



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

APLICACIÓN DE RECUBRIMIENTOS A BASE DE CERAS  
ADICIONADOS CON COMPUESTOS NATURALES Y QUÍMICOS  
PARA CONTROLAR ANTRACNOSIS EN AGUACATE 'HASS'

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADA EN INGENIERÍA EN ALIMENTOS

PRESENTA:  
VERONICA ESTRELLA NERI

ASESORA: DRA. MA. ANDREA TREJO MÁRQUEZ

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MEX.

2012



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.



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

U.N.A.M.

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO  
DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos la **Tesis:**

Aplicación de recubrimientos a base de ceras adicionados con compuestos naturales y químicos para controlar antracnosis en aguacate 'Hass'

Que presenta la pasante: Veronica Estrella Neri  
Con número de cuenta: 406082015 para obtener el Título de: Ingeniera en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**  
**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**  
Cuautitlán Izcallí, Méx. a 12 de septiembre de 2011.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	<b>NOMBRE</b>	<b>FIRMA</b>
<b>PRESIDENTE</b>	Dra. María de los Ángeles Cornejo Villegas	
<b>VOCAL</b>	Dra. Carolina Moreno Ramos	
<b>SECRETARIO</b>	Dra. María Andrea Trejo Márquez	
<b>1er SUPLENTE</b>	M. en C. María Guadalupe Amaya León	
<b>2do SUPLENTE</b>	M. en T.A. Omar Reyes Martínez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 120).  
HHA/pm

El presente trabajo fue financiado por el proyecto  
**PAPIME: Elaboración de materiales  
educativos para fortalecer la enseñanza en el  
Taller Multidisciplinario de Ingeniería en  
Alimentos-Procesos Tecnológicos de Frutas y  
Hortalizas de la carrera de ingeniería en  
Alimentos (PE 202610)**, de la Dirección General  
de Asuntos del personal Académico de la UNAM.

## GRADECIMIENTOS

Agradezco a la vida, a Dios, a todas las personas que estuvieron en esta etapa, a la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán por la dicha que me dieron en adquirir conocimientos, ideas y formas nuevas de ver la vida.

Agradezco a mis padres por ayudarme a llegar a esta etapa han sido una parte fundamental en este camino, por su apoyo incondicional, por su paciencia y por enseñarme a ser perseverante, gracias.

Agradezco a mi hermana Raquel por preocuparse y por la ayuda que me ha brindado muchas gracias.

Agradezco a mi novio y amigo Oscar Francisco Guadarrama Morales por su paciencia, su comprensión, su amor incondicional, por los momentos de alegría y tristeza que ha compartido conmigo y por sus consejos que me han marcado la vida muchas gracias.

Agradezco a Aline Molina Meneses, Diego Santana Pérez, Oscar Francisco Guadarrama Morales y Viridiana García Rivera por apoyarme y dejarme enseñanzas importantes, les agradezco los momentos de felicidad que me han brindado y su amistad esperando que perdure para toda la vida.

Agradezco a Vianey Gonzales Trejo, Claudia Rosado Rivas, a las chicas y chicos poscosecha: Ariana, Ingrid, Juan Carlos, Lizeth, Lorena, Lucero y Lupita por estar en esta etapa Universitaria, todos ustedes me dejaron una enseñanza importante.

A la profesora Lupita y a Selene por su apoyo en la orientación y realización de este trabajo.

Agradezco a la Dra. Andrea Trejo Márquez por su paciencia, dedicación, apoyo y dirección en la realización de este trabajo, gracias por su ejemplo de dedicación y pasión por la carrera.

