han utilizado a lo largo del tiempo como medio de transporte y como empaque de los alimentos, alargando su vida útil y confiriéndole buen aspecto cualitativo. Sin embargo diversos estudios nos han mostrado que los recubrimientos no pueden reemplazar los materiales de empaquetamiento previamente utilizados. Es por ello que la industria alimentaria se encuentra en constante aprendizaje y desarrollo de tecnologías que permitan el alargamiento en su vida de anaquel (Flores, 2007).

Según Han *et al.* (2006) los recubrimientos comestibles suelen ser de características hidrofílicas, lo que puede dificultar y/o limitar su aplicación. Por ello se ha tratado de



mejorar su resistencia a la humedad y propiedades de barrera mezclándolas con lípidos. Entonces la composición y las propiedades funcionales de películas y recubrimientos deben responder a la aplicación específica, tipo de producto alimenticio y principales mecanismos de deterioro (Guilbert y Gontard, 2005). En la Tabla 8 se perciben algunos componentes característicos de los recubrimientos comestibles.

Tabla 8. Componentes de matrices utilizadas como recubrimientos comestibles de frutas y hortalizas.

Biopolímero	Componente (s)	Aporte	Referencia (s)
Polisacáridos (Celulosas y Derivados)	1. Almidones 2. Pectinas 3. Gomas 4. Alginatos 5. Gelanos	Utilizados como agentes espesantes, aumentando la viscosidad, estabilizantes de geles y emulsiones, enturbiadores, ligantes, gelificantes y agentes de relleno (favorecen la retención de agua). Se reduce la actividad enzimática y microbiana, así como la tasa respiratoria gracias a su permeabilidad selectiva al O ₂ y CO ₂ . Barrera deficiente al vapor de agua	(Flores 2007), (Fanelli 2009), García <i>et al.</i> , 1998).
Lípidos (Ceras/Aceites)	1. Cera de abeja 2. Parafina	Utilizadas sobre cítricos (manzana, pera, limón y naranja) en las que crean una barrera realmente eficiente al agua y pueden prevenir la pérdida de peso. Reducen la tasa de respiración	(Ochoa <i>et al.</i> , 2011).
Proteínas (Vegetal/Animal)	1. Gluten de Trigo 2. Proteína de Soja 3. Proteína de Leche 4. Quitosán	Baja resistencia al agua y pobres propiedades de barrera, reducción de pérdida de humedad y efecto antifúngico	Assis y Pessoa, 2004

Con el fin de mejorar el intercambio de gases, la adherencia, y las propiedades de permeabilidad a la humedad, generalmente se combinan dos o más materiales (Baldwin *et al.*, 1995). Dichas mezclas suelen realizarse mediante emulsión de uno de los componentes, generalmente un lípido, en el resto de los componentes, o mediante un recubrimiento multicapa, donde el recubrimiento se aplica mediante una técnica de laminación, en la cual se hace la inmersión de la fruta en una primera solución, generalmente la matriz, seguida por una inmersión en otro tipo de solución, ya sea de naturaleza lipídica o cálcica, entre otras.



Otro componente importante de los recubrimientos son los plastificantes, los cuales son moléculas de bajo peso molecular y volatilidad y que son utilizados para mejorar su flexibilidad. Generalmente se requieren plastificantes como el glicerol en las formulaciones a base de polisacáridos y de proteínas, para aumentar la flexibilidad de los recubrimientos, al aumentar el volumen libre o la movilidad molecular de los polímeros, reduciendo los enlaces de hidrógeno internos entre las cadenas de polímeros y aumentando el espacio intermolecular (McHugh y Krochta, 1994).

- Alginato de Sodio

En los últimos años se ha observado un interés en las propiedades del alginato y su funcionalidad sobre los alimentos, en donde se resalta el efecto prebiótico de alginatos de bajo peso molecular, ingesta como fibra para la reducción en los niveles de azúcar y colesterol, además de su capacidad para prolongar su vida útil (Parra-Huertas, 2010).

Los alginatos son sales de ácido algínico, el cual es un compuesto químico encontrado en la pared celular de las algas marinas pardas y que a su vez se encuentran constituidas por Na, Ca, Mg, K, etc, con distintos grados de solubilidad en el agua (Yabur-Bashan y Hernández-Carmona, 2007). Dicho ácido en su forma salina es un polímero biodegradable y biocompatible, que forma geles con facilidad en presencia de iones Calcio. Las proporciones en que están distribuidos dependen de su composición, así como su selectividad de enlace de cationes alcalinotérreos.

De acuerdo a Lupo *et al.* (2012), pertenecen al grupo de los polisacáridos lineales conteniendo cantidades variables de β -D-manurónico y de ácido α -L-gulurónico y su composición está dada por la relación de características manurónico/gulurónico (M/G) y que depende de la fuente de la cual proviene y que a su vez determinan las propiedades físicas del mismo.

Estos se agrupan en homopolímeros tipo bloques G (GGG), bloques M (MMM) y heteropolímeros (MGMG). Si en la estructura polimérica hay más bloques G, generalmente el gel es duro, de alta porosidad, pero frágil, en cambio si hay más



bloques M forman un gel de fuerza media, pero con alta resistencia a la sinéresis, haciéndolos más elásticos (Hernández *et al.* 2005). Una vez que se adicionan iones calcio, la estructura sufre cambios conformacionales, dando lugar al conocido modelo de gelificación de alginato conocido como “caja de huevo” y que se muestra en la Figura 17.

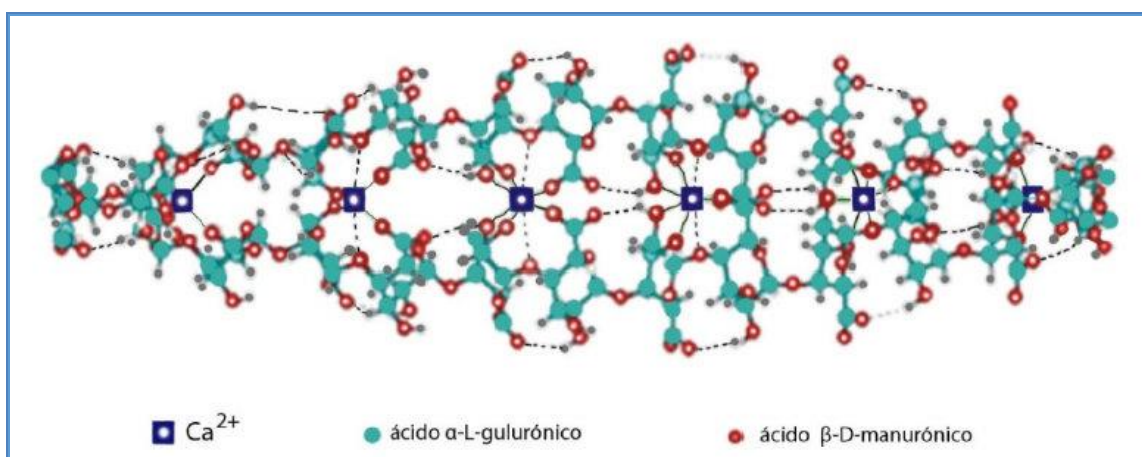


Figura 17. Modelo de “caja de huevo”, estructura conformacional del alginato de sodio.
Fuente: Avendaño-Romero *et al.* (2012).

2.10.2. Aplicación y funcionalidad.

Uno de los aspectos funcionales más importantes de los recubrimientos es el transporte de aditivos, tales como antimicrobianos, antioxidantes, estabilizantes, colorantes, saborizantes y compuestos bioactivos o funcionales que le confieren un beneficio añadido y una mejora en la calidad, en sus aspectos nutricionales, sin destruir su integridad (Guilbert y Gontard, 2005).

Es posible incorporar antioxidantes para evitar el oscurecimiento superficial de los alimentos provocado por el pardeamiento enzimático, tales como el ácido ascórbico y sus sales, así como aminoácidos que contienen azufre como cisteína y glutatión.

Así mismo es posible añadir antimicrobianos como una técnica innovadora para el aseguramiento de inocuidad y vida útil de los alimentos. Entre los principales agentes antimicrobianos incorporados en recubrimientos comestibles se encuentran sorbatos,



ácidos, bacteriocinas, lizozima y más recientemente aceites esenciales (Rojas-Graü, 2006).

En ocasiones se pueden incorporar agentes estabilizantes de textura para mantener la calidad del producto, tales como sales cálcicas (ocupadas para mantener la firmeza) de acuerdo a Soliva-Fortuny *et al.* (2003), las sales cálcicas se emplean frecuentemente en frutas frescas cortadas con la finalidad de frenar fenómenos de pérdida de firmeza y para mantener la textura inicial.

Recientemente se utilizan recubrimientos para transportar ingredientes activos, siendo excelentes vehículos para mejorar el valor nutricional de los alimentos Rojas-Graü *et al.* (2006). Por otra parte Krasaekoopt *et al.* (2004) describe la micro encapsulación de bacterias prebióticas en cuentas de alginato sódico con distintos recubrimientos.

De acuerdo a Kester y Fenemma (1986), los recubrimientos comestibles poseen ciertas funciones que de acuerdo a sus componentes principales, presentaran distintas aplicaciones (ver Tabla 9). Dentro de sus funcionalidades está retardar la migración de humedad, controlar el transporte de gases (CO_2 , O_2 y etileno), retener componentes volátiles, sirve como medio de transporte para aditivos, mejoran propiedades mecánicas y físicas, por lo tanto les confiere calidad. En la Figura 18 es posible ver la funcionalidad de los recubrimientos comestibles aplicados como tecnologías de conservación.

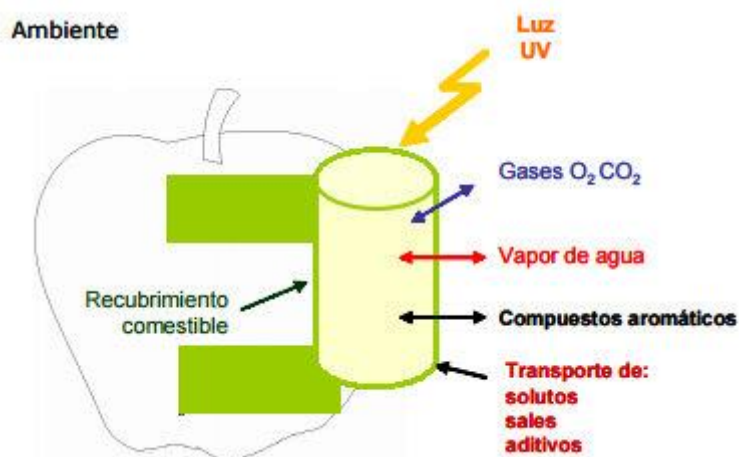


Figura 18. Propiedades funcionales de recubrimientos en alimentos.
Fuente: Rojas-Graü, (2006).



Tabla 9. Aplicación de distintos recubrimientos comestibles en productos hortofrutícolas.

RECUBRIMIENTO	APLICACIÓN	EFEECTO/FUNCIONALIDAD	REFERENCIA
CMC + film sintético	Espárrago blanco MP (<i>Asparagus offi cinalis</i> <i>L.</i>)	Actuó como barrera ante la pérdida de humedad, e intercambio de gases, se retrasó la formación de color púrpura durante el almacenamiento a 4 °C durante 11 días.	Tzoumaki <i>et al.</i> (2009).
Aislado de proteínas de suero lácticas + cera de abeja + ácido esteárico + glicerol	Manzana MP	Reducción del pardeamiento enzimático	Perez-Gago <i>et al.</i> (2003)
Almidón de ñame (<i>Dioscorea sp.</i>) + glicerol a 4% y 2% (w/w) respectivamente. El quitosano fue agregado en concentraciones de 0.5% y 1.5% (w/w).	Zanahoria MP	Actividad antimicrobiana se redujo en RC que contenía 1.5% (w/w) de quitosano y fue totalmente eficaz sobre el crecimiento de mohos y levaduras, disminuyéndose en 2.5 ciclos logarítmicos en los trozos de zanahoria que se almacenaron durante 15 días.	Durango <i>et al.</i> (2006)
Quitosano (0.6% v/v)	Níspero japonés F (<i>Eryobotrya japonica T.</i>)	Reducción de la pérdida fisiológica de peso, la tasa de respiración y la producción de etileno.	Márquez <i>et al.</i> (2009).
Caseinato de Sodio (1% p/v)	Calabaza o auyama MP (<i>Cucurbita moschata Duch.</i>)	Disminución de microflora nativa.	
Carragenina + Glicerol+ CaCl ₂ +Tween 80	Fresa F (<i>Fragaria ananassa</i> cv. Camarosa)	La adición de CaCl ₂ disminuye tasa de crecimiento de microorganismos. La mínima pérdida de firmeza se obtuvo en frutos recubiertos con Carragenina+CaCl ₂ .	Ribeiro <i>et al.</i> (2007).
Alginato de sodio + glicerol + CaCl ₂ (0.75 % p/v cada uno)	Pera MP (<i>Pyrus communis L.</i> cv. Flor de Invierno)	Incremento en la resistencia al vapor de agua en los RC evaluados, la adición de los agentes antipardeantes no sólo redujo el pardeamiento enzimático sino también se ralentizó el deterioro por microorganismos. Se disminuyó la producción de etileno.	Oms-Oliu <i>et al.</i> (2008)
Alginato de sodio+CaCl ₂ (0.025 g./100 ml. De solución)	Melón MP (<i>Cucumis melon L.</i>) “piel de sapo.	Evitó la deshidratación e inhibió la producción de etileno. CaCl ₂ permitió mantener la firmeza de la fruta troceada.	

MP. Mínimamente Procesado, F. Fresco.



3. OBJETIVOS





3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de un recubrimiento comestible adicionado con agente antagonista (*Trichoderma harzianum*, *Fusarium sp*) sobre la calidad y control del moho gris (*Botrytis cinerea*) en jitomate (*Lycopersicon esculentum*) que permita alargar su vida postcosecha y ser una alternativa tecnológica de conservación.

3.2. Objetivos Particulares

Objetivo Particular 1

Evaluar el efecto antagónico de *Trichoderma harzianum* y *Fusarium sp* sobre *Botrytis cinerea* (moho gris) mediante pruebas reto para seleccionar el de mayor efecto antifúngico y seleccionar la concentración más adecuada mediante pruebas *in vitro*.

Objetivo Particular 2

Aplicar un recubrimiento a base de alginato de sodio (1%) adicionado con un agente antagonista y evaluar su efecto sobre los parámetros de calidad (tamaño, color, firmeza, sólidos solubles totales, pH, acidez, pérdida de peso, contenido en licopeno y respiración), así como la inhibición de crecimiento de *Botrytis cinerea* en jitomate para proponerlo como tratamiento de conservación.



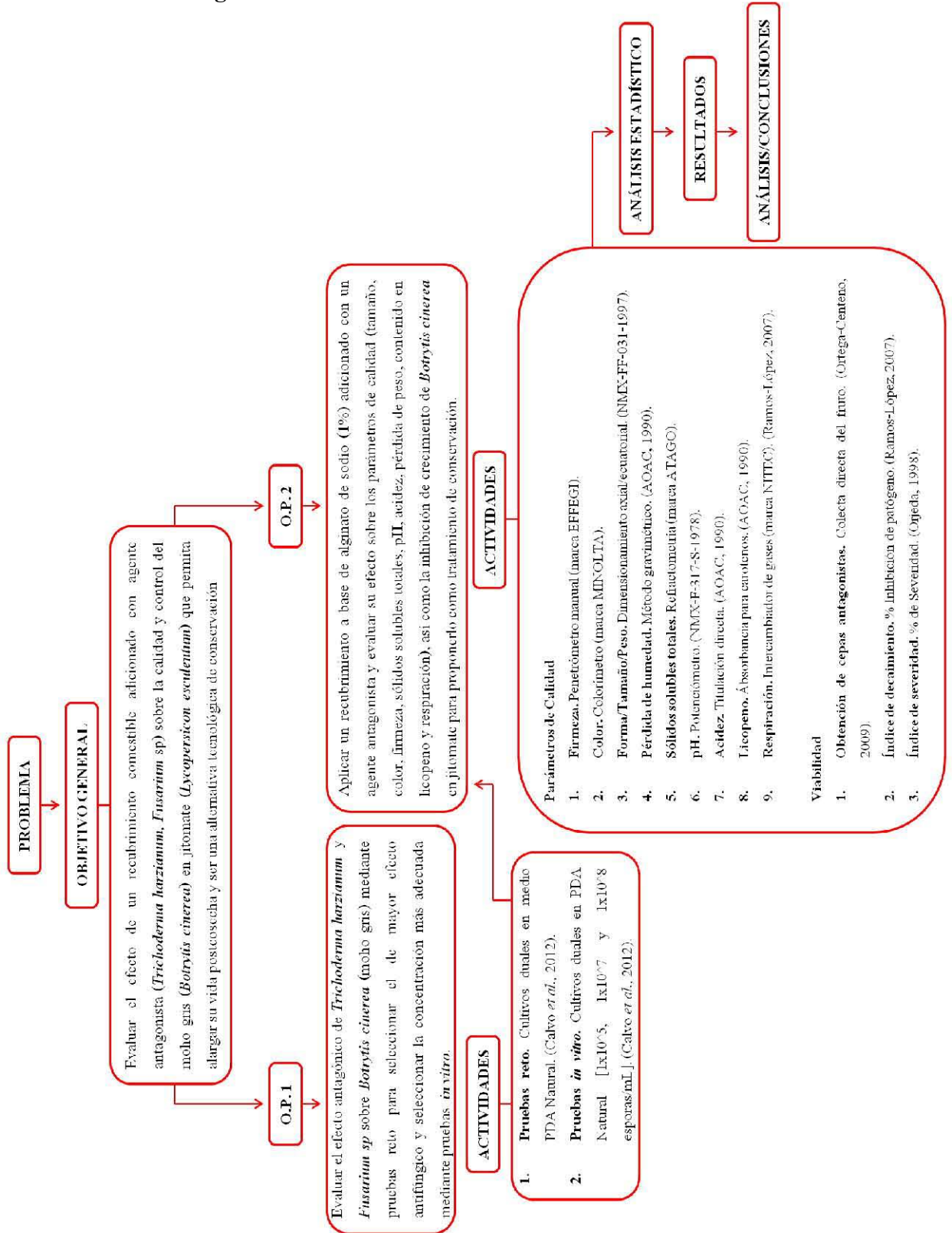
4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL





3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.

3.1. Cuadro Metodológico.





4.2. Material biológico

En el objetivo 1, se trabajaron cepas del fitopatógeno (*Botrytis cinerea*), las cuales fueron aisladas de jitomates conservados por 25 días a 25 °C y sembradas en medio de cultivo PDA natural, incubándose a 28 °C durante 9 días. Por otro lado las cepas de los agente antagonistas (*Trichoderma harzianum* y *Fusarium sp*) fueron donadas por parte del Colegio de Postgraduados (COLPOS) y re-sembradas de igual manera en medio de cultivo PDA natural, incubándose a las mismas condiciones de temperatura y tiempo.

En la Figura 19 se observa el crecimiento de los microorganismos que se sometieron las pruebas reto en medio PDA, tal como lo describe Calvo *et al.*, (2012).

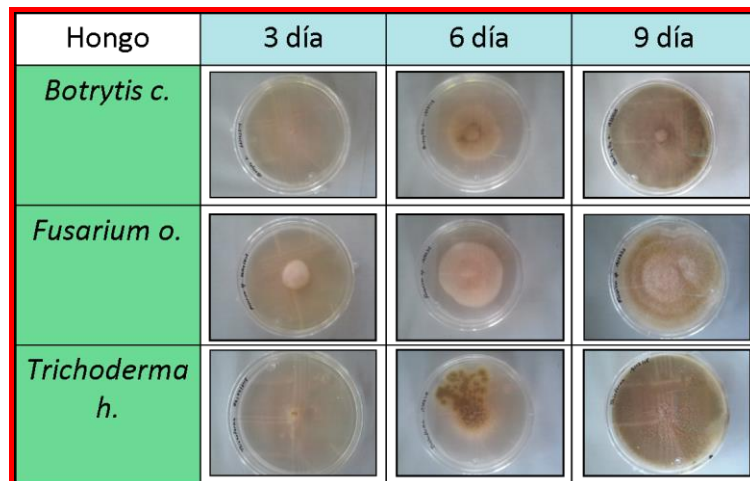


Figura 19. Crecimiento radial de hongos previo a pruebas reto durante 9 días a 25 °C.

El material vegetal utilizado para la evaluación del objetivo 2 fue jitomate (*Lycopersicon esculentum*) tipo saladette cultivados en invernaderos del estado de Puebla, específicamente en el municipio de Aquixtla, en la zona noroeste de la sierra poblana.