*Veronica Estrella Neri*



**ÍNDICE GENERAL**

RESUMEN..... 1

INTRODUCCIÓN..... 2

1. ANTECEDENTES..... 3

    1.1 Morfología del aguacate y sus variedades..... 3

        1.1.2 Definición botánica del aguacate ..... 3

        1.1.3. Variedades de aguacate ..... 4

    1.2 Aspecto socioeconómico para exportación..... 4

        1.2.1 Producción en México de aguacate. .... 4

            1.2.1.2 Principales estados productores en México ..... 4

            1.2.1.3 Importación y Exportación..... 6

            1.2.1.4 Producción mundial ..... 7

        1.2.2 Exportación de México hacia Europa ..... 8

    1.3 Normatividad para la exportación de aguacate ..... 8

    1.4 Composición química del aguacate..... 9

        1.4.1 Fisiológica y bioquímica del aguacate ..... 10

    1.5 Daños poscosecha en el aguacate ..... 13

    1.6 Plagas y enfermedades del aguacate. .... 14

        1.6.1 Morfología de la antracnosis..... 14

        1.6.2 Clasificación ..... 15

        1.6.3 Síntesis ..... 15

        1.6.4 Etiología y epidemiología de la antracnosis del aguacatero..... 18

        1.6.5 Condiciones favorables ..... 19

        1.6.6 Medio de infección ..... 19

    1.7 Tipos de tratamiento poscosecha ..... 20

        1.7.1 Cera de candelilla..... 22

            1.7.1.1 Usos de la cera de candelilla ..... 22

        1.7.2 Cera de abeja..... 23

            1.7.2.1 Composición ..... 23

            1.7.2.2 Usos de la cera de abeja ..... 24

        1.7.3 Cera de carnauba..... 24

            1.7.3.1 Composición. .... 25

            1.7.3.2 Usos de la cera de Carnauba..... 25



1.7.4 Fungicida químico utilizado en el control de antracnosis. ....	25
1.7.4.1 Mecanismo de acción. ....	26
1.7.4.2 Toxicidad. ....	27
1.8 Aceites esenciales utilizados como antifúngicos.....	27
1.8.1 Mecanismo de acción .....	28
2. OBJETIVOS.....	30
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1 Cuadro metodológico .....	31
3.2 Material biológico .....	32
3.3 Tratamiento de la muestras.....	32
3.4 Caracterización química y fisicoquímica del aguacate.....	32
3.5 Efecto de recubrimientos a base de ceras en el control de antracnosis.....	32
3.5.1 Resiembra del hongo <i>Colletotrichum gloesporoides</i> .....	32
3.5.2 Pruebas <i>in vitro</i> para establecer el efecto antifúngica de aceites esenciales....	33
3.6 Selección de formulaciones para los recubrimientos. ....	34
3.7. Preparación del inóculo para pruebas reto .....	36
3.8 Aplicación de recubrimientos para el control de antracnosis en aguacate .....	37
3.9 Técnicas analíticas.....	39
3.9.1 Parámetros químicos. ....	39
3.9.1.2 Determinación de la actividad enzimática peroxidasa y polifenoloxidasas (PDO y PPO).....	40
3.9.1.2.1 Preparación de los extractos enzimáticos. ....	40
3.9.1.2.2 Determinación de la peroxidasa (PDO).....	40
3.9.1.2.3 Determinación de la polifenoloxidasas (PPO).....	40
3.9.2 Parámetros de calidad. ....	41
3.9.3 Parámetros fisiológicos .....	42
3.10 Análisis estadístico .....	42
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	43
4.1 Caracterización, física, fisicoquímica y química del aguacate Hass.....	43
4.2. Selección de las concentraciones de los fungicidas a través de las pruebas <i>in vitro</i> .....	44
4.2.1 Velocidad de crecimiento del hongo <i>Colletotrichum gloesporioides</i> . ....	45
4.3 Selección del recubrimiento de cera.....	53
4.3.1 Efecto de los recubrimientos en los parámetros de calidad.....	54



4.4 Efecto de los recubrimientos de cera adicionados con fungicidas químicos y naturales sobre los parámetros de calidad, fisiológicos del aguacate.....	64
4.4.1 Efecto en el pH .....	64
4.4.2 Efecto de los sólidos solubles .....	66
4.4.3 Efecto en la pérdida de peso .....	67
4.4.4 Efecto de la materia seca.....	69
4.4.5 Efecto de la firmeza .....	71
4.4.6 Efecto en el color .....	73
4.4.7 Efecto en la respiración.....	82
4.4.8 Efecto de la actividad enzimática por los tratamientos de cera y los fungicidas en las enzimas PPO (polifenoloxidasas) y PDO (peroxidasa) en el aguacate infectado con antracnosis.....	84
4.4.8.1 Efecto de la peroxidasa (PDO) .....	85
4.4.8.2 Efecto de la polifenoloxidasas (PPO) .....	86
5. CONCLUSIONES .....	88
6. RECOMENDACIONES .....	89
7. ABREVIATURAS .....	90
8. REFERENCIAS .....	91

### ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Partes que conforman el aguacate. ....	4
Figura 2 Producción de aguacate en México. ....	5
Figura 3 Producción mundial de aguacate .....	7
Figura 4. Principales países productores de aguacate.....	7
Figura 5. Cambios del aguacate en diferentes estados de maduración. ....	11
Figura 6. Acción de PPO sobre los compuestos fenólicos. ....	12
Figura 7. Estructura de la enzima Peroxidasa (PDO).....	13
Figura 8. Estructura microscópica del hongo <i>C. gloeosporioides</i> . ....	18
Figura 9. a) Planta de la cual se extrae el cerote, sustancia que se refina para obtener la cera de candelilla y b) cera de candelilla refinada lista para las diversas aplicaciones industriales. ....	23





Figura 10. a).Panal formado por las abejas a través de sus glándulas cereras, estos son utilizados para conservar la miel, el polen, sus huevos y para la extracción de la cera b) cera de abeja refinada lista para diversas aplicaciones industriales..... 24

Figura 11. a) Hoja donde se extrae la cera de carnauba. Estas hojas son secadas al sol y posteriormente es removida de las hojas la cera cruda. b) cera de carnauba refinada lista para diversas aplicaciones industriales. .... 25

Figura 12. Estructura química del benomilo ..... 26

Figura 13. a) Cepa del hongo *Colletotrichum gloesporoides* b) siembra del hongo c) incubación del hongo ..... 33

Figura 14. a) Dilución de los fungicidas b) secado de los biodiscos después de la aplicación de los fungicidas c) corte de la cepa d) colocación de la cepa en el agar e) colocación de los biodiscos en el agar f) incubación del los bioensayos a temperatura ambiente por 7 días. .... 34

Figura 15. Lotes de aguacates utilizados para la aplicación de los diferentes recubrimientos..... 36

Figura 16. Campos de división de la cámara de NeuBauer ..... 37

Figura 17.Preparación del inóculo de *Colletotrichum gloesporoides* ..... 38

Figura 18. Espectrofotómetro..... 41

Figura 19. Extractos enzimáticos obtenidos después de la centrifugación a 12000 rpm. . 41

Figura 20. Velocidad de crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* utilizando aceite esencial de limón a diferentes concentraciones..... 51

Figura 21. Velocidad de crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* utilizando Benomilo a dos diferentes concentraciones..... 52

Figura 22. Porcentaje de pérdida de peso del aguacate 'Hass' almacenado a 9°C..... 54

Figura 23. Cambios en la firmeza del aguacate Hass almacenado a 9°C.. ..... 56

Figura 24. Cambios en el porcentaje de materia seca del aguacate 'Hass' almacenado a 9°C.. ..... 57

Figura 25. Cambios en los sólidos solubles en el aguacate 'Hass' almacenado a 9°C..... 58

Figura 26. Cambios en el pH del aguacate 'Hass' almacenado a 9°C..... 60

Figura 27. Comportamiento de la aplicación de las diferentes formulaciones de ceras en los aguacates 'Hass'..... 62

Figura 28. Efecto del los recubrimientos en el pH de los frutos de aguacate 'Hass'..... 65

Figura 29. Efecto de los recubrimientos en los sólidos solubles de los frutos de aguacates 'Hass'..... 66

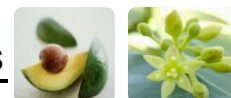


Figura 30. Efecto de los recubrimientos en la pérdida de peso de los frutos de aguacates ‘Hass’..... 68

Figura 31. Efecto de los recubrimientos en la materia seca de los frutos de aguacates ‘Hass’..... 70

Figura 32. Efecto de los recubrimientos en la textura de los frutos de aguacates ‘Hass’. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales..... 72

Figura 33. Efecto de los recubrimientos en la luminosidad de los frutos de aguacates ‘Hass’..... 74

Figura 34. Efecto de los recubrimientos en el tono de los frutos de aguacates ‘Hass’..... 75

Figura 35. Efecto de los recubrimientos en la cromaticidad de los frutos de aguacates ‘Hass’..... 76

Figura 36. Desarrollo de antracnosis en el aguacate ‘Hass’ en los frutos control inoculado y control sin inocular..... 78

Figura 37. Desarrollo de la antracnosis en el aguacate ‘Hass’ tratados con cera de abeja y benomilo..... 79

Figura 38. Desarrollo de la antracnosis en el aguacate ‘Hass’ tratados con cera de candelilla con benomilo y aceite esencial de limón..... 80

Figura 39. Respiración de los frutos del aguacate ‘Hass’ con los diferentes recubrimientos..... 82

Figura 40. Efecto de los recubrimientos en la PDO de los frutos de aguacates ‘Hass’..... 85