Los frutos se recolectaron a primera hora de la mañana de los invernaderos, tomando aquellos tomates en estado de madurez grado 2 a 3 con coloración verde-naranja/naranja-rojiza. Inmediatamente después se transportaron en cajas de cartón con



orificios de ventilación a temperatura ambiente al Centro de Asimilación Tecnológica (CAT) de la Universidad Nacional Autónoma de México.

4.3. Selección de antagonistas

Para la selección del antagonista, se empleó la técnica de cultivos duales tanto para las pruebas reto, como para las pruebas de selección de concentración de antagonista *in vitro* utilizando dos tipos de microorganismos (*Trichoderma harzianum*. y *Fusarium spp*) a condiciones de incubación de 28 °C (Calvo *et al.*, 2012).

Como actividad preliminar se preparó medio de cultivo Agar-Papa-Dextrosa natural como sustrato óptimo para los hongos en las pruebas (Figura 20).



Figura 20. Preparación de medio de cultivo, sembrado de hongos en caja petri.

4.3.1. Técnica por cultivos duales.

La técnica de cultivos duales consiste en colocar en un extremo de la caja petri un disco de 5 mm como máximo del medio de cultivo que contiene al agente antagonista y del otro extremo de la caja un disco similar al anterior pero con el fitopatógeno en este caso tal y como se muestra en la Figura 21.

En dicha técnica un hongo actuará como fitopatógeno y el otro será el antagonista, los cuales competirán por el sustrato y por ende dependerá de ahí su crecimiento y desarrollo, por esto se deben de incubar en las óptimas condiciones para ambos agentes (28° C) (Calvo *et al.*, 2012).



Figura 21. Diferentes pruebas de antagonismo mediante cultivos duales.

En la técnica de cultivos duales se evaluaron dos aspectos: El primero fue la competencia por el sustrato y el segundo fue el nivel de antibiosis.

- *Competencia por sustrato*

El aspecto competitivo se evaluó mediante la ecuación empírica propuesta por Bell *et al.*, (1982), la cual propone la competencia del medio nutritivo en 5 clases:

I: El antagonista ocupa completamente la superficie del medio de cultivo cubriendo totalmente al patógeno.

II: Antagonista sobrepasa 2/3 partes de la superficie del medio.

III: Antagonista y patógeno ocupan cada uno la mitad de la caja y ninguno parece dominar al otro.

IV: El patógeno sobrepasa al antagonista 2/3 partes.

V: El antagonista no tiene efecto alguno con el patógeno, cubriendo totalmente el medio.

Los resultados son expresados en % de espacio ocupado por el antagonista con respecto al patógeno.

El tiempo de contacto en días entre antagonista y patógeno durante las pruebas y el crecimiento radial expresado en centímetros por cada microorganismo.



- *Antibiosis*

Para la comprobación del efecto antibiótico se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) a los 7 días y se calculó por medio de la ecuación de Skidmore y Dickinson (1976). Los resultados se expresan en % de inhibición del fitopatógeno.

$$PIC = [(C1 - C2) / C1] \times 100$$

$C1 = \text{Crecimiento radial testigo solo (fitopatógeno)}$

$C2 = \text{Crecimiento radial fitopatógeno}$

4.3.2. Pruebas *in vitro* para determinación de concentración del antagonista.

Las pruebas *in vitro* se realizaron para conocer la concentración más adecuada en la aplicación del inóculo. Inicialmente se preparó medio de cultivo PDA natural y estéril y se realizó el vaciado en 6 cajas petri, posteriormente se obtuvo el inóculo de *Botrytis cinerea* mediante raspado de cajas con el patógeno maduro y se llevo a cabo un conteo en cámara de Neubauer (Merchán-Gaitán *et al.*, 2014). Una vez contadas las esporas se diluyeron a manera de obtener 3 concentraciones diferentes: 1×10^5 , 1×10^7 y 1×10^9 esporas/mL. Finalmente las pruebas se realizaron sembrando tanto *Botrytis* como *Trichoderma* en un extremo diferente de las cajas, dispersando las diferentes concentraciones en la misma caja. Se evaluó el tiempo de contacto en días y la formación de halo de inhibición del patógeno en cm.

4.4. Pruebas *in vivo*

Los jitomates se distribuyeron en 2 lotes de 25 frutos cada uno fueron y seleccionados, siendo un total de 50 tomates, los cuales se lavaron y desinfectaron con agua clorada a concentración de 200 ppm, posteriormente se enjuagan con agua estéril para finalmente secar con ayuda de sanitas estériles.

Posterior a su lavado y desinfección, cada lote se envasó en cajas de plástico transparentes y se almacenaron a 10°C en cámara de refrigeración con ventilación para evitar así su contaminación.



Cuando el fitopatógeno llegó a edad madura (9 días), se inoculó a concentración de 1×10^5 , 1×10^7 y 1×10^8 esporas/mL a todo el lote de tomates. Para ello se recurrió a un raspado de las cajas petri con crecimiento de hongo para obtener la máxima cantidad de inóculo, dicha cantidad fue constatada mediante cámara de Neubauer como se puede apreciar en la Figura 22. Posteriormente se inoculó por el método de contacto directo (Ortega-Centeno *et al.*, 2009), por medio del frotamiento con hisopos humedecidos con solución patógeno-tween (0.5%), incubándose por 24 horas a 25 ° C.

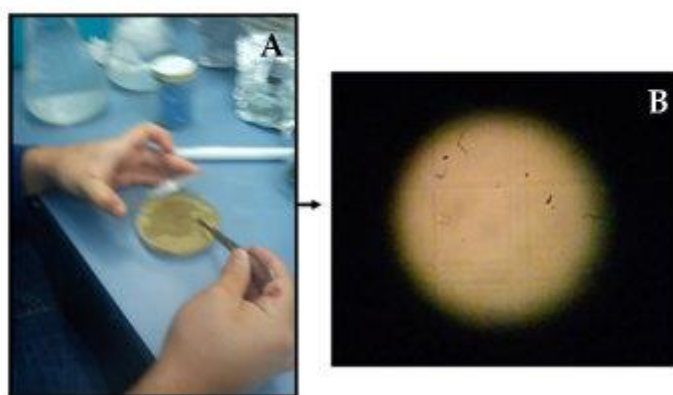


Figura 22. A) Obtención de inóculo de *Trichoderma harzianum*. B) Conteo de esporas en cámara de Neubauer.

4.5. Elaboración y aplicación de recubrimiento comestible.

La elaboración del recubrimiento comestible se hizo pesando el biopolímero a utilizar como matriz (alginato de sodio) al 1%, en combinación con glicerol al 1% como plastificante y Tween 80 al 0.6% como tensoactivo (Oms-Oliu *et al.*, 2008). Enseguida se irradió el material mediante la aplicación de UV-C por 5 minutos, posteriormente se mezcló a temperatura de 60 ° C por 2 minutos y se homogeneizó a 3000 RPM con ayuda de un homogeneizador.

Finalmente se llevó a cabo la mezcla entre el antagonista diluido y el recubrimiento, aplicándose al lote de tomates a evaluar y previamente inoculados con el fitopatógeno mediante la técnica de inmersión (Flores, 2007), a 25 ° C por 5 minutos y una última inmersión en cloruro cálcico como estabilizante y regulador de pH, tal y como se muestra en la Figura 23 (Lee *et al.*, 2003). Se permite secar a 25 ° C por 20 minutos.

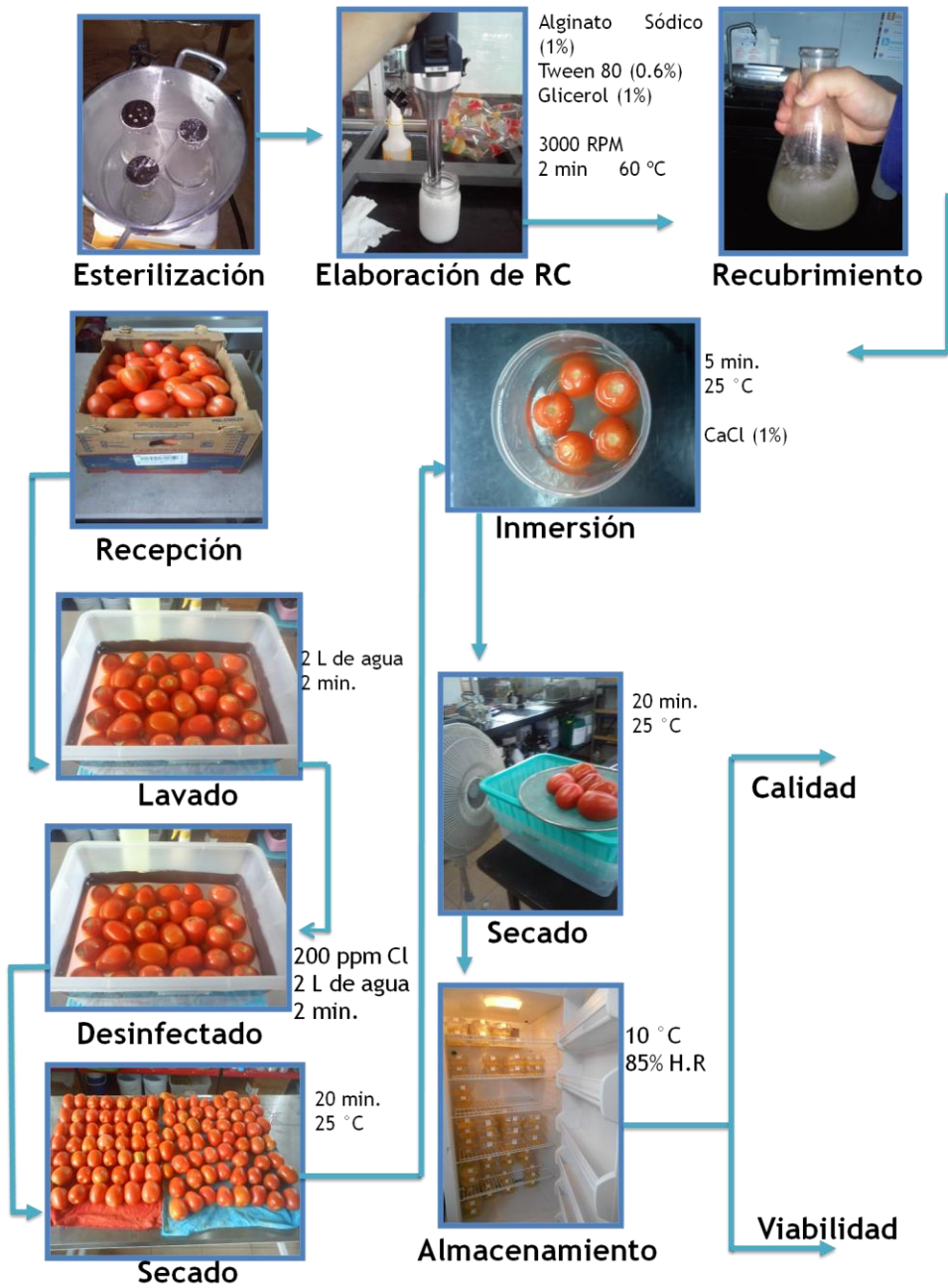


Figura 23. Diagrama de proceso para jitomates recubiertos con alginato de sodio.

4.6. Evaluación de la calidad y viabilidad de tomate recubierto.

A los 3 lotes destinados a la evaluación de la calidad se les determinaron los parámetros físicos, químicos, fisicoquímicos y fisiológicos que se observan en la Figura 24 y se



describen en el apartado de técnicas analíticas (4.7), a través de 20 días con muestreos cada 2 días para los aspectos fisiológicos y cada 4 días para las demás.

Del mismo modo 2 lotes se evaluaron para su viabilidad. Un control (jitomates sin recubrimiento) y un segundo lote con jitomates recubiertos con antagonista, ambos lotes fueron analizados por 20 días evaluando el daño causado por el hongo (índice de decaimiento e índice de severidad), mediante seguimiento fotográfico a través de dicho tiempo.

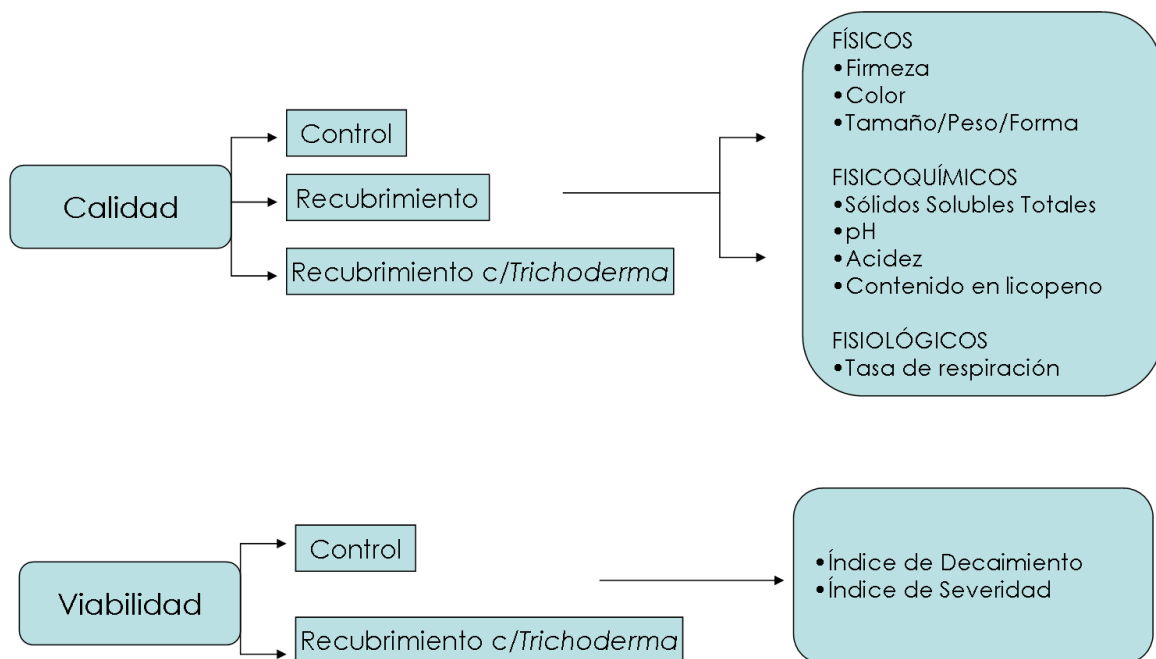


Figura 24. Diagrama de proceso para la evaluación de tomates “*in vivo*”.

Todos los jitomates se mantuvieron almacenados después de cada muestreo en cámara de refrigeración a 10 ° C con ventilación.

4.7. Técnicas analíticas

Las técnicas utilizadas tanto para la evaluación de la calidad, como la viabilidad se describen a continuación:

4.7.1. Parámetros físicos



- Determinación de Color.

La determinación de color se realizó de forma individual, se tomaron 8 medidas por cada fruto, siendo 3 frutos por tratamiento y distanciadas por 45 ° utilizando un colorímetro (Minolta - CR-300), el cual está basado en la sensibilidad del color a través del ojo humano. Los resultados de tonalidad, saturación y luminosidad se expresaron en °Hue y Croma en escala CIELAB (Ramos-López, 2007), como se observa en la Figura 25.



Figura 25. A) Colorímetro MINOLTA. B) Determinación de color en tomates mediante colorímetro.

- Determinación de Firmeza.

La firmeza se determinó penetrando las dos caras de cada fruto y 3 frutos por tratamiento, utilizando un Penetrómetro digital (EFFEGI - FT327) expresando los resultados en N (Figura 26).



Figura 26. Determinación de firmeza.



- Determinación de la pérdida de peso.

La disminución en el peso durante su manipulación se evaluó utilizando la diferencia de pesos al inicio y al final del almacenamiento utilizando una balanza analítica cada 2 días. Los resultados se expresan en % de peso perdido (AOAC, 1990).

4.7.2. Parámetros fisicoquímicos

- Determinación de sólidos solubles totales

Determinado por lectura directa en el prisma del equipo, al cuál se coloca una gota del fruto a evaluar utilizando un Refractómetro (Marca Atago, Modelo N-1E) (0-32%) a 20°C. Los resultados se expresan en ° Bx (Ramos-López, 2007).

- Determinación de pH y acidez

Una vez que se pesaron 10 g de tomate, se homogeneiza con 90 mL de agua y posteriormente se filtraron. El pH se determinó con la ayuda de un potenciómetro marca HANNA Instrument, Modelo Checker (NMX-F-317-S-1978).

Mientras que la acidez se obtuvo por titulación directa con NaOH al 0.1 N, tomando en cuenta sus miliequivalentes, representando los resultados en porcentaje de ácido cítrico como se muestra en la Figura 27 (AOAC, 1990).



Figura 27. A) Determinación de Ph. B) Determinación de Acidez.



4.7.3. Parámetros químicos.

- Determinación del contenido de licopeno

El licopeno se determina utilizando la técnica para obtener carotenoides (AOAC, 1990), en la cual la muestra se centrifuga y se lava en distintas ocasiones con éter de petróleo y agua (Figura 28), para finalmente recuperar la fase orgánica y realizar la lectura espectrofotométrica a longitud de onda de 454 nm.

El contenido de licopeno para cada muestra de tomate expresado en mg de licopeno/ 100 g de tomate y se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Licopeno}(\text{mg} / 100 \text{ g}) = \frac{(D.O)(3.857)(V_m)}{m} \times 100 \dots\dots\dots \text{Ec. 1}$$

Donde:

D.O= Absorbancia a 454 nm.

V_m= Volumen del líquido recuperado.

M= Cantidad de muestra (g).

3.857= mcg/mL de β- caroteno para producir absorbancia de 1 a 454 nm.



Figura 28. Lavados de muestra para obtener licopeno de tomate.



4.7.4. Parámetros fisiológicos

- Determinación de la tasa de respiración

La tasa de respiración se evaluó mediante un analizador de gases por infrarrojos Marca Nitec en donde los tomates se envasaron herméticamente por 1 hora generando estrés en el fruto. Se realizaron lecturas en función de la producción de CO₂. Los resultados se expresan en mg de CO₂/ Kg PF h (Ramos-López, 2007).

4.7.5. Parámetros de deterioro.

- Determinación del índice de decaimiento.

Se realiza mediante una evaluación visual de acuerdo a una escala empírica en la que interviene el deterioro causado por el patógeno sobre el fruto. Escala 1: NO dañado; 2: Daño ligero (<25%); 3: Daño Moderado (>25% y <50%); 4: Daño Severo (>50% y <75%); 5: Completamente dañado (75%-100%), (Ramos-López 2007).

$$IDC = \sum \frac{(nive\ da\ ño)(\# \text{ frutos } n\ ive\ da\ ño)}{\# \text{ frutos } t\ o\ t\ a\ l\ e\ s} \dots\dots Ec. 2$$

- Determinación del índice de severidad.

La severidad de la enfermedad se calcula mediante la ecuación propuesta por (St-Arnauld *et al.*, 1994), usando una escala descriptiva (Tabla 10).

$$\text{Índice Severidad}(\%IS) = \left(\sum (n \cdot b / N \cdot B) \cdot 100 \right) \dots\dots Ec. 3$$

Donde:

n = Número de frutos de la misma clase

b = Clase

N = Número total de frutos evaluados

B = Número total de clases



Tabla 10. Índice de severidad por categoría.

Escala	Severidad
1	El fruto presenta de 0-1 manchas necróticas
2	El fruto presenta de 2-3 manchas necróticas
3	El fruto presenta de 4-5 manchas necróticas
4	El fruto presenta de 6-10 manchas necróticas
5	El fruto presenta 1/3 de la superficie dañada

4.8. Análisis estadístico.

Para los 2 objetivos se utiliza un diseño factorial simple o completamente al azar y se utilizó el programa estadístico SPSS aplicando un análisis de varianza ANOVA, para establecer si existe diferencia significativa en las medias. Comparando con pruebas de rango múltiple de Tukey con un nivel de significancia de 5%. El experimento se realizó por duplicado, cada uno con 3 réplicas.



5. RESULTADOS





5. Resultados

5.1. Pruebas reto contra *Botrytis cinerea*

Uno de los métodos de conservación de frutos y hortalizas más utilizados y de bajo costo es el control biológico de enfermedades causadas por hongos, siendo el moho gris originado por *Botrytis cinerea* el que ocasiona la mayoría de las pérdidas postcosecha en condiciones de almacenamiento (Bosquez, 2006). Para dicho control se emplean diversos microorganismos como bacterias y hongos, como es el caso de *Trichoderma harzianum* y *Fusarium sp* los cuales ejercen un papel biocontrolador, competitivo y en ocasiones estimulan el crecimiento del fruto (Merchán-Gaitán *et al.*, 2014).

En la Figura 29 se observa un notorio efecto inhibitorio por parte del antagonista *Trichoderma harzianum* sobre el patógeno, ya que en todas las réplicas se formó un halo de inhibición que no permitió el crecimiento del mismo, caso contrario a *Fusarium sp* el cual tuvo un crecimiento similar al patógeno y en ningún caso existió formación de halo.

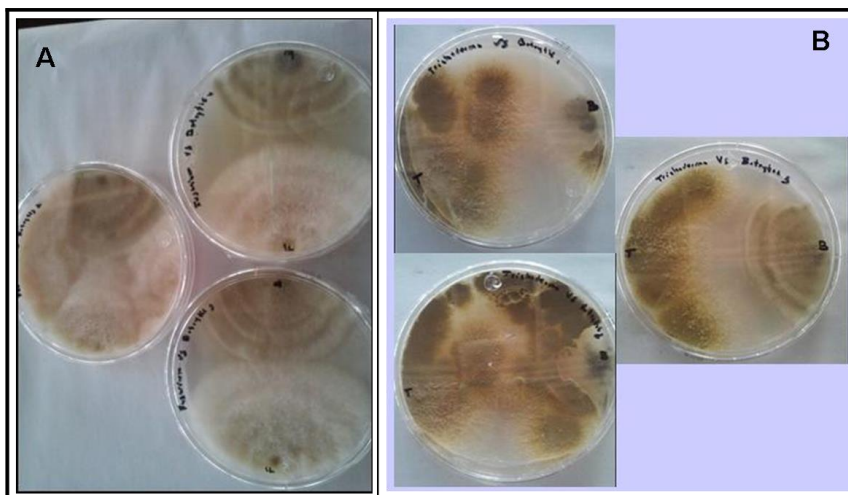


Figura 29. Pruebas reto por cultivos duales entre (A) *Fusarium sp* – *Botrytis cinerea*. (B) *Trichoderma harzianum* – *Botrytis cinerea*.

La inexistencia de halo en pruebas *Fusarium sp* – *Botrytis cinerea* se debe principalmente a la baja potencia antibiótica del microorganismo frente al patógeno,



sumado al comportamiento similar que muestran ambos frente a los nutrientes de la planta y el fruto tal y como menciona Galiano *et al.* (2007).

5.1.1. Competencia por espacio y/o nutrientes contra *Botrytis cinerea*

De acuerdo a los resultados obtenidos en las pruebas de reto, se puede observar en la Figura 30 la competencia por espacio entre las cepas antagonistas y el fitopatógeno, en donde *Trichoderma harzanium* tuvo un 6.73% mayor espacio ocupado en la caja con respecto a *Fusarium sp* quien obtuvo 66.6%, ubicándose en la escala II de Bell *et al.* (1982), donde el antagonista ocupa 2/3 de la superficie del medio de cultivo; sin embargo en el caso de *Trichoderma harzanium* existió la formación de halo de inhibición, lo que no permitió la esporulación de *Botrytis cinerea*, caso contrario a *Fusarium sp* en las cuales las cepas se ubicaron en la escala III (antagonista y patógeno colonizan la mitad de la superficie del medio de cultivo).

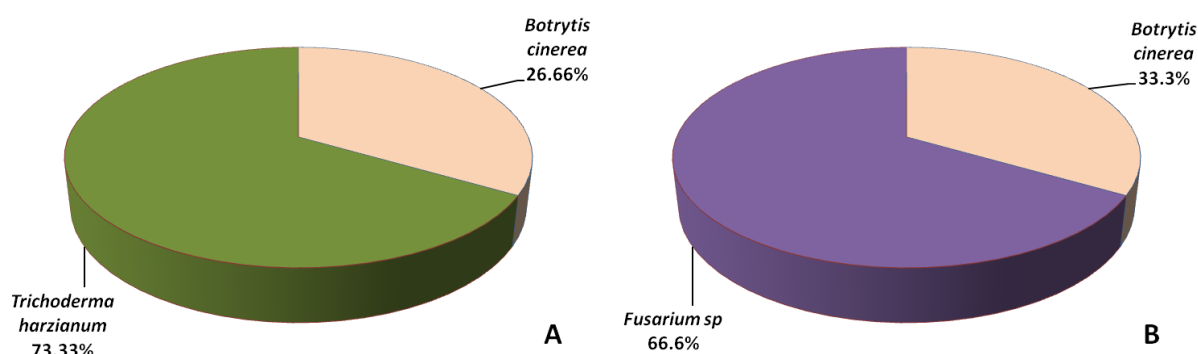


Figura 30. Escala de Bell. Competencia por espacio entre *Trichoderma harzanium* – *Botrytis cinerea* (A) y *Fusarium sp* – *Botrytis cinerea* (B).

Según Ezziyanni *et al.* (2004) los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan a los fitopatógenos son 3 tipos. El primero es por competencia directa por el espacio o por nutrientes, la segunda por producción de metabolitos antibióticos volátiles y no volátiles, así como parasitismo directo.

En dicha competencia el antagonista ejerce un mecanismo de absorción mejor que el antagonista o posee enzimas extracelulares más activas, de manera que uno obtiene más nutrientes que otro y crece. Este mecanismo está demostrado en cuanto a las fuentes de



carbono y de nitrógeno, y también es posible para otros requerimientos como oxígeno, hierro y en el caso de autótrofos por la luz (Feres-Castiel y Rubio-Susan, 2005).

En un estudio realizado por Noja-Izzeddin y Medina (2011) se observó la inhibición de *R. solani* y *Phytophthora nicotianae* por parte de *Trichoderma viride* teniendo halos de inhibición de 1.5 a 2 cm (78.57% de espacio ocupado). Por otro lado Michel-Aceves *et al.* (2008) evaluó la capacidad antagónica de *T. harzianum* (Th), *T. longibrachiatum* (Tl) y *T. koningii* (Tk) en contra de *A. solani* y *P. infestans* en donde todos ellos sobrecrecieron y esporularon al patógeno *A. solani*, ubicándose en la escala I (antagonista ocupó todo el espacio del medio), mientras que para *P. infestans* todos los aislados se ubicaron en la clase II de Bell *et al.* (1982).

Finalmente Calvo *et al.* (2012) realizó las pruebas reto sobre *Botrytis cinerea* en donde sus aislados obtenidos de *Trichoderma sp* se colocaron en la escala I y II, esto sustenta lo que Bell *et al.* (1982) quienes hallaron que un 65% de las cepas de este hongo se ubicaron en la clase I al ser evaluados contra *R. solani* después de 7 días.

En el caso de *Fusarium sp*, Feres-Castiel y Rubio-Susan (2005) enuncian la competencia por sustratos como carbono y hierro entre aislados saprotróficos de *Fusarium oxysporum* y aislados patógenos de la misma especie, en donde el mayor desarrollo de los saprotróficos impide el crecimiento del patógeno en competencia por el carbono.

La competencia por nutrientes y sustrato en la superficie de las plantas es un importante mecanismo de combate biológico, tal y como explica Campbell (1989), existe una competencia por los sustratos exudados de las plantas, se ha demostrado que *Botrytis cinerea* es vulnerable a la competencia de dichos nutrientes.

5.1.2. Tiempo de contacto entre patógeno-antagonista

Es posible apreciar en la Figura 31, que el tiempo de contacto entre antagonista y patógeno tuvieron diferencia significativa ($P \leq 0.577$) entre prueba y prueba, siendo de



3 +/- 0.5 días para las pruebas *Fusarium sp*-*Botrytis cinerea* y de 3.5 +/- 0.57 días para aquellas entre *Trichoderma harzianum*-*Botrytis cinerea*, esto debido a que los hongos de una de las replicas entre estas últimas pruebas tuvo contacto hasta el 4 día.

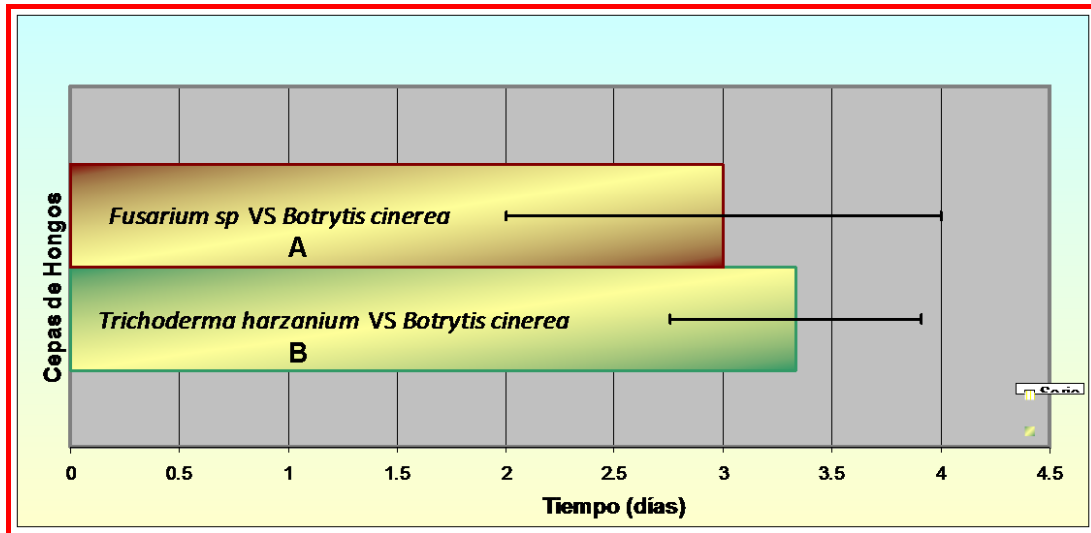


Figura 31. Tiempo de contacto entre A). *Fusarium sp.* - *Botrytis*. B). *Trichoderma harzianum* - *Botrytis cinerea*.

El tiempo de contacto es el lapso de tiempo en días en el que las cepas de un antagonista entran en contacto con las cepas de un fitopatógeno (Calvo *et al.* 2012). Dicho tiempo es una característica deseable, sobre todo para aquellos antagonistas, ya que entre menor sea este, implicará una mayor agresividad (Michel-Aceves, *et al.* 2008).

Estos últimos autores determinaron que *Trichoderma* y diversos patógenos (*R. solani*, *Sclerotium rolfisii* Sacc.) entran en contacto entre uno y tres días de establecida la prueba. Benhamou y Chet (1993) registraron valores similares desde el segundo día de la inoculación entre *Trichoderma harzianum* y *R. solani*, mostrando gran susceptibilidad de patógeno y agresividad del antagonista.

La tardanza entre el contacto por parte de *Trichoderma harzianum*-*Botrytis cinerea* puede deberse principalmente a la tasa de crecimiento de dicho hongo, como lo mencionan Cherif y Benhamou (1990), pues se debe conocer la tasa de crecimiento de cada microorganismo, ya que permite determinar si debe sembrarse uno de ellos antes (de 1 a 2 días), para conocer todo el potencial de los metabolitos secundarios. Y



concuenda con lo que Rifai (1969) describe, puesto que antagonista *Trichoderma h.* tiene su madurez desde los 7 a 9 días.

5.1.3. Crecimiento radial

En la Figura 32 es posible observar que durante las pruebas entre *Trichoderma harzanium-Botrytis cinerea* presentaron 19.09% más crecimiento en las cajas que *Fusarium sp-Botrytis cinerea* (5.76 y 4.66 cm respectivamente) a los cuatro días, mostrando diferencias significativas de ($P < 0.56$).

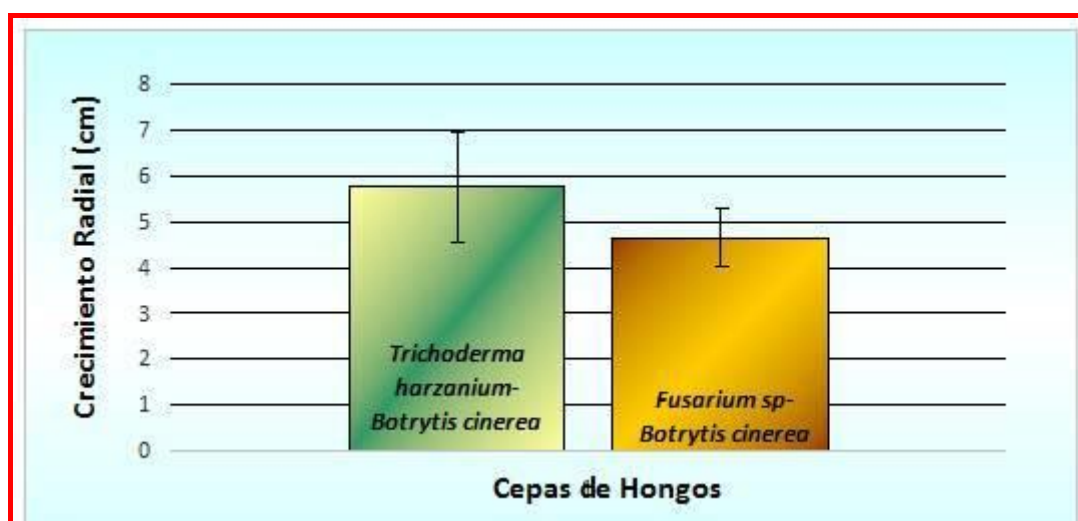


Figura 32. Crecimiento Radial entre antagonistas y fitopatógenos a los cuatro días de establecidas las pruebas.

De acuerdo a Calvo *et al.* (2012), el crecimiento radial de las cepas de un microorganismo es simplemente el radio de la colonia expresado en centímetros.

La inhibición del crecimiento radial del patógeno en las pruebas reto se debe principalmente a los tres mecanismos de acción de los agentes antagonistas (competencia, parasitismo y antibiosis) como menciona Fereres-Castiel y Rubio-Susan (2005).

Orietta y Vega (2001), enuncia que la competencia por el espacio y nutrientes es más favorable principalmente por hongos que se desarrollan en las superficies de las hojas antes de penetrar el fruto, tal es el caso de los aislados de *Trichoderma*. Por otro lado



Chet y Henis (1985), destacan que los hongos pertenecientes al género *Trichoderma* poseen características micoparasitarias, en donde sus hifas penetran las estructuras de supervivencia del patógeno como esclerocios o hifas en estado de crecimiento, enredándose alrededor del hospedero y provocando la muerte.

Ezziyyani *et al.*, (2004) destaca el papel importante de las enzimas reguladoras de cada microorganismo, debido a que reducen y destruyen las colonias patogénicas. Dicho autor concuerda con lo que Bara *et al.* (2003) describen, utilizando laminarina como sustrato en las pruebas con *Trichoderma* obtuvieron un aumento de la actividad β -1,3-glucanasa hasta del 67% y una mayor acción lítica sobre patógenos como *Sclerotinia rolfsii* y *Rhizoctonia solani* respectivamente.

Respecto al crecimiento radial perteneciente a las pruebas *Fusarium sp-Botrytis cinerea* se observaron resultados similares, ocupando cada uno la mitad de la caja, esto puede deberse al comportamiento saprófito de *Fusarium sp* y al mecanismo de fungistiasis que este provoca, tal y como menciona Fereres-Castiel y Rubio-Susan (2005), ya que impone condiciones cuando existe limitación de nutrientes (generalmente por carbono). Dicha limitación impide la colonización e infección del patógeno, sin embargo origina una intensa competencia y por ende un similar comportamiento por el espacio.

5.1.4. Antibiosis

Las cepas de *Trichoderma harzanium* utilizadas en las pruebas reto, presentaron los valores más altos de inhibición del crecimiento de *Botrytis cinerea* con un porcentaje de índice de crecimiento (PIC) de 72.85% como se percibe en la Figura 33, siendo significativamente diferente ($P < 0.05$) con respecto al otro antagonista (*Fusarium sp*). Así mismo las cepas con *Fusarium sp* presentaron un PIC de 44.28%, siendo 28.57% menos efectivo que el anterior.

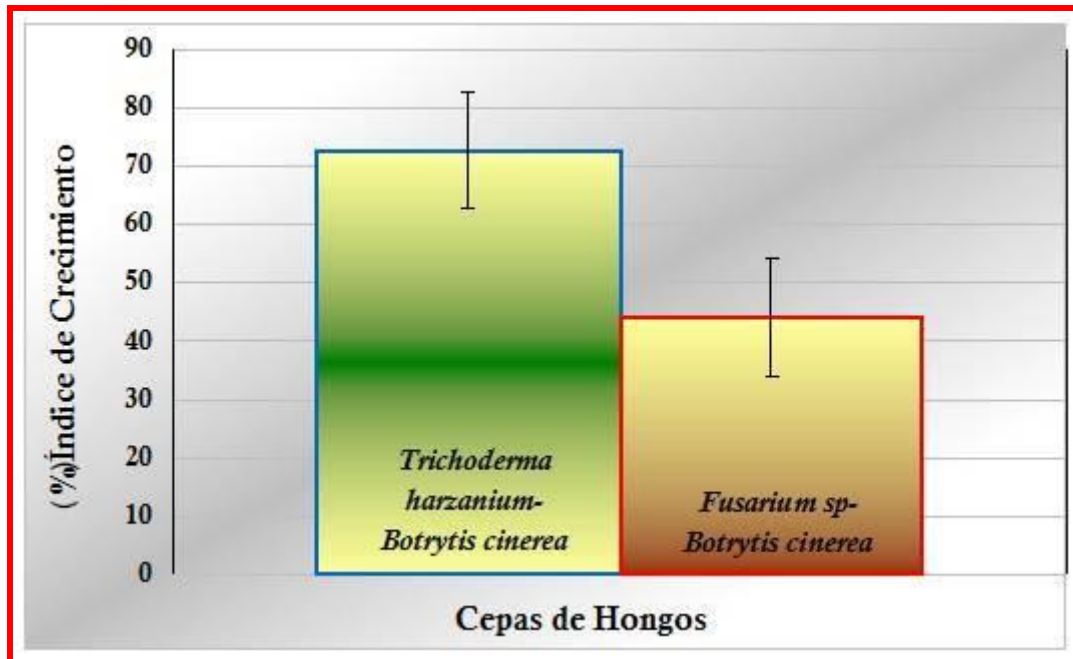


Figura 33. Porcentaje de Inhibición al Crecimiento de *Trichoderma harzianum* y *Fusarium sp.* sobre *Botrytis cinerea* en pruebas duales.

Según Baker y Griffin (1999), la antibiosis es el fenómeno mediante el cual un hongo antagonista inhibe o destruye a un organismo (por lo general patógeno), a través de la producción metabólica de pequeñas moléculas tóxicas, volátiles y de enzimas líticas. Dichas moléculas dañan los polímeros estructurales de la pared celular (quitina y β -1-3-glucanos) de la pared celular.

Trichoderma se caracteriza por poseer altos valores en el porcentaje inhibitorio en pruebas por cultivos duales contra hongos fitopatógenos. Esto se encuentra respaldado por Calvo *et al.* (2012), pues registró PIC con un valor de 91.43% en aislados de *Trichoderma* mediante pruebas reto en contra de *Botrytis cinerea*. Así mismo (Michel-Aceves, *et al.* (2008) presentaron valores de inhibición de crecimiento de un 94% en contra de *S. rolfsii*. Finalmente los mismos autores registraron en 2005 valores de PIC por arriba de 65% entre 20 aislados de *Trichoderma* en contra de los patógenos *A. solani* y *P. infestans*.

La capacidad antibiótica desarrollada por *Trichoderma harzianum* se cree que es principalmente debida a la producción de diversos antibióticos entre los que destacan

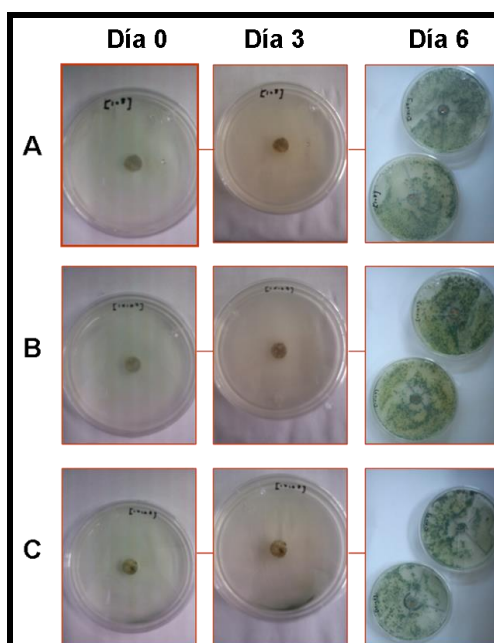


peptaiboles y trichozianinas, las cuales a pesar de no haber sido identificados o evaluados, se sabe inhiben la germinación de esporas y la elongación de las hifas del patógeno (Schirmbock *et al.* 1994). Esto concuerda con lo que Stefanova *et al.* (1999) mencionan, ya que además de estos compuestos, existen diversas enzimas como la dermanina, que al igual, funcionan como antibióticos y micoparasitarios.