Figura 41. Efecto de los recubrimientos en la enzima PPO de los aguacates ‘Hass’..... 86

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Diferentes variedades de aguacate..... 5

Tabla 2. Importación y exportación de aguacate..... 6

Tabla 3. Composición general de aguacate..... 9

Tabla 4. Ácidos grasos saturados..... 10

Tabla 5. Ácidos grasos no saturados..... 10

Tabla 6. Plagas cuarentenarias del aguacate..... 16

Tabla 7. Principales enfermedades en aguacate..... 17

Tabla 8. Clasificación del *colletotrichum*..... 18

Tabla 9. Principales métodos de conservación en poscosecha del aguacate..... 20

Tabla 10. Formulación 1 de cera de candelilla..... 35

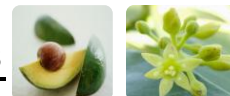


Tabla 11. Formulación 2 de cera de candelilla ..... 35

Tabla 12. Formulación 3 de cera de candelilla ..... 35

Tabla 13. Formulación 4 de cera de candelilla ..... 35

Tabla 14. Formulación 5 de cera de abeja ..... 35

Tabla 15. Parámetros físicos del aguacate Hass ..... 43

Tabla 16. Parámetros químicos y fisicoquímicos del aguacate Hass. .... 43

Tabla 17. Crecimiento del *Colletotrichum gloesporioides* con aceite esencial de limón.... 46

Tabla 18. Crecimiento del *Colletotrichum gloesporioides* con benomilo. .... 47

Tabla 19. Crecimiento del *Colletotrichum gloesporioides* con aceite esencial de limón del segundo experimento ..... 48

Tabla 20. Crecimiento del *Colletotrichum gloesporioides* con benomilo segundo experimento ..... 49



## RESUMEN

El objetivo principal del trabajo fue comparar el efecto de los recubrimientos formulados a base de ceras adicionados con compuestos naturales y químicos, para el control de antracnosis y aumentar de la vida útil del aguacate variedad 'Hass'.

Aguacates variedad 'Hass' procedentes de Michoacán se utilizaron para el presente estudio. Los frutos fueron seleccionados por peso, color y estado de madurez, se eliminaron los que presentaron daños mecánicos. Las pruebas *in vitro* para establecer las concentraciones que inhibían el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporoides* se realizaron a diferentes concentraciones del aceite esencial de limón (10, 15 y 20  $\mu$ l de aceite esencial/ml de alcohol) y benomilo (4 y 10 mg de fungicida/litros de agua). Las formulaciones de cera (cera de abeja, candelilla y carnauba) se seleccionaron evaluando la estabilidad de la emulsión formada por los diferentes componentes. Posteriormente estas formulaciones se aplicaron en lotes de 12 aguacates 'Hass' y se midieron los parámetros de calidad, pérdida de peso, color, pH, sólidos solubles y materia seca.

Las concentraciones de aceite esencial y benomilo que inhibieron el crecimiento del hongo a partir de las pruebas *in vitro* fueron, 20  $\mu$ l /ml de alcohol y 20 mg/litros de agua. Los recubrimientos seleccionados fueron aquellos que ayudaron a preservar los parámetros de calidad, cera de abeja 10%, alcohol 14%, agua 28%, ácido oleico 40% y tween 1% y aceite esencial de limón 1%, cera de candelilla 10%, alcohol 27%, agua 54%, ácido oleico 40% tween 1% y aceite esencial de limón 1%.

Los aguacates con los recubrimientos seleccionados no presentaron un efecto en los parámetros de calidad (pH, sólidos solubles y materia seca), disminuyeron la pérdida del color verde y la producción de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>). Los tratamientos de cera con benomilo y aceite esencial de limón inhibieron el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides*, observando que los tratamientos que presentaron un mayor control fueron: cera de abeja con benomilo y cera de candelilla con benomilo.

Se concluye que los recubrimientos a base de cera de abeja con benomilo y aceite esencial de limón son una buena alternativa para el control de antracnosis en aguacate.



## INTRODUCCIÓN

México es el principal productor a nivel internacional del aguacate, siendo Michoacán el estado con mayor producción a nivel nacional, en el 2010 participó con 546 miles de toneladas (SIAP, 2009).

El aguacate es una fruta que presenta daños desde su cosecha hasta su poscosecha, debido a un mal manejo en su conservación. Los daños más comunes en el almacenamiento son los daños mecánicos y ocasionados por frío (Pluma, 1987).

Las plagas y enfermedades son las más difíciles de controlar pues pueden ser imperceptibles en la cosecha y desarrollar síntomas hasta la poscosecha. Algunas de las enfermedades más importantes son: la sarna o roña causada por el hongo *Sphaceloma*, pudrición de pedúnculo causado por el *Diplodia sp* y la antracnosis o mancha negra producida por el hongo *Colletotrichum gloesporioides*, la cual causa manchas negras en la pulpa o en el pedúnculo siendo éste el agente causal de pérdidas cercanas al 20% de la producción (Rodríguez- López *et al.*, 2008; Gutiérrez *et al.*, 2004).

Hay diversos tratamientos que se han aplicado para controlar las pérdidas poscosecha en este fruto como son: almacenamiento a bajas temperaturas, almacenamiento en atmósferas controladas (AC) y atmósferas modificadas, aplicación de ceras y otros revestimientos de superficies, coberturas plásticas, películas microbianas, así como también películas comestibles a base de polisacáridos, proteínas y plastificantes que evitan su rápido deterioro (Espinoza y Hernández, 2006; Bósquez, 2003). Dentro de estos recubrimientos se han adicionado productos químicos sintéticos, en el cual su uso continuo e indiscriminado de agroquímicos, traen consigo el incremento de costos de producción, el desarrollo de resistencia de residuos de pesticidas en los alimentos y en consecuencia, los riesgos en la salud humana y el medio ambiente. Por estos motivos, en las últimas décadas del siglo XX se ha incrementado el interés en la búsqueda de alternativas más seguras que permitan minorar este tipo de efectos. Una de estas alternativas ha sido la utilización de sustancias de origen natural, consideradas más seguras para la salud humana y el medio ambiente, por lo que son más aceptadas por los consumidores (Alzate *et al.*, 2008).



## 1. ANTECEDENTES

### 1.1 Morfología del aguacate y sus variedades

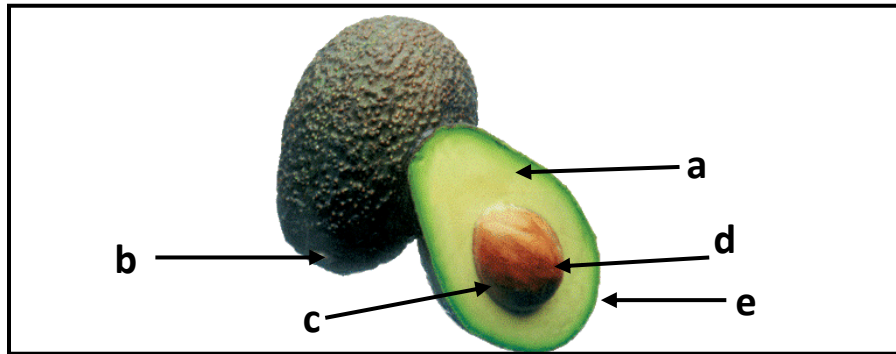
#### 1.1.2 Definición botánica del aguacate

El nombre “aguacate” deriva de la palabra nahuatl ahuatli, y proviene de un árbol que se originó en una amplia zona geográfica que abarca desde la planicie central de México hasta la costa de la América Central, en el Pacífico (CONACYT, 2008)

El aguacate es la fruta de la *Persea americana*, es un árbol frondoso y de hoja perenne, su floración es generosa. Sus flores son perfectas en racimos, sin embargo, éstas abren en distintos momentos, primero como femeninas, después cierran y vuelven a abrir como masculinas; cada árbol puede llegar a producir hasta un millón de flores y sólo el 0.1 % se transforman en fruto. El fruto es una baya con una semilla oval, puede ser de superficie lisa o rugosa, su peso varía desde 120 g a 2.5 kg y su piel puede ser fina o gruesa, rico en proteínas y en grasas, con un contenido en aceite del 10 al 20%. (SIAP, 2008).

El fruto es sensible al frío y a la humedad, por lo que su establecimiento por lo regular es en regiones libres de heladas y de vientos calurosos y secos. La temperatura y la lluvia son los dos factores de mayor incidencia en el desarrollo de este cultivo, en cuanto a precipitación, se considera que 1,200 mm anuales bien distribuidos son suficientes. Las sequías prolongadas provocan la caída de las hojas, estimulando un bajo rendimiento. La precipitación excesiva durante la floración y fructificación, reduce la producción y provoca la caída del fruto. El viento produce daño, rotura de ramas y caída del fruto; cuando el viento es muy seco durante la floración, se reduce el número de flores polinizadas y por consiguiente de frutos, lo que provoca que disminuya la producción (SIAP, 2008).