5.2. Pruebas *in vitro* para selección de concentración de agente antagonista

Una vez elegido el agente antagonista (*Trichoderma harzianum*) se muestran los resultados de las pruebas *in vitro* en la selección concentración adecuada. Como se observa en la Tabla 11, las 3 concentraciones inhibieron el crecimiento de *Botrytis cinerea* después de los 6 días, formando halo de inhibición en todos los casos. Sin embargo se puede percibir que a concentraciones superiores a 1×10^5 esporas/mL existió sobre crecimiento del antagonista sobre el patógeno.

Tabla 11. Pruebas *in vitro* para elección de concentración de *Trichoderma harzianum*. A) $[1 \times 10^5$ esporas/mL], B) $[1 \times 10^7$ esporas/mL] y C) $[1 \times 10^8$ esporas/mL] en periodos de 0, 3 y 6 días.



Fereres-Castiel y Rubio-Susan (2005) indican la existencia de una lisis celular debida a enzimas o metabolitos de otros organismos (exolisis) y puede ser producida por parte de



un microorganismo competidor de antibióticos, los cuales actúan a muy bajas concentraciones.

Chavez-Méndez, (2007) evaluó bacterias y hongos endofíticos para el control biológico del nemátodo barrenador (*Radopholus similis*) a concentraciones de 1×10^6 ufc/mL en condiciones asépticas, combinando a relación 50:50 hongo-bacteria (*Trichoderma-Bacillus*). Por otro lado López, (2004) enuncia la ventaja que trae el aplicar *Trichoderma* como antagonista, pues esporula abundantemente y presenta gran habilidad para colonizar rápidamente las raíces y tallos de las plantas, esto en aplicación de campo.

5.3. Efecto de la aplicación de un recubrimiento en los parámetros de calidad del jitomate

En la actualidad la industria hortofrutícola busca obtener alimentos más nutritivos y saludables, es por ello que se intenta optimizar su calidad intrínseca y extrínseca (Torija-Isasa, 2002). Dicha calidad se rige por tres factores principalmente: organolépticos y/o sensoriales captados por el consumidor; factores nutritivos, los cuales favorecen la salud evitando enfermedades y por último factores sanitarios, los cuales deben de encontrarse libres de patógenos, contaminantes y tóxicos (Sánchez-Mata, 2002).

Adrián y Fragüe (1990) se refieren a la calidad hortofrutícola como un conjunto de propiedades que se aprecian de diferente forma y que se encuentran a través de toda su cadena productiva y hasta su punto de venta.

5.3.1. Luminosidad

El parámetro de luminosidad (L^*), se refiere a la escala visual en que un alimento presenta o no luz y que parte de un valor máximo de 100 (luminoso) a un valor de 0 (oscuro) bajo condiciones establecidas por el sistema CIELAB.



En la Figura 34 se muestran los resultados de la luminosidad de los diferentes jitomates evaluados, en donde se puede observar una tendencia al incremento durante su almacenamiento a 10 ° C. Se aprecia que al inicio del almacenamiento no hubo diferencia significativa ($P \geq 0.05$) entre ellos, presentando valores de luminosidad entre 34.96 a 36.9, de igual forma a partir del cuarto día los jitomates control incrementaron de manera más rápida su luminosidad llegando a tener valores de 39.76 mostrando diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a aquellos únicamente recubiertos sin y con antagonista (35.64 y 34.62, respectivamente).

Por otra parte es fácil apreciar el comportamiento casi lineal en el incremento de luminosidad para los jitomates únicamente recubiertos desde el inicio del almacenamiento y hasta el final, aumentando su luminosidad en casi un 15.34% (43.59), por otro lado aquellos jitomates control aumentaron un 13.84% (43.32) y por último aquellos jitomates con antagonista incrementaron su luminosidad en un 13.03% (40.2).

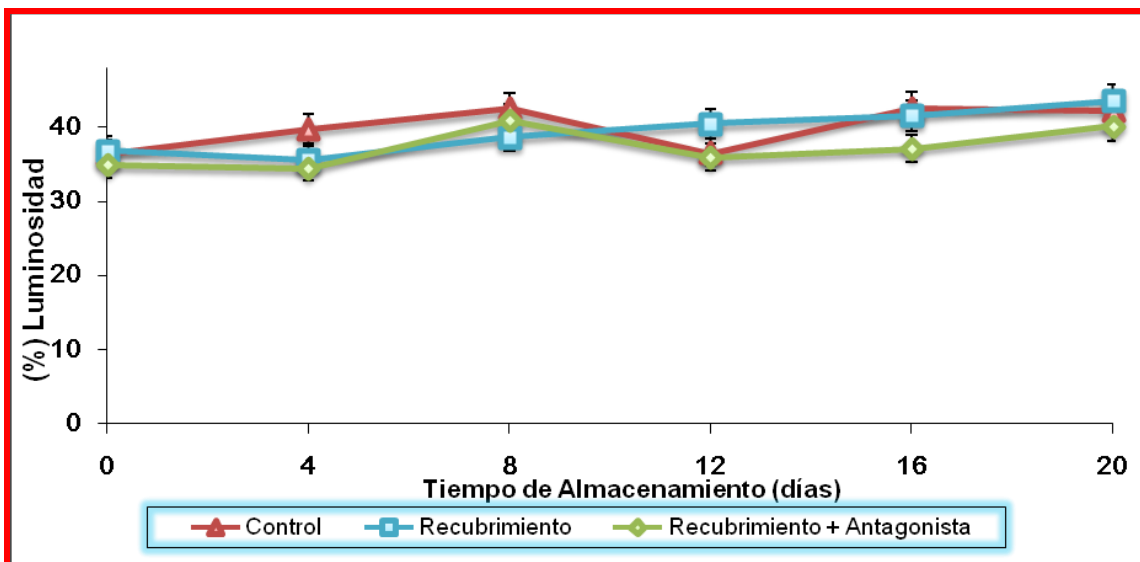


Figura 34. Efecto de la aplicación de recubrimientos con agente antagónico sobre el color de tomates de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R).

Durante la maduración, los tomates los tomates recubiertos presentan incremento en los valores de L^* , aumentando de manera más notable durante los primeros 6 días a 22 ° C, lo cual se asocia directamente a los cambios de color en la piel (verde a rojo) y que puede atribuirse a la pérdida de clorofila y síntesis de licopeno (Mejía *et al.* 2009).



Durante el climaterio, el jitomate evoluciona del color verde de una manera rápida, en donde se degradan clorofilas y aparecen tonos naranjas y rojos. Dicha aparición de tonos es causada por la síntesis de carotenos con aumento del licopeno como el más abundante, así como xantofilas (Artes y Artes, 2007). Huff (1984) menciona, ya que del estadio de madurez depende la luminosidad de la piel del fruto durante el desarrollo de los mismos. Dicha reducción puede ser debida al aumento del contenido en carotenoides que se produce a lo largo de la maduración.

Dilmaçunal *et al.*, (2011) recubrió tomates mediante atomización con aceite mineral, los cuales almacenó por 20 días a 20 ° C, sin embargo no tuvo efecto en los parámetros de luminosidad en comparación con los del grupo control, los cuales presentaron cambios de color más rápidos que los recubiertos. Esto concuerda con lo que Hernández-Yépez, (2013) describió, puesto que la luminosidad de sus tomates recubiertos con parafina disminuyó desde el inicio del almacenamiento hasta el final en un 20.69%, esto debido a que los tomates margariteños utilizados se encontraban en estado de madurez rojizo. Esto coincide con los resultados obtenidos, ya que únicamente presentaron 2% +/- 0.5 de diferencia en su luminosidad todos los tratamientos.

Los jitomates utilizados en el almacenamiento se encontraban en un grado de maduración 4 a 5 de acuerdo a la USDA, por lo que concuerda con la Figura 34, puesto que durante su maduración, su luminosidad se encontraba en aumento para cualquier lote. Cabe destacar que la luminosidad se incrementó desde un 13 y hasta 15% al final del almacenamiento para todos los frutos. Así mismo dicha luminosidad se encontró entre 40 a 45, lo cual indica que al final del almacenamiento se encontraban en una coloración roja clara.

5.3.2. Tonalidad

La tonalidad h^* es un parámetro perceptivo y que a medida que madura el fruto, tiende a disminuir, por lo que se encuentra directamente ligado con la luminosidad del mismo (Hernández, 2009).



De acuerdo a la Figura 35 es posible apreciar el cambio de tonalidad para los diferentes jitomates durante su almacenamiento, en donde al inicio no hubo diferencia significativa ($P \geq 0.05$) entre ninguno de ellos (43.75° Hue para frutos control, 44.41° para únicamente recubiertos y 41.86° para los frutos recubiertos con antagonista). Por otra parte se puede observar el decremento de tono en aquellos jitomates control durante y al final del almacenamiento, desde 43.75 a 40.36° Hue, presentando diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a los recubiertos con y sin antagonista. Finalmente se aprecia un aumento en el tono de aquellos jitomates recubiertos con y sin antagonista (41.86 a 46.57° Hue para jitomates con antagonista, 44.41 a 49.35° Hue para aquellos únicamente recubiertos) adquiriendo estos últimos 5.63% más tono que los recubiertos con antagonista.

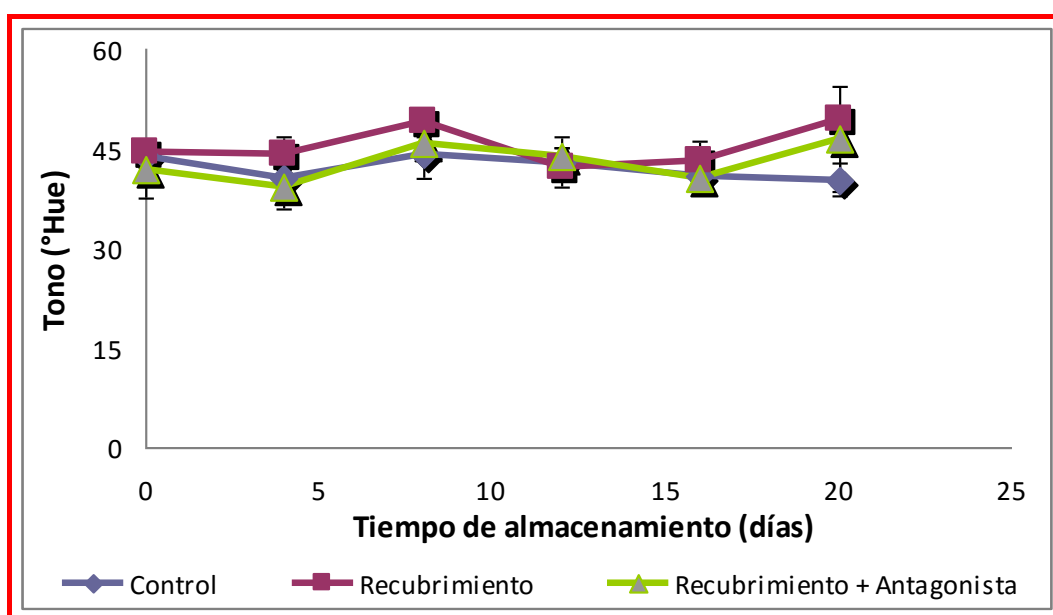


Figura 35. Efecto de la aplicación de recubrimientos con agente antagónico sobre la tonalidad de tomates de invernadero a condiciones de almacenamiento (10°C y 85% H.R.).

De acuerdo a Artés y Artés (2007) la rápida evolución del color verde amarillento, se manifiesta en el climaterio, en donde se degradan clorofilas y aparecen tonos naranjas y rojizos, dicho en otras palabras, existe una sustitución de clorofilas por carotenoides. Por otro lado Cantwell (2004) enuncia que el parámetro h^* disminuye a medida que va madurando el tomate y durante su postcosecha.



Hernández-Yépez, (2013) evaluó la tonalidad de tomates encerados y almacenado a temperatura ambiente por 20 días, en donde dicho parámetro disminuyó desde 85.55 ° Hue a 31.64 en el día 20. Caso contrario sucedió durante la experimentación, puesto que aquellos frutos recubiertos ya sea con o sin antagonista presentaron tonalidades mayores al final del almacenamiento.

De acuerdo a los resultados se pudo observar un decremento en la tonalidad de aquellos jitomates control, esto debido a su intensa actividad respiratoria durante su almacenamiento, por lo que su maduración se vio acelerada. Por otro lado el parámetro de tonalidad h^* obtenido para aquellos jitomates recubiertos con *Trichoderma* fue de 46.57, correspondiente a un valor intermedio entre rojo (0) y amarillo (90) de acuerdo a la carta de colores de CIELAB (CIE, 2004).

5.3.3. Croma

El Croma o también conocido como saturación representa la pureza o intensidad de un color particular, la viveza o palidez del mismo (Hernández-Chávez, 2013).

Según la Figura 36, se observa la saturación de los jitomates a través del almacenamiento, en donde al comienzo no se detectaron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) entre ninguno de ellos, sin embargo durante el 8° día los jitomates únicamente recubiertos presentaron una disminución en su saturación C^* , mostrando diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a los frutos control y recubiertos con antagonista, así mismo a partir de ese día aquellos frutos recubiertos sin y con antagonista mostraron una tendencia negativa en su saturación, disminuyendo al final del almacenamiento 10.51% y 3.63% respectivamente, caso contrario a los tomates control, los cuales aumentaron al final del almacenamiento en un 13.48%.

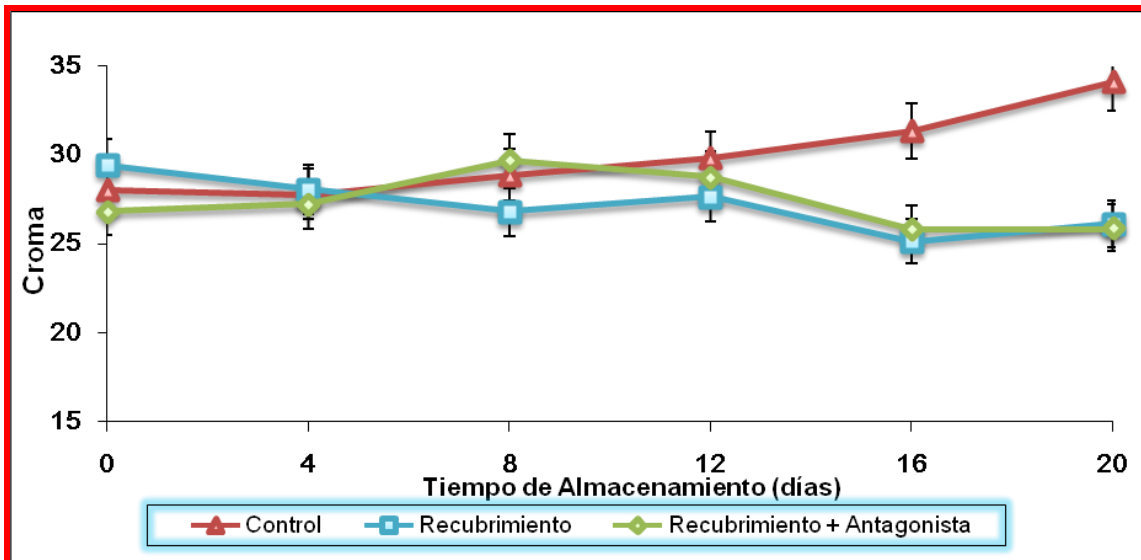


Figura 36. Efecto de la aplicación de recubrimientos con agente antagonístico sobre la saturación en el color de tomates de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R.).

Cantwell (2004) menciona que durante la maduración del tomate se producen fluctuaciones en el valor de C^* , inicialmente disminuye dicho parámetro cuando de verde-amarillo torna a color naranja, para posteriormente incrementar su valor cuando alcanza su coloración rojiza y finalmente vuelve a disminuir al tornarse a color rojo oscuro. Hernández-Yépez (2013) obtuvo valores de C^* cercanos a 24 en tomates encerados con parafina y almacenados por 20 días a temperatura ambiente, lo cual concuerda con los resultados obtenidos.

Los resultados en la presente evaluación para aquellos jitomates recubiertos únicamente mostraron un valor de C^* igual a 26.15 en la escala CIELAB, por otro lado los jitomates recubiertos con antagonista presentaron un nivel de saturación de 25.9 y aquellos control un valor de 32.41, siendo este último un poco menos pálido (intenso) pero de igual manera manteniendo su color cálido.

5.3.4. Firmeza

Hernández-Yépez (2013) indica que la firmeza es un parámetro asociativo a la calidad de los tomates frescos y procesados y se encuentra relacionado con su pared celular conformada por hemicelulosa, celulosa y pectina. Este parámetro desciende debido a la



despolimerización de dichos componentes de la pared por acción de enzimas hidrolasas (Artes y Artés, 2007).

De acuerdo a la Figura 37, se observa diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los jitomates control con respecto a los recubiertos al inicio del almacenamiento, puesto que la firmeza de los mismos se encontró con 47.4 N a diferencia de los jitomates únicamente recubiertos (54.16 N) y para aquellos con antagonista (55.66 N). Así mismo en el 4º día existió diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre todos los jitomates evaluados, con valores de 65.3 N para aquellos tomates con antagonista, 51,41 N para los recubiertos y por último 36 N para los control. Se puede percibir que durante el almacenamiento los jitomates control presentaron una pérdida de firmeza de 20.04%, los recubiertos con alginato una pérdida de 2.77% y los recubiertos con antagonista una pérdida de 19.45%.

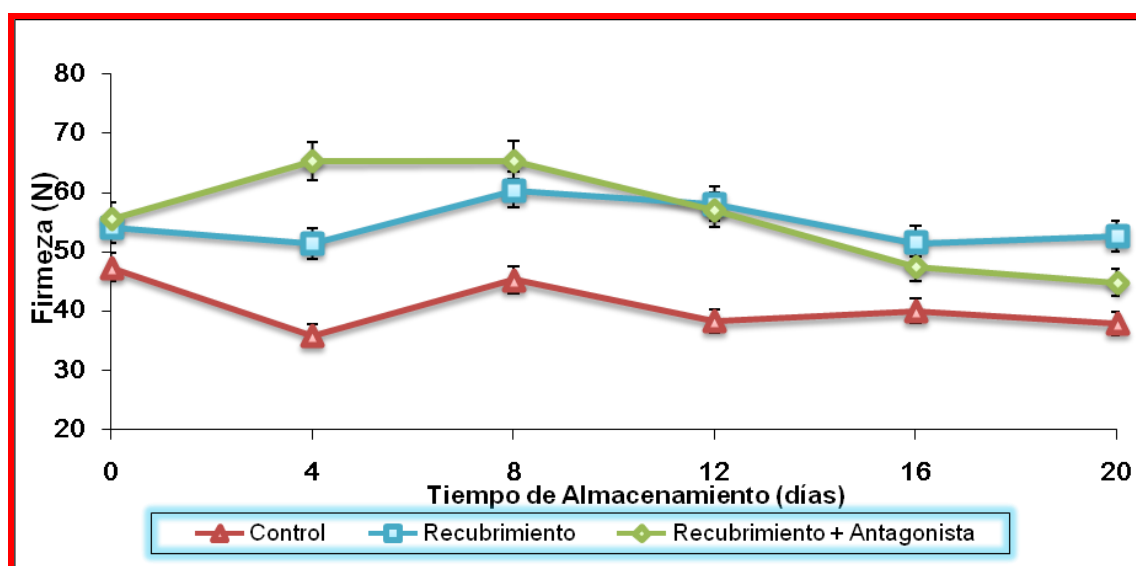


Figura 37. Cambios en la firmeza de tomate de invernadero por la aplicación de recubrimiento comestible y recubrimiento comestible con *Trichoderma harzianum* como antagonista a condiciones de almacenamiento (10 °C y 85% H.R).

La disminución de la firmeza se puede deber tal y como lo menciona Artés y Artés (2007) a las características de maduración del tomate durante su climaterio. Dicho ablandamiento puede ser concebido gracias a la despolimerización de las pectinas y celulosas de la pared celular y de la lámina media de los tejidos de la parenquima,



principalmente producidos por la acción de enzimas hidrolasas (poligalacturonasa), la cual es de las más abundantes (Ineztroza, 1998).

Lamua (2000) indica que la firmeza del tomate depende de su turgencia y cohesión, además de la presencia de tejidos de sostén y composición del fruto. Por otro lado un estudio realizado por Dilmacunal *et al.* (2011) mencionan que al encerar tomates con cera de abeja, redujo la pérdida de la firmeza inicial 12.8% (13.53 N), tras 20 días de almacenamiento a 20 °C, mientras que los frutos no tratados perdieron cerca del 27.4% de su firmeza.

De acuerdo al grado de madurez, para aquellos tomates que se encuentran en grado 4-5 de color anaranjado y anaranjado-rojo, presentan una firmeza de 60 a 40 N a condiciones de almacenamiento de 20 ° C, disminuyendo a medida que madura el fruto debido al ablandamiento de la epidermis. De acuerdo a Badui (2006), los componentes de dichas paredes que contribuyen a la firmeza son la hemicelulosa, celulosa y pectina.

Como se observó en los resultados, en todos los casos existió un descenso en la firmeza de los frutos, esto ocasionado claramente por la acción de las enzimas hidrolasas durante su almacenamiento, sin embargo aquellos jitomates que se recubrieron únicamente con alginato de sodio presentaron solamente 2.77% menos firmeza durante su almacenamiento, caso contrario a aquellos control y con antagonista, ya que estos presentaron una pérdida en su firmeza cercana al 20%.

La pérdida de firmeza en los frutos recubiertos con antagonista puede deberse principalmente al estrés generado por la acción lítica entre los hongos antagonista y patógeno, ya que antes de que entren en contacto su principal vía de acceso es la pared celular del fruto.

5.3.5. Pérdida de peso

La FAO (2015) menciona que durante la pos cosecha los vegetales son separados de su fuente natural de agua y nutrientes orgánicos a medida que transcurre el tiempo, esto



ocasionado por diversos factores internos y externos. Dichos tomates pierden su vigor de manera significativa cuando su porcentaje de pérdida de peso alcanza un 5 y 6%.

Como se aprecia en la Figura 38, se muestra la pérdida de peso durante el almacenamiento de tomate, es posible percibir que al inicio de dicho almacenamiento los jitomates con recubrimiento y antagonista presentó una mayor pérdida de peso con respecto a las demás, teniendo 1.58% menos de peso (30.37% mayor pérdida con respecto a aquellos control y 24.06% más con respecto a los únicamente recubiertos). Así mismo se observa la pérdida de peso en todos los casos durante todo el almacenamiento, en donde a partir del 10° día existió diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre todos los frutos. Finalmente se puede ver que al final del almacenamiento los jitomates que presentaron mayor pérdida de peso fueron los recubiertos únicamente con alginato con 4.16% menos peso, seguido de los recubiertos con antagonista con 3.53% y por último los que presentaron menos pérdida fueron los jitomates control con 2.96% menos peso.

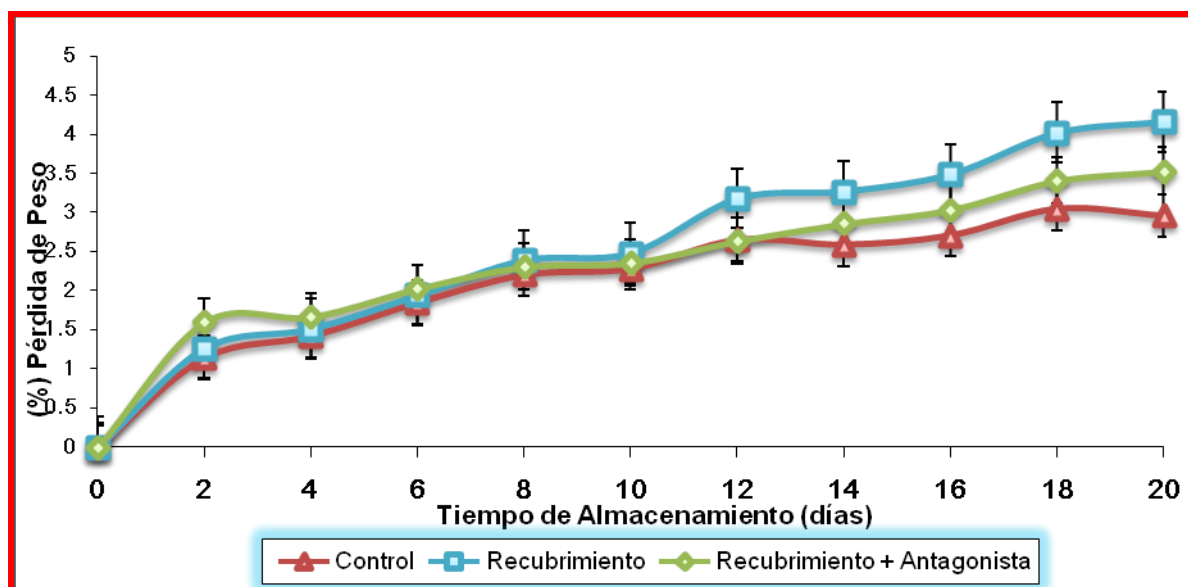


Figura 38. Efecto de la aplicación de recubrimientos con agentes antagonísticos en la pérdida de peso para tomates de invernadero a condiciones de almacenamiento y H.R. de 10 °C y 85% respectivamente.

De acuerdo a la metodología de Hernández-Yépez (2013), obtuvo una pérdida de peso del 5.9% en tomates control, 4.27% en tomates clorados y 2.9% en tomates recubiertos con parafina sólida comercial a temperatura ambiente por 11 días. Por otro lado,



Kantola y Helén (2001) evaluaron la pérdida de peso en tomates envasados con películas biodegradables a 11 ° C a través de 3 semanas, resultando ser de 1.7 a 2.7%. Caso contrario a los resultados obtenidos en la experimentación ya que aquellos frutos recubiertos perdieron cerca del 4% de su peso, así como aquellos con antagonista (3.5%) a diferencia de los control.

Un caso similar sucedió con Dilmacınal *et al.* (2011), puesto que enceraron jitomates mediante la atomización de aceite mineral y almacenaron a 20° C, mencionando, al cabo de 20 días los tomates encerados habían perdido alrededor del 5% de su peso, sin mientras que los no tratados (control) en ese tiempo presentaron una pérdida de peso del 8%. Barreiro y Sandoval (2006) mencionan que el tomate puede llegar a perder cerca del 10% de su peso como consecuencia de la pérdida de agua, sin embargo Kantola y Helén (2001) afirman que los tomates pierden su vigor de manera significativa cuando la pérdida de peso alcanza entre el 5 y 6%.

Al final del almacenamiento se pudo observar un incremento en la pérdida de peso para todos los jitomates evaluados, sin embargo aquellos jitomates con recubrimientos presentaron una mayor pérdida de peso. Esto pudo ser ocasionado por sinéresis ocurrida en algún momento de su almacenamiento, puesto que al aumentar la acidez provoca hidrólisis parcial, lo que conlleva a la exudación de agua.

5.3.6. Sólidos solubles totales

Durán (2006) describe al contenido de sólidos como un parámetro que permite deducir el grado de madurez de un fruto, puesto que resulta del cociente entre la acidez y que aumenta durante la maduración de los mismos. Por otro lado Lewis (1993) señala que el contenido de sólidos solubles corresponden al porcentaje (p/p) de azúcares.

Según la Figura 39, nos muestra el incremento del contenido de sólidos totales para los jitomates control, con recubrimiento y con antagonista, en el cual podemos apreciar que para todos ellos el contenido inicial de sólidos fue muy similar (3.6, 3.77 y 3.7 ° Bx respectivamente), no existiendo diferencia significativa entre ellos ($P \geq 0.05$).



Posteriormente en el 4° día los jitomates recubiertos tuvieron mayor contenido de sólidos con respecto a aquellos control, existiendo diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a este último, arrojando valores de 4.1, 4.9 y 4.6 ° Bx para frutos control, recubiertos y recubiertos con antagonista, respectivamente. Es posible ver que a partir del 4° día y hasta el último siguieron aumentando su contenido de sólidos solubles totales, donde los jitomates con recubrimiento presentaron mayor contenido de sólidos, 5.4% más que aquellos con antagonista y 18.8% más con respecto a los control, destacando este último por su diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a los demás frutos al final del almacenamiento.

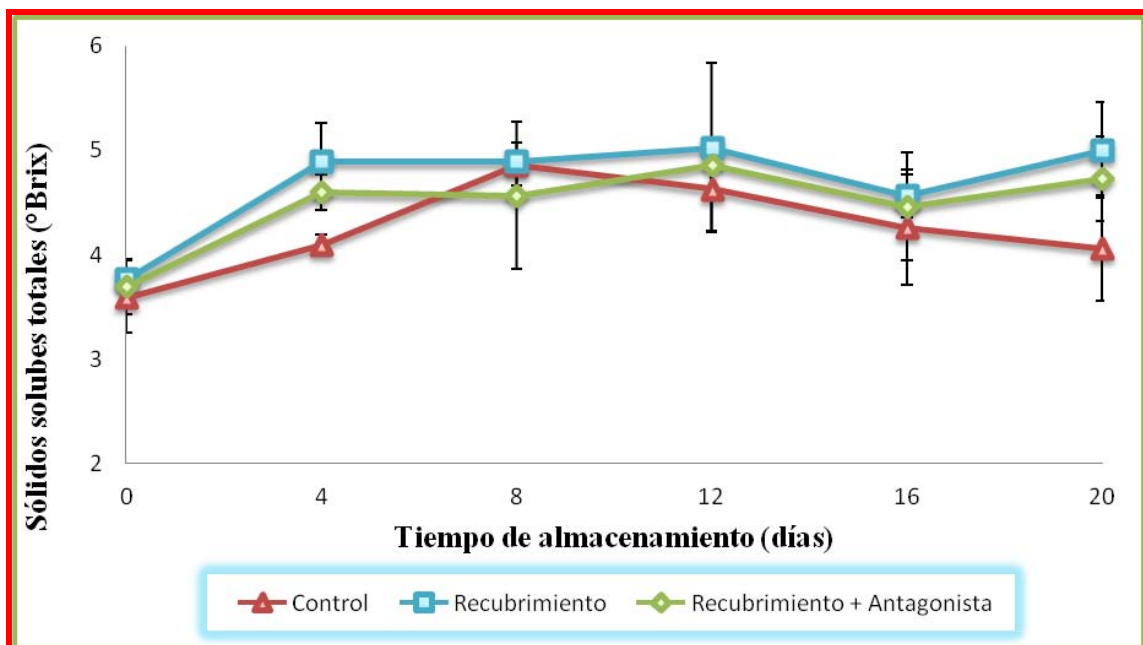


Figura 39. Efecto de la aplicación de recubrimiento con agente antagonista sobre el contenido de sólidos solubles del jitomate de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R).

El incremento en el contenido de sólidos solubles se debe principalmente a los cambios enzimáticos del fruto después de la recolección, puesto que al hidrolizarse el almidón, provoca un aumento en los sustratos respiratorios (azúcares y ácidos) durante su maduración (Lamua, 2000).

Por otra parte Mejía *et al.* (2009) determinaron que durante la maduración de tomates recubiertos y no recubiertos se observó un patrón típico asociado con la reducción de la



concentración de ácidos orgánicos y la acumulación de azúcares, propio de los procesos respiratorios normales. Dicho contenido incrementó durante los primeros 6 días, para posteriormente descender. Lo cual se relaciona con lo que enuncia Lamua (2000), puesto que al inicio de la maduración, el almidón incrementa al ser hidrolizado aumentando por ende el contenido de sólidos, sin embargo una vez madurado el fruto, el contenido de sólidos solubles disminuye ya que existe un incremento en su tasa de respiración, esto concuerda con los resultados obtenidos experimentalmente, puesto que al final disminuyeron su contenido de sólidos.

De igual modo concuerda con lo obtenido experimentalmente por Hernández-Yépez (2013), ya que aquellos tomates margariteños presentaron un valor inicial del contenido de sólidos solubles de entre 5.3 y 5.4 ° Bx, los cuales al ser recubiertos con parafina pudieron alcanzar valores cercanos a 6.1 ° Bx a diferencia de aquellos control, los cuales también disminuyeron hasta 5.1 ° Bx.

El aumento en la tasa de respiración durante el almacenamiento provoca también un aumento en el contenido de sólidos ya que incrementa la síntesis y el uso de metabolitos, sin embargo una vez madurado el fruto comienza a decrecer dicho valor. Por otro lado la disminución del contenido de sólidos solubles para aquellos jitomates control se vio reflejado por la acción de los microorganismos, ya que utilizan nutrientes (azúcares y ácidos) como sustrato para su metabolismo.

5.3.7. pH y Acidez

El pH indica el grado de acidez o basicidad de una solución, éste se mide por la concentración del ión hidrógeno; los valores de pH están comprendidos en una escala de 0 a 14, el valor medio es 7; el cual corresponde a solución neutra (agua), los valores que se encuentran por debajo de 7 indican soluciones ácidas y valores por encima de 7 corresponde a soluciones básicas o alcalinas (Stirensen, 2008).

En la Figura 40 se aprecia el pH de los jitomates control, con recubrimiento y con antagonista, en donde es posible ver que no existió diferencia significativa ($P \geq 0.05$)



entre ellos en ninguno de los días de su almacenamiento. Al final del almacenamiento los frutos recubiertos con antagonista presentaron un pH de 4.48 (1.56% más que al inicio), así mismo tuvo 2.67% más pH que aquellos únicamente recubiertos y 4.06% menos que los control al final del almacenamiento.

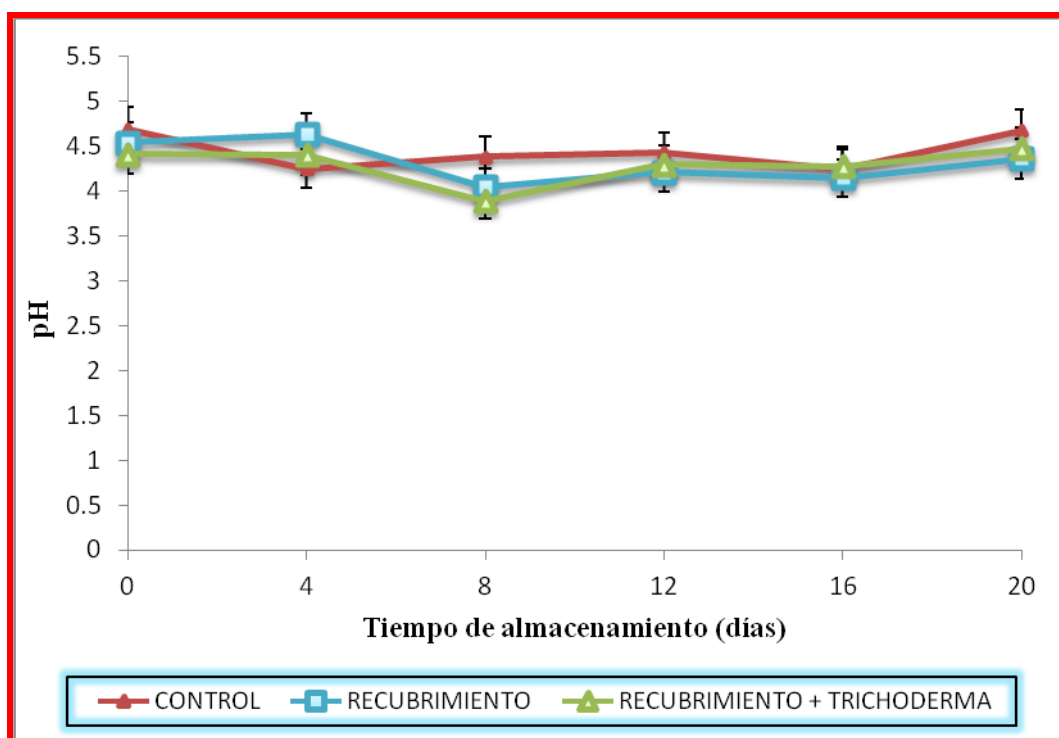


Figura 40. Efecto de la aplicación de un recubrimiento con agente antagonista sobre el pH del tomate de invernadero a condiciones de almacenamiento (10° C y 85% H.R).

Reina (1998) estudió el comportamiento del pH en tomates almacenados a 28 ° C y 65% H.R, en donde a pesar de encontrar fluctuaciones, obtuvo una tendencia de aumento de dicho valor, lo que concuerda con los resultados de Hernández-Yépez (2013), puesto que sus tomates control presentaron los mayores valores de pH (4.29) al 11vo día, los tomates clorados presentaron 4.19 y finalmente aquellos tomates recubiertos con 3.96, lo cual concuerda también con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

Babitha y Kiranmayi (2010) pudieron apreciar un aumento en el pH de tomates almacenados a temperatura ambiente, desde 3,61 (día 1) hasta 6,0 (día 24). Según Berbesí *et al.* (2006) los ácidos de reserva presentes en el fruto son transformados en sustratos (azúcares) durante la respiración, lo cual aumenta su pH y disminuye su acidez.



Arana *et al.* (2007), recomienda un pH de entre 4 a 5, en el cual el sabor, textura y aroma de los jitomates. En el caso de los jitomates recubiertos con antagonista el pH presentó un valor de 4.48.

Las fluctuaciones en el pH de todos los jitomates durante el almacenamiento se deben principalmente al efecto en su tasa de respiración, sin embargo puede observarse un ligero incremento al final del almacenamiento, sobre todo en aquellos jitomates recubiertos con antagonista, esto se debe a que los ácidos orgánicos en las vacuolas se transforman en azúcares y posteriormente se utilizan como sustratos respiratorios, ocasionando un aumento en el pH.

Acidez

Como lo indican Barreiro y Sandoval (2006), la acidez en los productos hortofrutícolas es debida a los ácidos orgánicos e inorgánicos que pudiesen estar presentes en su composición y disminuye a medida que el fruto madura.

Como se puede apreciar en la Figura 41, los valores de acidez durante el primer día de almacenamiento para los frutos control y recubierto con antagonista estuvieron comprendidos entre 0.68 y 0.69% de ácido cítrico respectivamente, no presentando diferencia significativa ($P \geq 0.05$) entre ellos, caso contrario a la acidez de los jitomates únicamente recubiertos durante ese día con valores de 0.56%, para el 4° día de almacenamiento los jitomates control disminuyeron su acidez hasta 0.53%, mientras que aquellos recubiertos con alginato y con antagonista incrementaron dicho valor en ese día y hasta el día 8 fue de 0.66% y 0.8%, respectivamente; cabe destacar que todos jitomates presentaron diferencia significativa ($P \leq 0.05$) durante ese día. Finalmente es posible apreciar el decremento de la acidez para aquellos frutos control al final del almacenamiento, así como para los recubiertos de 0.68 a 0.6% de ácido cítrico para los control y de 0.69 a 0.66% para los recubiertos con antagonista, caso contrario a los jitomates con recubrimiento con antagonista, puesto que aumentó su contenido de acidez desde 0.56 hasta 0.8% al final del almacenamiento, existiendo diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a los anteriores.

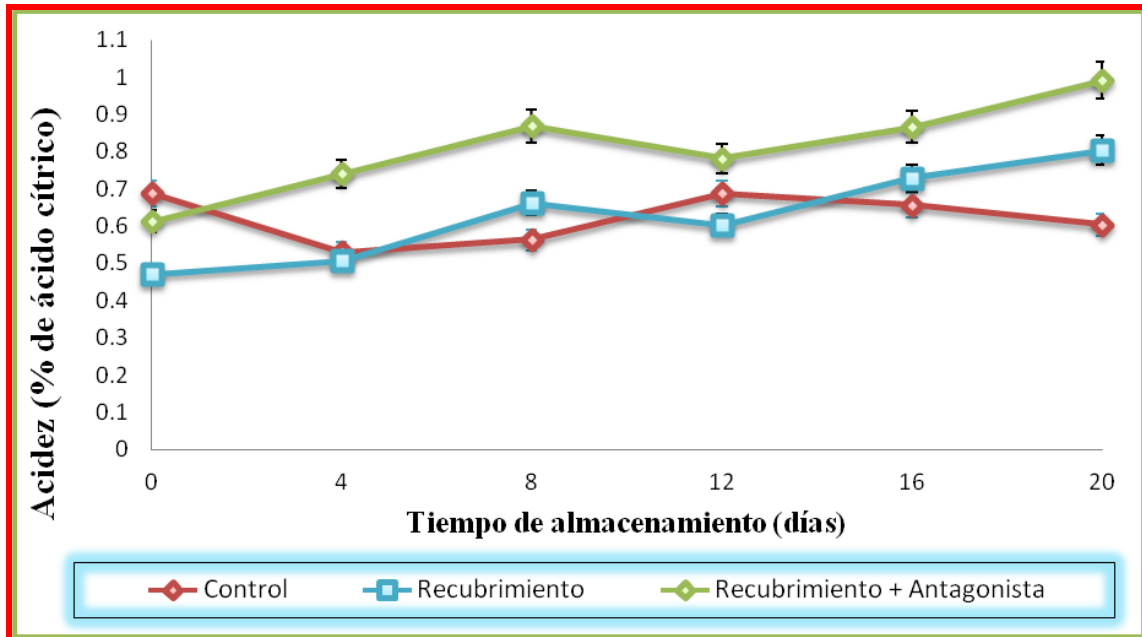


Figura 41. Efecto de la aplicación de un recubrimiento con agente antagonista sobre la acidez del tomate de invernadero a condiciones de almacenamiento (10° C y 85% H.R).