El aguacate es una drupa, está constituido por una semilla, cubierta por una pulpa grasa de colores que van desde el amarillo brillante hasta el crema, generalmente en tonalidades verdosas en las proximidades de la cáscara; la semilla está formada por dos cotiledones en cuyo interior se localiza el embrión y esta se encuentra revestida por una capa (endocarpio), algunas veces fuertemente adherida a los cotiledones y otras veces suelta (Figura 1).



**Figura 1.** Partes que conforman el aguacate. a) mesocarpo, b) pedúnculo, c) endocarpo, d) semilla, e) exocarpo.  
Fuente: Pluma (1987)

### 1.1.3. Variedades de aguacate

Hay docenas de variedades de aguacates que se dividen en tres categorías principales: Los aguacates mexicanos, guatemalteco y los de las Indias Occidentales que difieren en su tamaño, apariencia, calidad y sensibilidad al frío. De acuerdo a varios autores el aguacate se agrupa en tres diferentes tipos o razas, siendo éstos: el guatemalteco, mexicano y el antillano. Las variedades más conocidas se muestran en la Tabla 1.

## 1.2 Aspecto socioeconómico para exportación

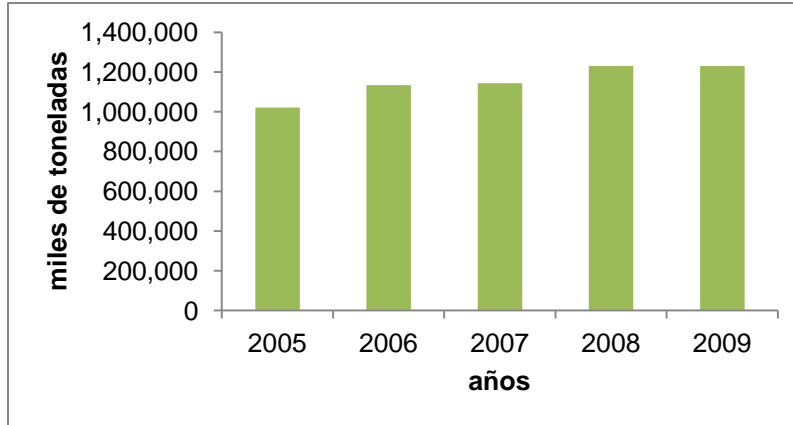
### 1.2.1 Producción en México de aguacate.

A nivel nacional, México ocupa uno de los primeros lugares en producción de aguacate Hass, la producción de aguacate en el 2008 fue de 1.16 millones de toneladas, y en el 2009 fue 1.23 millones de toneladas, aumentando la producción (Figura 2) (SIAP, 2009).

#### 1.2.1.2 Principales estados productores en México

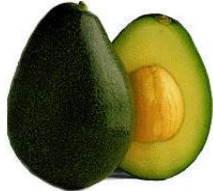


**Michoacán:** En el año 2007 alcanzó una producción de 1,006 miles de toneladas, siendo esta rebasada en el 2009 con 1,081 miles de toneladas, colocando a México como uno de los principales productores a nivel mundial.

Cabe resaltar que en el año 2010 disminuyó la producción llegando a 546 miles de toneladas (SIAP, 2009).



**Figura 2** Producción de aguacate en México.  
Fuente: SIAP (2009).

**Tabla 1.** Diferentes variedades de aguacate

VARIEDAD	
<p>Es una variedad de aguacate de piel verde, de tamaño mediano que está disponible desde finales del otoño hasta la primavera, tiene forma ovalada y semillas grandes, su piel es fina y su pulpa de color amarillo verdoso. Es una variedad de tamaño mediano de peso 170 y 340 g.</p>	 <p>Aguacate Bacon</p>
<p>Esta variedad se cosecha desde finales del otoño hasta la primavera, es original de California. Tiene forma de pera y semillas de tamaño medio y se puede pelar fácilmente. Su tamaño es mayor que el de otros tipos de aguacates su peso puede variar de 141 y 400g. Su piel es suave y verde manteniéndose verde cuando está maduro, la pulpa es de color verde pálido.</p>	 <p>Aguacate Fuerte</p>
<p>En esta variedad de aguacate su piel es rugosa pero flexible, cambia de verde a púrpura oscuro cuando está maduro. El fruto presenta forma ovalada y semillas pequeñas, se puede pelar fácilmente, tiene un peso aproximado de 140 y 340 g y presenta un tamaño entre medio y grande.</p>	 <p>Aguacate Hass</p>

Fuente: Pluma (1987)





**Morelos:** Entre 2002 y 2008 produjo en promedio 25.4 miles de toneladas por año, y para el cierre de 2008, se ubicó como el tercer estado con mayor producción (SIAP, 2008). En el año 2009, la producción llegó a 31. 4 miles de toneladas, ocupando el segundo lugar para ese año.

**Nayarit:** Con el 2.4% de la producción nacional en el 2008 y con un volumen de 26.7 miles de toneladas, ocupó el segundo lugar y para el 2009 se mantuvo con la misma producción (SIAP, 2009).

### 1.2.1.3 Importación y Exportación

México es el principal productor a nivel internacional, las exportaciones en el ciclo 2007-2008 se incrementaron en 21% respecto al ciclo anterior obteniendo un incremento en el año 2010 en 421 millones de toneladas.

Las importaciones como se puede ver en la Tabla 2, son mínimas debido a que México es autosuficiente en la producción de este cultivo (SIAP, 2008).

**Tabla 2.** Importación y exportación de aguacate

<b>Años</b>	<b>Importación</b>	<b>Exportación</b>
	Millones de toneladas	
<b>2005</b>	0.4	218.5
<b>2006</b>	0.8	208.3
<b>2007</b>	0.6	298.1
<b>2008</b>	1.5	270.9
<b>2009</b>	3.9	338
<b>2010</b>	5.8	421

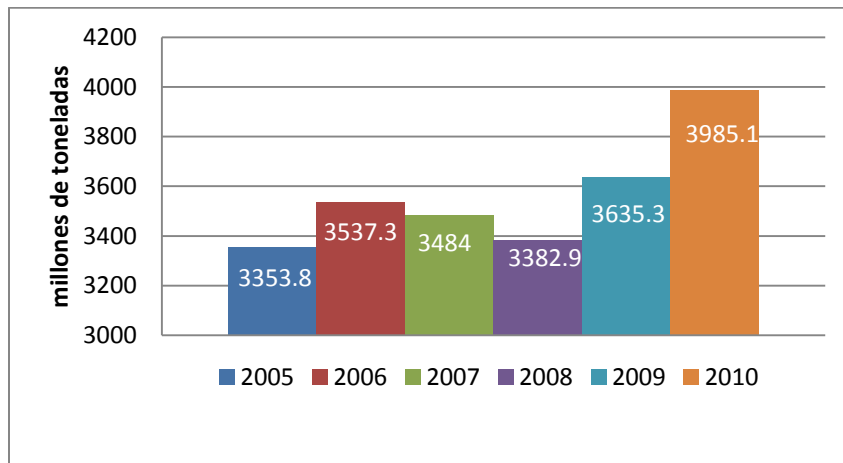
Fuente: FAO (2011)



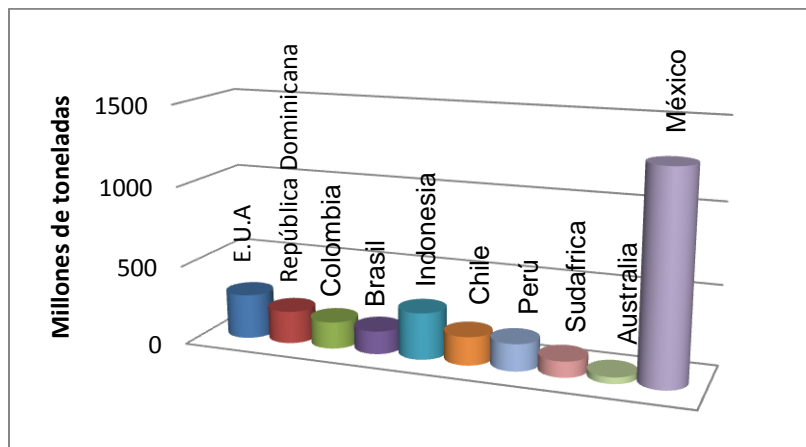
### 1.2.1.4 Producción mundial

De acuerdo con las proyecciones realizadas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés), la producción mundial de aguacate presentó un incremento del 2005 al 2010 (Figura 3) (FAO, 2011).