De acuerdo a los resultados experimentales Ezziyyani *et al.* (2004) presentaron en diferentes variedades de tomates sumergidos en agua clorada (300 mg/L cloro) a 20 ° C, puesto que existió una disminución considerable en la acidez de dichos tomates almacenados por 21 días, arrojando valores de entre 0.19 y 0.33%.

Caso parecido presentó Hernández-Yépez (2013), el valor inicial de la acidez para tomates recubiertos con parafina a temperatura ambiente (25° C) fue de 0.80% ácido cítrico, valor que disminuyó después de 19 días hasta 0.53%. Esto tiene similitud con la acidez de tomates recubiertos con antagonista, sin en cambio aquellos únicamente recubiertos con alginato presentaron mayor acidez.

Badui (2006) menciona que la acidez desciende debido a la actividad metabólica de los frutos durante la maduración, ya que incrementa la actividad enzimática (α y β –amilasas), que da lugar a la conversión de ácidos orgánicos de reserva en azúcares y que serán consumidos durante la respiración celular. Lo cual concuerda con Akbudak *et al.* (2007), quienes describen a la disminución de la acidez durante el almacenamiento a causa de la utilización de los ácidos en la respiración celular, concordando con los resultados experimentales.



Para el caso de los jitomates únicamente recubiertos, presentaron un considerable aumento en el contenido de ácido cítrico debido a que durante su almacenamiento tuvo una tasa de respiración creciente (aumento en los cambios metabólicos celulares) y por tanto su contenido de sólidos también aumentó como se pueden ver en las Figuras 43 y 39.

5.3.8. Contenido de licopeno

El licopeno es el pigmento perteneciente a la familia de los carotenos más abundante en el tomate, el cual resulta del reemplazo de las clorofilas degradadas durante su maduración y que a su vez presenta propiedades anticancerígenas y cardiovasculares (Ramos-García, 2010).

En la Figura 42 se observa, el incremento de licopeno a través del almacenamiento a 10 °C durante 20 días. Como se puede observar el contenido inicial de licopeno para los jitomates control fue 28% menor con respecto a los recubiertos con y sin antagonista, no presentando diferencia significativa ($P \geq 0.05$). Durante el 4° día hubo una disminución del contenido de licopeno en todos los jitomates, sin presentar diferencia significativa ($P \geq 0.05$) entre aquellos recubiertos, pero si con respecto a los control. Para los días 8, 12 y 16 en todos los jitomates hubo un incremento en la cantidad de licopeno, mostrando diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre los frutos control con respecto a los recubiertos.

Finalmente la cantidad de licopeno disminuyó al final del almacenamiento para todos los frutos; 24.35 mg/100 g de jitomate para aquellos control, 32.02 mg/100 g de jitomate para los recubiertos únicamente y finalmente 31.33 mg/100 g de jitomate para los recubiertos con antagonistas. Los frutos recubiertos con antagonista presentó 22.27% más licopeno que aquellos control, pero 2.15% menos licopeno que los frutos únicamente recubiertos.

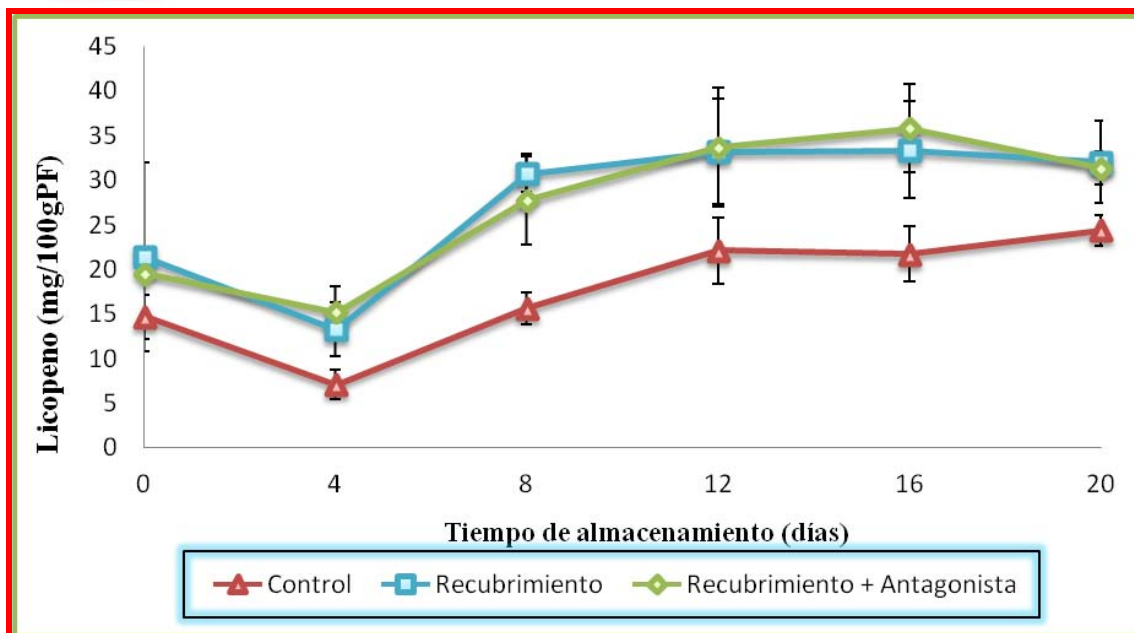


Figura 42. Efecto de la aplicación de recubrimientos con antagonista sobre el contenido de licopeno en jitomates de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% H.R).

Hadley *et al.* (2002) menciona una relación importante entre el grado de madurez y el contenido de antioxidantes, cuando se trata de tomates maduros, el contenido de licopeno oscila entre el 80-90% de los carotenos totales, mientras que los tomates cosechados en estadios de madurez verde poseen bajo contenido de licopeno. Esto lo reitera Arias *et al.* (2000), ya que el contenido de licopeno aumenta a medida que madura el tomate, llevando a cabo una transformación de cloroplastos a cromoplastos, lo cual conlleva a la síntesis de licopeno. En todos los frutos tratados con y sin recubrimiento a medida que transcurría el tiempo de almacenamiento, el contenido de licopeno aumentaba, tal y como los anteriores autores describen.

Urrieta (2011), obtuvo cantidades de licopeno de entre 22 a 28 mg/100 g de tomate cultivado en hidroponía en invernadero. Por otro lado Flores (2011) trabajó con tomates nativos e híbridos comerciales, obteniendo contenidos de 11.6 y 25.11 mg/100 g respectivamente. Dicho autor encontró en 2012 variedades de tomates nativos del estado de Hidalgo con cantidades de licopeno cercanas a los 27.19 y 28.08 mg/100 g. En el presente trabajo se obtuvieron cantidades superiores a los 30 mg/100 g para aquellos frutos recubiertos con y sin antagonista.



Como se observa en los resultados de la Figura 42, el contenido de licopeno al inicio del almacenamiento disminuyó debido a que las clorofilas aún no eran sintetizadas, sin embargo a partir del 4° día el contenido de este caroteno comenzó a aumentar tal y como describe Artés y Artés, (2007). De igual manera dichos autores mencionan que a temperaturas de almacenamiento menor a 12 ° C el contenido de licopeno aumenta, esto debido a la acumulación de licopenos procedentes de la síntesis de pigmentos amarillos (xantofilas) y lo cual se corrobora en el punto 3 de la figura 42 para los frutos recubiertos.

Finalmente se puede constatar lo que Aranda (2013) describe, ya que no existió un efecto entre microorganismos endófitos con respecto al contenido de licopeno, al contrario disminuye con respecto a los jitomates sin inóculo, lo cual queda constatado con los frutos que poseen antagonista y control.

5.3.9. Respiración

De acuerdo a Bosquez (2006), la respiración de productos vegetales se puede describir como la degradación oxidativa de sustancias como almidón, azúcares y ácidos orgánicos para la producción de energía y cuya intensidad depende de factores internos (composición) y externos (temperatura y disponibilidad de gases).

En la Figura 43 se presenta la tasa de respiración de los diferentes frutos evaluados (control, recubrimiento de alginato únicamente y recubrimiento con antagonista), en donde se aprecia que al inicio del almacenamiento no presentaron diferencia significativa ($P \geq 0.05$) entre ellos, de igual manera todos los jitomates incrementaron su tasa de respiración a partir del primer día de su almacenamiento. Es posible observar que durante el 6° día existió diferencia significativa ($P \leq 0.05$) entre aquellos jitomates recubiertos únicamente con alginato con respecto a los control y con recubrimiento con antagonista, mostrando 34.86 mg CO_2 / Kg PF h (21.38% menos que los control y 21.39% menos que los jitomates con antagonista). Sin embargo a partir del 8° día la tasa de respiración de los jitomates con recubrimiento con antagonista disminuyeron hasta 41.18 mg CO_2 / Kg PF h, caso contrario a los control y con recubrimiento sólo, los



cuales continuaron aumentando dicha tasa hasta su punto máximo (52.36 y 49.97 mg CO_2 / Kg PF h respectivamente), presentando diferencia significativa ($P \leq 0.05$). Ya en el día 10 de almacenamiento todos los jitomates presentaban una disminución en la tasa de respiración, sin embargo los frutos con recubrimiento y antagonista continuaron presentando diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a los demás, mostrando 38.37% menos tasa que aquellos control y 37.68% menos tasa que los únicamente recubiertos. Finalmente es posible observar que a partir del 12° día ningún jitomate presentó diferencia significativa ($P \geq 0.05$), sino hasta el final del almacenamiento, en dicho día todos ellos si presentaron diferencia ($P \geq 0.05$), resultando ser aquellos jitomates con antagonista los que menor tasa de respiración presentaron, 87.97% menos que los control y 35.29% menor tasa que aquellos únicamente recubiertos.

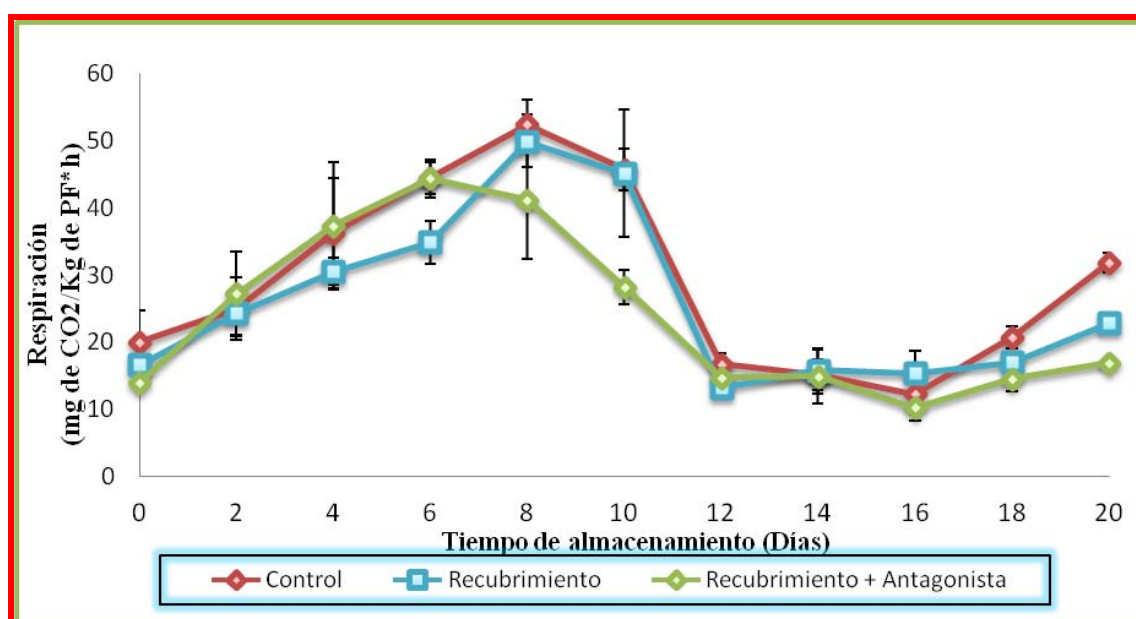


Figura 43. Efecto de la aplicación de recubrimiento con agente antagónico en la respiración de tomate de invernadero a condiciones de almacenamiento (10 ° C y 85% HR).

La disminución de la respiración se puede deber a lo que menciona Reina (1998), pues se lleva a cabo en tres fases: la descomposición de polisacáridos en azúcares simples, la oxidación de los azúcares a ácido pirúvico y finalmente la transformación aeróbica del piruvato y otros ácidos a CO_2 , energía y agua. Por otra parte el autor nos menciona los factores que afectan dicha tasa respiratoria son aquellos internos (composición química



del tejido, tamaño del producto, cubiertas naturales) y aquellos factores externos (temperatura de almacenamiento, etileno, disposición de oxígeno, CO_2 y las lesiones).

De acuerdo a Cantwell *et al.*, (2013) la tasa de respiración en tomates con grado 5 de madurez se encuentra comprendido entre 7 a 15 mg CO_2 /Kg h a condiciones de 10-15 ° C de almacenamiento. Esto concuerda con lo que Cardozo-García y Ríos-Peña (2003), ya que enuncian una tasa moderada de respiración cuando arroja valores de 10 a 20 mg CO_2 /Kg h. Así mismo Cantwell (2006) señala que los tomates almacenados a temperaturas mayores a 15 ° C, pierden más agua y se arrugan, esto produce una tasa de respiración más elevada, mientras que a 10 ° C pueden alcanzar una vida útil de 3 a 5 semanas. Estos resultados son similares a los obtenidos experimentalmente, puesto que al final del almacenamiento los frutos recubiertos presentaron una tasa de respiración cercana a 15 mg CO_2 /Kg h.

El efecto principal que ejerce la capa de recubrimiento sobre la piel de los frutos es un resistencia a la difusión de los gases, mediante el bloqueo de los poros que se encuentran sobre la superficie del fruto, llevando consigo una modificación de la atmósfera interna del fruto con una relativa alta concentración de CO_2 y baja de O_2 (Amarante *et al.* 2001). Concordando con Oms-Oliu *et al.* (2008 a), quienes utilizaron recubrimientos comestibles de alginato de sodio y glicerol en pera, retardó su senescencia, disminuyendo la producción de etileno.

En efecto la aplicación de un recubrimiento comestible retarda la senescencia de los vegetales, alargando su vida útil. Mediante la aplicación de dicha tecnología se logró controlar la tasa respiratoria en casi 100% más que aquellos jitomates sin recubrir al final del almacenamiento, esto debido a la reducción en la pérdida de agua y nutrientes utilizados en el metabolismo, esto sumado al efecto inhibitorio de *Trichoderma harzianum* sobre el patógeno, pues redujo el estrés que este último provoca.



5.4. Parámetros de deterioro

En el caso de un control biológico, la viabilidad resulta de una serie de pasos que en conjunto preceden al éxito técnico, económico y comercial. Dichos pasos enlazan la evaluación de origen de microorganismos eficaces, posteriormente su sistema de producción y formulación para que se obtenga un producto con larga vida útil y con ventajas competitivas ante el medio ambiente, seguido de un escalamiento de nivel piloto a nivel campo o laboratorio para su registro final y comercialización (Academia Mexicana de Ciencias, 2015).

5.4.1. Índice de Decaimiento.

El índice del porcentaje de decaimiento se define como el porcentaje de frutos no aceptable, evaluado a través del almacenamiento. Estos frutos no aceptables presentan manchas de color oscuro y presentan un área mayor de 15% atacada por hongos de acuerdo a la norma NMX-FF-062-SCFI-2002 (Oregel-Zamudio, 2013).

De acuerdo a lo mostrado en la Figura 44, se puede apreciar el índice de deterioro causado por el patógeno *Botrytis cinerea* en jitomates sin recubrimiento y con recubrimiento con *Trichoderma harzanium*. Como se percibe el ataque fúngico se dio a partir del 8° día de almacenamiento para aquellos jitomates control con un índice de 1.16 de acuerdo a la escala utilizada, mostrando diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a los jitomates recubiertos con medio antagonista y recubiertos únicamente. Así mismo para el día 16 presentó el mismo caso, puesto que los frutos control tuvieron un índice cercano a 1.44, contrario a aquellos con antagonista, quienes apenas mostraban presencia del patógeno. Al final del almacenamiento los jitomates control presentaron un índice cercano a 1.5 (IDC de 29.6%), los cuales tuvieron diferencia significativa ($P \leq 0.05$) con respecto a los recubiertos con *Trichoderma harzanium* y los únicamente recubiertos con alginato con IDC de 21.6 y 22.4%, respectivamente.

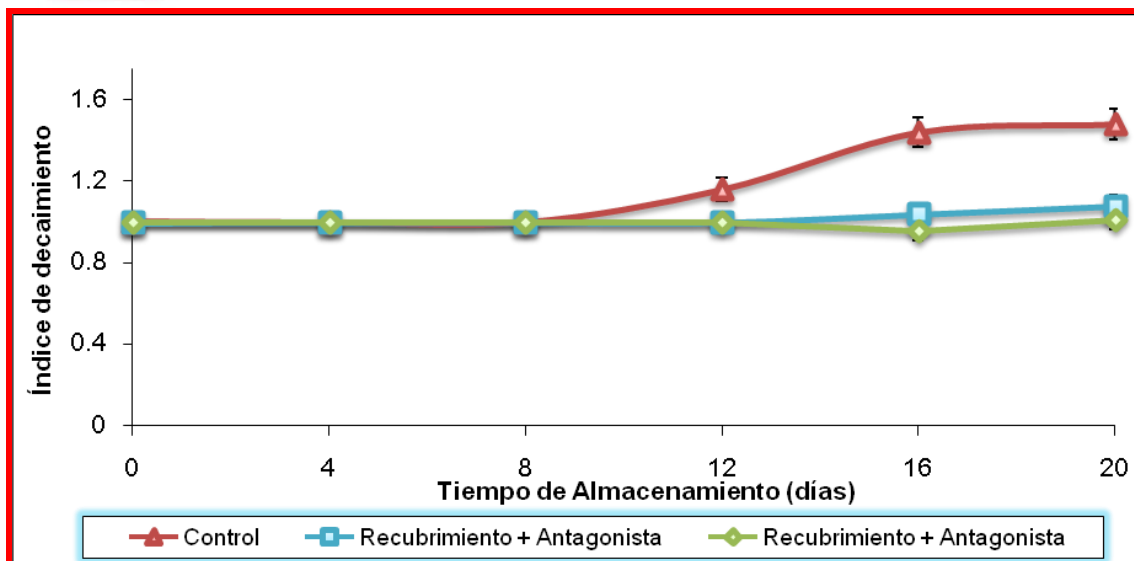


Figura 44. Índice de deterioro causado por *Botrytis cinerea* en tomates sin y con recubrimiento a base de alginato con medio antagonista activo.

Por otra parte el deterioro por severidad es una estimación visual en la que se establecen áreas de infección en un determinado fruto, es el parámetro que está mejor relacionado con la gravedad de la enfermedad y de los daños causados (García-Morales, 2013).

5.4.2. Índice de Severidad.

Como se aprecia en la Figura 45, aquellos jitomates control presentaron pequeñas manchas a partir del 12° día con un IDS de 23.2%, mientras que aquellos jitomates recubiertos sin y con antagonista no presentaban aparición alguna. Por otro lado aquellos jitomates recubiertos con y sin antagonista mostraron pequeñas manchas a partir del 16° día con IDS= 20.6 y 20.8% respectivamente, sin diferencia significativa ($P \geq 0.05$) entre ellos, pero sí con respecto al control (IDS= 28.8%). Al final del almacenamiento el daño causado por *Botrytis cinerea* en los jitomates sin recubrir fue de 29.6%, lo cual se ve reflejado en la Figura 44, causado por manchas necróticas del patógeno cercano a la clase III (4-5 manchas), así mismo dichos jitomates sufrieron pérdidas en su calidad. En contraste con los jitomates recubiertos con medio antagonista y sin antagonista, puesto que al final del almacenamiento mostraron un IDS de 22.4 y 21.6% respectivamente, encontrándose en la clase I (0-1 manchas), lo cual puede considerarse como una aplicación tecnológica viable para la conservación de jitomates a condiciones de almacenamiento.

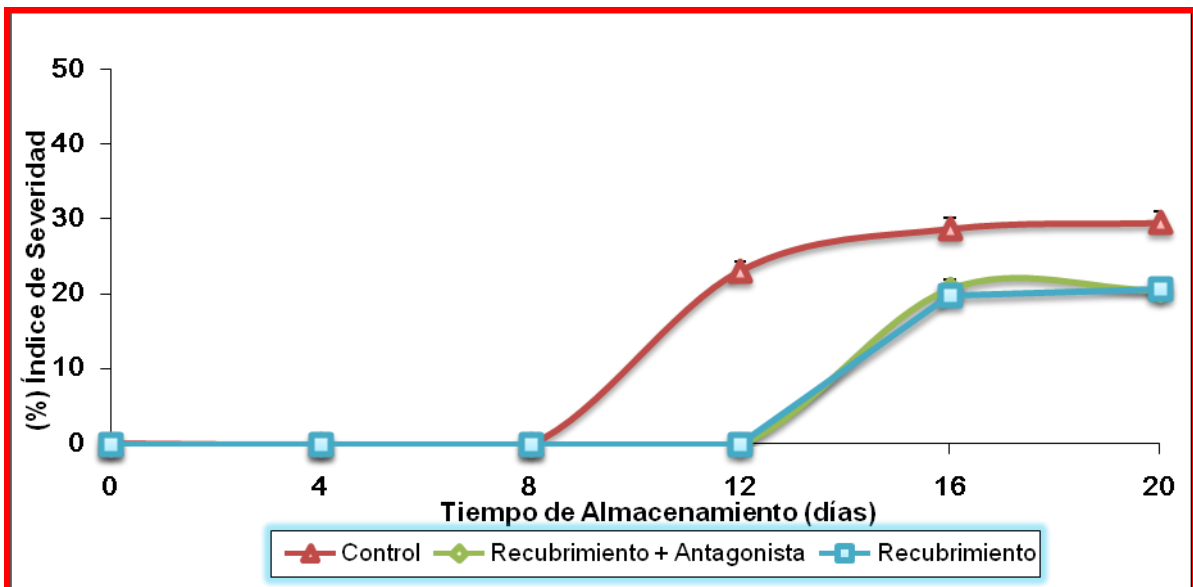


Figura 45. Índice de severidad causado por *Botrytis cinerea* en tomate sin y con recubrimiento a base de alginato con medio antagonista activo.

A pesar de que *Botrytis cinerea* se desarrolla, esporula y germina a condiciones de 15 a 23 ° C, se han encontrado aislados de *Trichoderma* eficaces para su bio control, en especial en tomates de invernadero (Eden *et al.*, 1996). De acuerdo a Lorito *et al.* (1994) destacan al hongo perteneciente al género *Trichoderma* por su eficiente capacidad de micoparasitar hongos patógenos, mediante la secreción de enzimas como proteasas y quitinasas, las cuales son capaces de degradar las células de la pared de dichos patógenos, tal como ocurrió en las pruebas de reto.

Eden *et al.* (1996) redujeron la infección de *Botrytis cinerea* sobre tomate hasta un 100% utilizando *Trichoderma harzanium* y *Cladosporium cldiosporiodes*, aplicando una concentración de 1×10^8 conidias/mL mediante inmersión en medio antagónico. Una situación similar obtuvo Ezziyyani *et al.* (2004) al tratar plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.) con *Trichoderma harzianum* sobre el patógeno *P. capsici*, ya que mediante su aplicación se logró disminuir la enfermedad en un 56% presentando un índice de deterioro cercano a 3.25. Por otro lado Fernández-Larrea (1997), demostró que al aplicar de forma líquida un biocontrolador a base de *Trichoderma* sobre el suelo y semillas de tomate, tabaco y pimentón, redujeron considerablemente el desarrollo de patógenos.



Sin embargo Hernández-Montiel (2004) presentó valores similares durante su experimentación, puesto que trató de ejercer control biológico sobre *Fusarium oxysporum* en plántulas de papaya *Carica L* mediante la inoculación de rizobacterias (*Pseudomonas pútidas*) y hongos micorrízicos (*Fusarium sp*); Dichos valores mostraron un % de Severidad con diferencia significativa ($P \leq 0.05$) a partir del día 18 de almacenamiento a 28° C, *Fusarium* presentó un IDS cercano al 30%, mientras que *P. putida* mostró un IDS cercano a 15%. Dichos resultados concuerdan con los obtenidos experimentalmente, ya que el IDS que mostró el patógeno sobre los frutos fue de 29.6% con aparición de manchas necróticas en su superficie, así mismo al recubrirlos con antagonista disminuyeron su IDS en un 43.68% al final del almacenamiento con respecto a los no recubiertos y sin presencia de manchas necróticas.

Descrito esto se aprecia en la Figura 46 el seguimiento fotográfico de aquellos frutos control (sin recubrimiento) y aquellos recubiertos con *Trichoderma harzianum* a [1×10^5 esporas/mL] en condiciones de almacenamiento durante 20 días, en donde se aprecia el daño causado por el patógeno inoculado previamente.

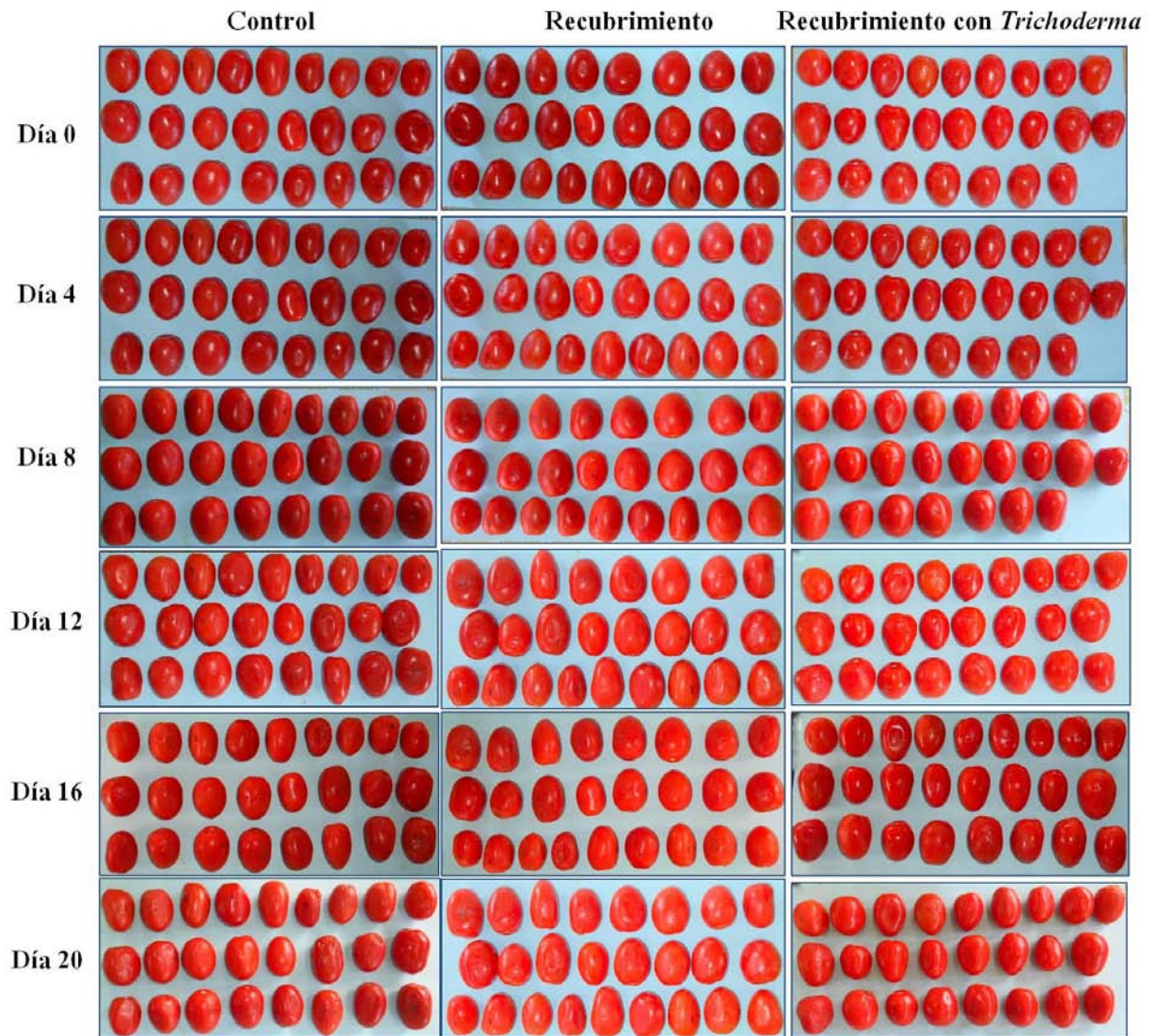


Figura 46. Seguimiento fotográfico de tomate de invernadero inoculado con *Botrytis cinerea* control, con recubrimiento a base de alginato de sodio y con recubrimiento a base de alginato de sodio y *Trichoderma harzianum* a través de 20 días en condiciones de 10 ° C y 85% H.R.



6. CONCLUSIONES





6. CONCLUSIONES

Con base a los resultados anteriores se concluye lo siguiente:

- De acuerdo a las pruebas de reto se observó un efecto inhibitorio por *Trichoderma harzianum*, ocupando el 77.3% de espacio en las cajas (ubicándose en la escala II de Bell), presentando 19.09% más crecimiento radial que *Fusarium* sp. *Trichoderma harzianum* fué el único antagonista en presentar un halo de inhibición con respecto a *Botrytis cinerea* con un índice de crecimiento de 72.85% (28.57% más que *Fusarium* sp).
- En las pruebas *in vitro* se estableció que a concentraciones mayores a 1×10^5 esporas/mL de *Trichoerma harzianum* se inhibió el crecimiento del patógeno (*Botrytis cinerea*) de forma considerable, formando un halo.
- La aplicación de los recubrimientos comestibles a base de alginato de sodio, logró modificar de manera positiva parámetros de calidad del tomate, tales como la coloración y el retraso de la senescencia debido a su respiración, ya que disminuyó la pérdida de agua y el efecto de estrés en frutos recubiertos. Así mismo existió pérdida de peso en los tomates recubiertos, de igual forma el contenido de sólidos aumentó a medida que transcurría el almacenamiento. Por otro lado el contenido de ácido cítrico decreció por efecto del metabolismo celular. Finalmente el contenido de licopeno aumentó al doble al final del almacenamiento
- El comportamiento de deterioro a causa del patógeno en jitomates recubiertos con y sin antagonista, presentaron resultados similares a lo largo de su almacenamiento, mostrando 45.95% menos incidencia con respecto a los frutos control.
- La conservación de los tomates recubiertos con alginato sin y con antagonista retrasaron la aparición del patógeno hasta 16 días, presentando de 0 a 1 manchas necróticas, por lo cual se concluye que es un tratamiento efectivo que inhibe potencialmente la aparición de moho gris.



7. RECOMENDACIONES





7. RECOMENDACIONES.

- Obtener y evaluar un mayor número de aislados no sólo del género *Trichoderma*, sino de *Pseudomonas* y/o bacterias como *Bacillus* que sean efectivas y rentables para el control biológico de diversos productos hortifrutícolas.
- Aplicar el microorganismo como ingrediente activo en medio líquido en conjunto con nutrientes que permitan un correcto desarrollo de la planta y la ausencia de patógenos, sin dañar el medio ambiente.
- Es recomendable aplicar concentraciones menores o iguales a 1×10^5 esporas/mL sobre *Botrytis cinerea* puesto que existe el riesgo de sobre crecimiento del antagonista sobre el patógeno.
- Debido a la similar efectividad en los tratamientos de control biológico de moho gris en tomate propuestos en el proyecto, es recomendable estudiar a fondo el efecto causado únicamente por el recubrimiento y/o en conjunto con diferentes aislados de hongos o bacterias.
- Es recomendable hacer hincapié en la investigación y desarrollo de nuevas tecnologías que permitan alargar la vida útil de los alimentos, más aún realizar investigaciones en el rubro de control biológico de fitopatógenos, ya que existen diversos microorganismos capaces de inhibir sin provocar daño ni mal aspecto.



8. REFERENCIAS





- Adalid, A. (2011). Mejora de la Calidad Nutritiva del Tomate: Búsqueda de Fuentes de Variabilidad, Estudio de la Influencia del Ambiente y Determinación del Control Genético. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Adrián, J. y Fragüe, R. (1990) La ciencia de los alimentos de la A a la Z. Ed. Acribia S.A. Zaragoza.
- Agrios, G. (1991). Fitopatología. Limusa. 5ta Edición. México.
- Agromática. Agricultura e información sobre el huerto. (2012). Disponible en: <http://www.agromatica.es/plagas-y-enfermedades-del-tomate> [Consultado el 30/04/2015].
- Alarcón-Zayas, A. (2013). Calidad poscosecha del tomate (*Solanum Lycopersicum*) cultivado en sistemas ecológicos de fertilización. Tesis Doctoral, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Madrid, España.
- Alarcón, M. S.; Bolkan, H., (1994). Situación y Perspectiva del Tomate en México. Campbell's Sinalopasta S. A. de C. V., Guasave, Sinaloa, México. Informe Interno.
- Alvarado, P., Monardes, H., Urbina, C., Marín, A., Escalona, V. (2009). Manual de Cultivo de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Chile, Santiago de Chile, Chile.
- Amarante, C.; Banks, N.H.; Ganesh, S. (2001). Characterising ripening of coated pears in relation to fruit internal atmosphere. Postharvest Biol. Technol. 23: 51-59.
- AOAC. (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOAC, Food Composition; Additives; Natural Contaminants Volume Two. Published by the Association of Official Analytical Chemist, Inc. Arlington, Virginia, USA, 15a Edition.
- Arana, I., Jarén, C., Arazuri, S., García-Gembe, M.J., Ursua, A., Riga, P. (2007). Calidad del tomate fresco: técnica de cultivo y variedad.



- Aranda, C. A. (2013). Análisis cualitativo y cuantitativo de licopeno y ácido ascórbico en tomate y fresa, en presencia de microorganismos endófitos. Universidad Internacional de Andalucía, España.
- Arias, R., T. C Lee, L. Logendra. (2000). Correlation of lycopene measured by HPLC with the L*, a*, b* color readings. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 1697–1702.
- Artés, F., Artés, F. 2007. Tratamientos Postrecolección del Tomate Fresco. Tendencias e Innovaciones. Grupo de Postrecolección y Refrigeración. Departamento de Ingeniería de Alimentos, Universidad Politécnica de Cartagena, Cartagena, España.
- Assis O. B, Pessoa J. D, (2004). Preparation of thin films of chitosan for use as edible coatings to inhibit fungal growth on sliced fruits. *Scientific Note, Braz. J. Food Technol.* 7: 17-22.
- Avendaño-Romero, G. C.; López-Malo, A.; Palou, E. (2012). Propiedades de alginato y aplicaciones en alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*. 7-1:87-96.
- Azcoytia, C. (2012). “historia del jitomate”. [Documento en línea]. Disponible en: www.historiacocina.com/es/historia-del-tomate. [Consultado el 25/06/2015].
- Babitha, B., Kiranmayi, P. (2010). Effect of storage conditions on the postharvest quality of tomato (*Lycopersicon esculentum*). *Research Journal of Agriculture Science* 1,409-411.
- Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos*. Pearson. 4ta edición. México.
- Baker, R. (1990). An overview of current and future strategies and models for biological control. In Hornby, D. (ed.) *Biological control of soil-borne plant pathogens*. Wallingford, UK, CAB International. p. 375-388.
- Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M.O. y Baker, R.A. (1995). Edible Coatings for Lightly Processed Fruits and Vegetables. *HortScience*, 30 (1): 35-38.
- Bara F, Llima A, Ulhoa L & Cirano J. (2003). Purification and characterization of an exo-1,3-glucanase produced by *Trichoderma asperellum*. *FEMS Microbiology Letters* 219: 81-85.



- Barreiro, J.; Sandoval, A. (2006). Operaciones De Conservación De Alimentos Por Bajas Temperaturas (Low Temperature Preservation Methods for Food), Equinoccio, Valle de Sartenejas, Baruta, Venezuela.
- Basurto-Cadena, M. G. Salcedo-Hernández R. Vázquez Arista M. (2010). Control biológico de jitomate con la cepa mexicana *Bacillus subtilis*. XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad de Guanajuato. Guanajuato, México.
- Benhamou, N; Chet, I. (1993). Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. *Phytopathology* 83: 1062-1071.
- Berbesí, M., Díaz, R., Guevara, L., Tapia, M. (2006). Calidad higiénica y patógenos asociados con melones mínimamente procesados expendidos en supermercados. Desarrollo de tecnologías para la conservación de vegetales frescos cortados. I Simposio Ibero-Americano de Vegetales Frescos Cortados. San Pedro, Brazil.
- Bell, D.; Well, H.; Markham C; (1982). "In vitro, antagonism of *trichoderma* species against six fungal plants pathogens. *Phytopathology*. 72:379-382.
- Boer, M; van der Sluis, I; van Loon, L; Bakker, P. (1999). Combining fluorescent *Pseudomonas spp.* strains to enhance suppression of fusarium wilt of radish. *European Journal of Plant Pathology* 105:201-210.
- Bosquez, M. (2006). Clasificación de productos vegetales. [Documento en línea]. Disponible:
<http://docencia.izt.uam.mx/elbm/233248/practicas/PRACTICA%201%20FTPOd efva.pdf>
[Consultado el 25/10/2015].
- Bruna Vázquez A. (2000). Manejo integrado de enfermedades de jitomate de invernadero. Instituto Nacional de Ingenieros Agrónomos. [Documento en línea]. Disponible en: <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/serieactas/NR27112.pdf>. [Consultado el 13/08/2015].
- Calvo, J.; Rivera, G.; Orozco, S.; Orozco, R. (2012). Aislamiento y evaluación in vitro de antagonistas de *B. cinerea* en mora. *Revista Agronomía Mesoamericana*. 23 (2): 225-231.



- Campbell R. (1989). Biological control of microbial plant pathogens. Cambridge University Press. New York USA. 218 P.
- Cantwell, M. (2006). Fresh Market Tomato. Statewide Uniform Variety Trial Report Field and Postharvest Evaluations. Universidad de California. South San Joaquin Valley, EE.UU.
- Cantwell, M. Trevor, V. Suslow, (2013). Quality Postharvest. Department of Plant Sciences, University of California, Davis.
- Cantwell, M. Suslow, T. (2001). Biblioteca Virtual de Ciencia/Tecnología Poscosecha. Manual de Manejo Poscosecha de tomate. Disponible en: http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/tec-poscosecha-tomate-cap-III-IV.pdf. [Consultado el 01/09/2015].
- Cardozo-García, C. Ríos- Peña, C. (2003). Determinación de la tasa respiratoria en el tomate. Universidad de Pamplona. Departamento de Santander, Colombia.
- Carrasco, E.; Villaroel, M.; y Cevallos, L. C. (2012). Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad sensorial de pimentones verdes (*Capsicum Annuum* L.) durante el almacenamiento. Arch. Lat. Nutr. 52(1):84 - 90.
- Castellanos L, J. Leanne O, Guilian, Oliva P. (2008). Estudios relacionados con el uso de *Bacillus subtilis* en el control de hongos fitopatógenos. Revista Agrotecnica de Cuba. Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical. La Habana Cuba.
- Chaves-Méndez, P. (2007). Utilización de bacterias y hongos endofíticos para el control biológico del nemátodo barrenador *Radopholus similis* (Cobb) Thorn. Tesis de Maestría en Ciencias Agrícolas. Turrialba, Costa Rica.
- Cherif, M., Benhamou, N. (1990). Cytichemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f.sp. radicis-lycopersici. Phytopathology 80: 1406-1414.
- Chet, I.; Henis, Y. (1985). *Trichoderma* as a biocontrol agent against soilborne root pathogens, pp. 110-112. En: Parker CA. (ed.) Ecology and management of soilborne plant pathogens. St. Paul, MN, USA.



- Coronel, J., Castillo, P. (2009). Alternativas de mejora en el manejo postcosecha de tomate riñón cultivado en la provincia de Santa Elena. Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas.
- Debeaufort, F., Quezada-Gallo, JA., Voilley, G (1998) Edible films and coatings: tomorrow's packagings: a review. Crit. Rev. Food Sci. 38: 299-313.
- Domene-Ruiz, M. Segura-Rodriguez, M. (2014). Parámetros de calidad externa en la industria agroalimentaria. Negocio Agroalimentario y Cooperativo. Cajamar. 5.
- Domsch, K. H., W. Gams; T. Anderson. (1993). Compendium of soil fungi. IHV-Verlag, 859 pp.
- Durango, A. M., Soares, N. F. F., Andrade, N. J. (2006). Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. Food Control. (17) 336 – 341.
- Eden, M. A.; Hill, R. A.; Steward, A. (1996). Biological control of *Botrytis* stem infection of greenhouse tomatoes. Plant Pathology 45:276-284.
- Ezziyani, M. Sánchez, C. Requena, M. Ahmed. Candela, M. (2004). Biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annuum L.*) mediante unacombinación de microorganismos antagonistas. Murcia: Tesis Doctoral. Universidad de Murcia.
- Fanelli, B. (2009). Almidón. Universidad Nacional de Quilmes. Área Química de los Alimentos. [Documento en línea]. Disponible en: http://psceni.blog.unq.edu.ar/modules/docmanager/view_file.php?curentfile=78&curent_dir=26. [Consultado el 21/09/2015].
- FAO. (2015). Deposito de documentos de La FAO. Departamento de Agricultura. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/004/ac301s/ac301s03.htm> [Consultado el 03/08/2015].
- FAO. (2003) Manejo Integral de Enfermedades en cultivos. Disponible en: <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/010/a1374s/a1374s05.pdf> [consultado el 21/03/2015].



- Fereres-Castiel, A.; Rubio-Susan, V. (2005). Control biológico de enfermedades y cultivos. Centro de Ciencias Medioambientales. Madrid.
- Fernández-Larrea, O. (1997). Microorganismos en el control fitosanitario en Cuba. Tecnologías de Producción (INISAV), C. de la Habana.
- Flores, S. (2007). Estudios básicos y aplicados tendientes al desarrollo de películas comestibles que sean soporte del antimicrobiano sorbato de potasio. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires.
- Galiano M. Mendez F, Urbaneja A. (2007). Efecto de *Trichoderma harzianum* Rifai (T-22) sobre cultivos hortifrutícolas. Departamento I+D. Koppert Biological System. Finca Labradorcico de Murcia. España.
- García, M. A, Martino, M. N, Zaritzky, N. (1998) Starch-based coatings: effect on refrigerated strawberry (*Fragaria ananassa*) quality. J. Food. Agric. 76: 411-420.
- García-Torrente, Estrada, R. (2010). Manejo de enfermedades en cultivo hortícolas mediante métodos biológicos y biorracionales. Fitopatología. CIAD. Culiacán, México.
- García-Morales, N. (2013). Determinación del nivel de daño en plantas. Fitopatología I. Universidad Rafael Landívar. Licenciatura en Ciencias Agrícolas.
- Gardner C. Sthal W. Sies H. (1997). Lycopene is more bioavailable from tomato paste than more fresh tomatoes. American Journal of Clinical Nutrition. 66: 116-122.
- Garcia-Torrente. R, Pérez-Mesa. J. (2010). Demanda Internacional y Control Biológico de Frutas y Hortalizas. Cuadernos de Estudios Agroalimentarios. Universidad de Almeria. España.
- Garelli, L. (1994). Análisis de los Alimentos. Trabajo de Ascenso. Universidad de Oriente, Núcleo de Nueva Esparta, Escuela de Ciencias Aplicadas del Mar, Boca del Río, Venezuela.
- González, G., Ayala, F., Ruiz, S., Cruz, R., Cuamea, F. (2007). Estado Actual del Mercado de Frutos y Vegetales Frescos Cortados. Dirección de Tecnología



- de Alimentos de Origen Vegetal. Centro de Investigaciones en Alimentación y Desarrollo. Sonora, México.
- Guilbert, S. (1988) Use of superficial edible layer to protect intermediate moisture foods: application to the protection of tropical fruit dehydrated by osmosis. In: CC Seow (ed.). Food preservation by moisture control. pp. 119-219. London: Elsevier.
 - Guilbert, S., Gontard, N. (2005). Agro-polymers for edible and biodegradable films: review of agricultural polymeric materials, physical and mechanical characteristics. In: Han J H (Ed.), Innovations in Food Packaging. Oxford, UK: Elsevier Academic Press.
 - Hadley C. W. Clinton S. K. Schwartz S. J. (2002). The consumption of Processed tomato products, enhances plasma lycopene concentrations. 133: 727-732.
 - Han J. H., Seo G. H., Park, I. M., Kim, G. N., Lee, D. S. (2006). Physical and mechanical properties of pea starch edible films containing beeswax emulsions. J. Food Sci., 71:290-296.
 - Hazera-México. (2015). Disponible en: http://www.hazera.mx/product_cat/saladetteroma-indeterminados [Consultado el 29/06/2015].
 - Hernández-Montiel, L. (2004). Rizobacterias y hongos micorrízicos como agentes del control biológico del damping-off en plántulas de *Carica papaya* L. Tesis para obtener el título de maestro en ciencias. Universidad de Colima. Colima, México.
 - Hernández E. M.; López, G. Y.; García, P. A. (2005). Evaluación de derivados carbimetados del alginato de sodio como superabsorbentes. Revista Cubana de Química. XVII. (3): 87-96.
 - Hernández-Chávez. (2013). Colorimetría aplicada a los alimentos.. Instituto Tecnológico de Sonora. Documento en línea disponible en: <http://es.slideshare.net/lauragassos/curso-colorimetra-aplicada-a-los-alimentos-teora-y-prctica-27456182>. [Consultado el 30/10/2015].
 - Hernández-Yépez, J.N. (2013). Caracterización físico-química y microbiológica del tomate margariteño (*Lycopersicon esculentum* var. *España*) y evaluación de



la efectividad de tratamientos de pre-ensado para el incremento de su vida comercial a temperatura ambiente. Tesis Doctoral. Departamento de Bromatología y tecnología de alimentos. Universidad de Córdoba. España. [Documento en línea]. Disponible en: <http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/9925/2013000000724.pdf?sequence=1> [Consultado el 25/03/2015].

- Huff, A. (1984). Sugar regulation of plastid interconversions in epicarp of citrus fruit. *Plant Physiology* 76, 307-312.
- Hunziker, A. T. (1979). South American *Solanaceae*: a synoptic survey. In: Hawkes, J. G.; Lester, R. N.; Skelding, A. D. (Eds.). *The biology and taxonomy of the Solanaceae*. Academic Press, New York & London: 4985.
- Inestroza, J.E. (1998). Tecnología para regular el proceso de maduración del tomate. *Avances en horticultura*. 3 (1). Tegucigalpa, Honduras. [Documento en línea]. Disponible en: http://www.horticulturaar.com.ar/bajar.php?archivo=1998*98inestroza.pdf&nombre=Tecnolog%EDa%20para%20regular%20el%20proceso%20de%20maduraci%F3n%20en%20tomate. [Consultado el 15/07/2015].
- Infante, D.; B. Martínez, González.; Reyes. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Rev. Protección Veg.* 24 (1): 14-21. San José de las Laja, La Habana, Cuba.
- Kantola, M.; Helen H. 2001. Quality changes in organic tomatoes packaged in biodegradable plastic films. *J Food Quality*. 24(2): 167-176.
- Kester, J., and Fennema, O. 1986. Edible films and coatings: A review. *Food Technology* 40:47-59.
- Kim, DS.; Cook, RJ.; Weller, DM. (1997). *Bacillus* sp. For biological control of three root disease of wheat Brown with release tillage. *Phytopathology*. 87:551-558.
- Korsten, L. De Villiers, EE. (1997). Field spray of *Bacillus subtilis* and fungicides of control of preharvest fruit disease of avocado in South Africa. *Plant Disease*. 81:455-459.



- Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. (2004) The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *Int. Dairy J.* 14: 737-743.
- Lamúa, M. (2000). *Aplicación del Frío a los Alimentos*. Mundi-Prensa, Madrid, España.
- Lecuona, R. E. (1996). *Microorganismos patógenos empleados en el control microbiano de insectos plaga*. Argentina.
- Lee, J. Y.; Park, H. J.; Lee, C. Y.; Choi, W. Y. (2003). Extending shelf-life of minimally processed apples with edible coatings and antibrowning agents. *Lebensm.Wiss. U. Technol.* 36: 323-329.
- Lewis, M.J. 1993. *Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas de Procesado*. Acribia, Zaragoza, España.
- López Valenzuela J, A. Valverde Juárez F, J. Mejía Torres S, L. López Angulo, G. (2011). Efecto del almacenamiento en atmósfera controlada sobre la calidad poscosecha y nutricional del tomate. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 17 (2): 115-128.
- López, P. (2004). Control biológico de nematodos parásitos de plantas. In: Turrialba, CR, *Control biológico de plagas agrícolas*. Manual Técnico N° 53. p. 189-191.
- Lorito, M., Hayes, C.K., Di Pietri, A., Woo, S.L., Harman, G. (1994). Purification, characterization and synergistic activity of 1,3-B glucosidase and N-acetyl-Bglucosaminidase from *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*, 84: 398-405.
- Lupo, P. B. González A.C. Maestro G. A. (2012). Microencapsulación con alginato de sodio en alimentos. *Técnicas y aplicaciones*. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 3(1):130-151.
- Márquez, C. J., Cartagena, J. R., Pérez-Gago, M. B. (2009). Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad en poscosecha del níspero japonés (*Eriobotrya japonica T.*). *VITAE* 16 (3), 304 – 310.
- Martínez, A.; Haza, A.I. y Morales, P. (2001). Frutas y verduras como agentes preventivos en la dieta II. *Actividad antimutagénica y anticancerígena*, 1 (319):33-39.



- Martínez, JT. (1998). Uso de *Trichoderma* para el control biológico de organismos patógenos de plantas. Cuauhtémoc, Chihuahua, México. 25-27 p. [Documento en línea]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000100001. [Consultado el 02/05/2015].
- McHugh, T.H. Senesi, E. (2000) Apple wraps: a novel method to improve the quality and extend the shelf life of fresh-cut apples. *J. Food Sci.* 65: 480-485.
- McHugh, T.H. Krochta, J.M. (1994) Milk-protein-based edible films and coatings. *Food Technol.* 48: 97-103.
- Merchán-Gaitán, J.B., R.L Ferrucho y J.G. Álvarez-Herrera. 2014. Efecto de dos cepas de *Trichoderma* en el control de *Botrytis cinérea* y la calidad del fruto en fresa (*Fragaria* sp.). *Rev. Colomb. Cienc. Hortic.* 8(1), 44-56.
- Michel-Aceves, A. C.; Otero-Sánchez, M. A.; Martínez-Rojero, R. D.; Ariza-Flores, R.; Barrios-Ayala, A.; Rebolledo-Martínez, A. (2008). Control biológico *in vitro* de enfermedades fungosas en tomate *Lycopersicon esculentum* Mill *Avances en Investigación Agropecuaria*, 12 (3):55-68 Universidad de Colima Colima, México.
- Navarro, J., Arauz, L., (1999). Exactitud y repetibilidad de dos métodos de métodos para la evaluación de la severidad de enfermedades fungosas en el fruto de la papaya. *Revista de Agronomía Costaricense*, 23 (1):89-96.
- Noja-Izzeddin, A. Medina, T. (2011). Efecto del control biológico por antagonistas sobre fitopatógenos en vegetales de consumo humano. *Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud.* 15 (3): pp. 8. Universidad de Carabobbo. Venezuela.
- **NMX-FF-031-1998.** Productos alimenticios no industrializados para consumo humano. Hortalizas frescas. Tomate – (*Lycopericon esculentum* mil).
- Notario-Medellin C. M, Sosa-Morales, C. M. (2012). El jitomate (*Solanum lycopersicum*): aporte nutrimental, enfermedades poscosecha y tecnologías para su almacenamiento en fresco. *Temas selectos de ingeniería en alimentos.* Puebla: México.



- Oregel-Zamudio, E. (2013). Aplicación de cubiertas comestibles formuladas con cera de candelilla para la conservación de fresa. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Jiquilpan, Michoacán.
- Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., Martin-Belloso, O. (2008). Edible coatings with antibrowning agents to maintain sensory quality and antioxidant properties of fresh-cut pears. *Postharvest Biology and Technology*. 50:87 – 94.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2015). Disponible en: <http://www.who.int/es> [Consultado el 13/02/2015].
- Orietta, F. Vega, L. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario.. Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica.
- Orjeda, G. (1998). Evaluación de la resistencia de los bananos a las enfermedades de Sigatoka negra y marchitamiento por Fusarium. Guías técnicas INIBAP 3. IPGRI, Roma, Italia; Red Internacional para el mejoramiento del banano y el plátano, Montpellier, Francia.
- Ortega-Centeno; S. D. Guillén-Sánchez; M. Ramos-García; R. Troncoso-Rojas; R. Villanueva-Arce; E. Bosquez-Molina; L. L. Barrera-Necha; S. Bautista-Baños. (2009). Métodos de inoculación y evaluación de extractos botánicos e isotiocianatos de la familia *Brassicaceae* en el control de la roya de gladiolo. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México.
- Parra-Huertas, R. (2010). Microencapsulación de alimentos. *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. Medellín. Colombia. 63(2). 15-36.
- Pérez-Gago, M.B.; Serra, M.; Alonso, M.; Mateos, M. DelRío, M. A. (2003) Effect of solid content and lipid content of whey protein isolate-beeswax edible coatings on color change of fresh-cut apples. *J. Food Sci.* 68: 2186-2191.
- Quinche, G. (2009). Control de *Botrytis cinerea* en el cultivo de rosa mediante el uso de *Trichoderma harzianum*. Escuela Superior Politécnica de Chimbomborazo. Riobamba, Ecuador.
- Ramírez, H., Encina, L., Benavides, A., Robledo, V., Hernández, J., Alonso, S. (2004). Influencia de la temperatura sobre procesos fisiológicos en postcosecha de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Agraria Nueva Época* 1, 31-37.



- Ramos-García, M. L., Bautista Baños, S., Barrera Lecha, L.L. Estrada Carrillo R. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 28:44-57.
- Rasco E.U., Villarroel M., Cevallos L.C. (2002) Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad sensorial de pimentones verdes (*Capsicum annuum* L.) durante el almacenamiento. *Archivos latinoamericanos de Nutrición* 52: 84-90.
- Reina, G. C. (1998). Manejo Poscosecha y evaluación de la calidad de tomate que se comercializa en la ciudad de Neiva. Universidad Surcolombiana. Facultad de Ingeniería Agrícola. Neiva, Colombia.
- Rifai, M. A. (1969). A revision of the genus *Trichoderma* Res. Mycol. 166:1-56.
- Ríos, D., Santos, B., Díaz, D., García, N. (2003). Ensayos de cultivares de tomate de exportación en Tenerife: II. Comportamiento en postcosecha. *Agrícola Vergel: Fruticultura, Horticultura, Floricultura*. 262:504-511.
- Ribeiro, C., Vicente A. A., Teixeira J. A., Miranda C. (2007). Optimization of edible coating composition to retard strawberry fruit senescence. *Postharvest Biology and Technology*. (44):63 – 70.
- Rodoni, L. Casadel, N. Concellón, A. (2010). Effect of short-term ozone treatments on tomato (*Solanum Lycopersicum* L.) fruit quality and cell call degradation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 58:594-599.
- Rojas-Grau. M. (2006). Recubrimientos comestibles y sustancias de origen natural en manzana fresca cortada: una nueva manera de conservación. Tesis Doctoral. Escola Tècnica Superior d'Enginyeria Agrària. Univversidad de Lleida.
- Romojaro, M.C. Martínez Madrid, M.T. Pretel. (2003). Factores precosecha determinantes de la calidad y conservación en poscosecha de productos agrarios. Dpto. Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC-Escuela Politécnica Superior (UMH). Murcia. España.
- Ronquillo, E. (2007). Evaluación del potencial antimicrobiano de películas comestibles con aceites esenciales in vitro e in situ. Tesis de Maestro en Ciencias. Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, Iztapalapa. México. pp 46.



- SAGARPA. (2012). Panorama Nacional de Jitomate. Financiera Nacional de Desarrollo Agropecuario, Rural, Forestal y Pesquero. Disponible en: <http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Panoramas> [Consultado el 10/02/2015].
- Sánchez-López V. Martínez-Bolaños L. Zavala-Gonzales E. (2012). Aislamiento y caracterización de *Trichoderma* sp en diferentes ecosistemas de la región de Papaloapan. Universidad de Papaloapan. Oaxaca.
- Sánchez-Mata, M.C. (2002) Post-recolección de frutas y hortalizas. Incidencia en la calidad. Trazabilidad. En: Aspectos relativos a la calidad de frutas y hortalizas frescas. Monografía I. Pag. 26-45. Fundación Sabor y salud. Valencia.
- San Fuentes E, F Ferreira. (1997). Avaliação de fungos para biocontrole de *Botrytis cinerea* em viveiros suspensos de eucalipto. Revista *Árvore* 21(1):147-153.
- Schirmbock, M; Lorito, M; Wang, Y; Hayers, C. (1994). Parallel formation and sinergismo of hydrolytic enzymes and peptabiol antibiotics, molecular mechanisms involved in the atagonistic activity of *Trichoderma harzanium* against phytopathogenic fungi. *Applied and Enviromental Microbiology*. 60.: 4364-4370.
- SESICO. (2008). “Jitomate, características de especie”. [Documento en línea]. Disponible en: www.7.uc.cl/sw_educ/hortalizas/html/index.html. [Consultado el: 13/07/2015].
- Skidmore, AM. Dickinson, CH. (1976). Colony interactions and hyphal interference between *Sephtoria nodorum* and phylloplane fungi. *Transactions of the British Mycological Society*. 66 (1): 57-64.
- Soliva-Fortuny, R.C.; Lluch, M.A.; Quiles, A.; Grigelmo-Miguel, N.; Martín-Belloso, O. (2003) Evaluation of textural properties and microstructure during storage of minimally processed apples. *J. Food Sci*. 68: 312-317.
- SRE-Secretaria de Relaciones Exteriores (2015). “México: Primer exportador mundial de tomate”. Disponible en: <http://consulmex.sre.gob.mx/omaha/images/JITOMATE/jitomate.pdf> [Consultado el 25/03/2015].



- Stefanova, M. Leiva, A. Larriganaga, L. (1999). Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* y su posible uso en el bio control de hongos fitopatógenos del suelo. Revista Facultad de Agronomía. 16:509-516.
- Stirensen, P. (2008). “Definición de pH”. [Documento en línea]. Disponible en: www.quimicageneral.blogspot.mx/2008/06/elquimico-dan-sip. [Consultado el: 10/05/2015].
- SYNGENTA. (2015). Pérdidas Causadas por *Botrytis cinérea*. Disponible en: <http://www3.syngenta.com/country/co/sp/Paginas/home.aspx?cod=18&pais=>. [Consultado el 23/08/2015].
- Tangerife C. V. (2011). *Fusarium spp.* Escuela de Microbiología. Universidad de Antioquía. España. [Documento en línea]. Disponible en: <http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/mod/resource/view.php?inpopup=true&id=100813>. [Consultado el 30/09/2015].
- Toivonen, P. (2007). Fruit maturation and ripening and their relationship to quality. Stewart Postharvest Review. 3:1-5.
- Torija-Isasa, M^a.E. (2002) Factores determinantes de la calidad nutritiva de frutas y hortalizas frescas. En Aspectos relativos a la calidad de frutas y hortalizas frescas. Monografía I. Pag. 12-23. Fundación Sabor y salud. Valencia.
- Trujillo, A. Díaz, A. Hernández y M. Heydrich. (2007). Antagonismo de cepas de *pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia* contra hongos fitopatógenos del arroz y del maíz. Rev. Protección Veg. 22 (1): 41-46. Facultad de Biología. Universidad de La Habana, Cuba.
- Tzoumaki, M. V., Biliaderis C. G., Vasilakakis, M. (2009). Impact of edible coatings and packaging on quality of white asparagus (*Asparagus offi cinalis, L.*) during cold storage. Food Chemistry, 117, 55 – 63.
- Urrieta, V. J. A. (2011). Crecimiento, desarrollo, extracción nutrimental, rendimiento y calidad del tomate costilla (*Solanum Lycopersicum Mill*) . Tesis de Doctorado en Ciencias de Edafología. Colegio de Posgraduados. Montecillo, México.
- Villa, P. M.; Frías, A; González, G. (2005). Evaluación de cepas de *Pseudomonas sp* para el control de hongos fitopatógenos que afectan cultivos de interés económico ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol.



XXXIX (3). pp. 40-44. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar Ciudad de La Habana, Cuba.

- Von Haeff, J. N. M.; Ir Johann; D. Berlijn, (1983). Manuales para Educación Agropecuaria, Horticultura, Producción Vegetal, Trillas, D.F., México.
- Yabur-Bashan, Y. Hernández-Carmona G. (2007). Alginate from the macroalgae *Sargassum Sinicola* as a Novel source For microbial immobilization. Journal of Applied Phycology. 19(1). 43-53.