El principal productor de aguacate es México, en segundo lugar se encuentran Estados Unidos e Indonesia, reportaron para el año 2009 una producción de 268.7 millones de toneladas pero en el 2010 Indonesia reportó un aumento en su producción. En tercer lugar se encuentran Chile y Colombia con una producción no mayor a los 180.1 millones de toneladas (Figura 4) (FAO, 2011).



**Figura 3** Producción mundial de aguacate  
Fuente: FAO (2011).



**Figura 4.** Principales países productores de aguacate  
Fuente: FAO (2011).



### 1.2.2 Exportación de México hacia Europa

México ha dado un importante incremento en la exportación, sin embargo el país al cual se exporta mayoritariamente es Estados Unidos con un 30%. Los índices de exportación hacia otros mercados es menor, como el japonés, donde la difusión que se realiza en aquel país contribuyó a incrementar en 18% la exportaciones, colocando hasta la fecha 16 mil 497 toneladas de la fruta.

Los niveles de exportación también mejoraron en Canadá, donde se superaron las expectativas en un 40%, lo que se ve reflejado en 14 mil 140 toneladas de aguacate; Centroamérica, con 15 mil 296; Europa, 6 mil 856, y Asia, 528 toneladas, lo que representa 53 mil 358 toneladas de aguacate exportado a mercados no estadounidenses, con una producción de 60% (Cedaño, 2010).

### 1.3 Normatividad para la exportación de aguacate

Los productores mexicanos de aguacate deben seguir la norma mexicana NMX-FF-016-SCFI-2006, en la cual establece los requisitos que debe tener el fruto, calidad y la tolerancia de daños de cada fruto para su consumo en fresco.

A su vez, para su exportación se tiene que seguir un programa de trabajo establecido por la Norma Oficial Mexicana NOM-066-FITO-2002. La cual establece las especificaciones para el manejo fitosanitario y movilización del aguacate. La norma mencionada aplica tanto para el mercado nacional como para exportación e incluye la definición de zonas libres de plagas cuarentenarias.

Al ser Michoacán el mayor productor de aguacate se formó una asociación para fomentar la exportación del aguacate michoacano llamada APEAM, es la asociación cúpula de la industria del aguacate de Michoacán y está compuesta por siete miembros productores y siete miembros empaques que representan a 1500 productores y 18 empaques certificadas por la SAGARPA y el USDA. Los objetivos de la APEAM son: (Salazar, 2005)

- Posicionar el aguacate 'Hass' mexicano en los mercados internacionales,
- Fomentar la imagen corporativa de la APEAM,
- Ofrecer un producto con calidad suprema en los mercados internacionales.



- Competitividad en los mercados internacionales.
- Realizar campañas de promoción.

En México se pretende mantener la calidad del aguacate para poder aumentar su exportación por lo que cada año se realizan campañas de promoción hechas por SAGARPA para eliminar plagas cuarentenarias y así aumentar la calidad de este fruto.

#### 1.4 Composición química del aguacate

El fruto tienen un alto contenido calórico, tres veces más que el plátano y una vez y media más que la carne, esto se debe al gran contenido de aceites que en ocasiones es mayor al 20%, radicando también en el tipo de ácidos grasos que posee, siendo estos de un alto grado de insaturación (Quintana, 2005).

De acuerdo a Rodríguez (1982), una muestra de 100 gramos de pulpa de aguacate posee el siguiente contenido de elementos y nutrientes (Tabla 3):

**Tabla 3.** Composición general de aguacate.

<b>Compuesto</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Grasa *	8 A 20
Humedad	78
Proteínas	0.9
Hidratos de Carbono	1.5 a 5
Calcio	0.2
Fósforo	0.4
Hierro	0.005
Tiamina	0.0009
Riboflavina	0.0014
Niacina	0.19
Acido Ascórbico	0.14

\*Según la variedad o tipo.

Fuente: Quintana (2005).

La concentración más sobresaliente es su alto contenido de grasa siendo la porción comestible rica en ácidos grasos: oleico, palmítico, linoleico y linolenico, mientras que el esteárico está presente en pequeñas cantidades. En las Tablas 4 y 5 se muestra la composición aproximada de los ácidos grasos:

**Tabla 4.** Ácidos grasos saturados

Compuesto	%
Palmítico	12.3
Esteárico	0.4
subtotal	12.7

Fuente: Quintana (2005)

**Tabla 5.** Ácidos grasos no saturados

Compuesto	%
Palmitoleico	3.4
Oleico	75.1
Linoleico	8.2
Linolenico	0.4
Araquidonico	0.1
subtotal	87.3

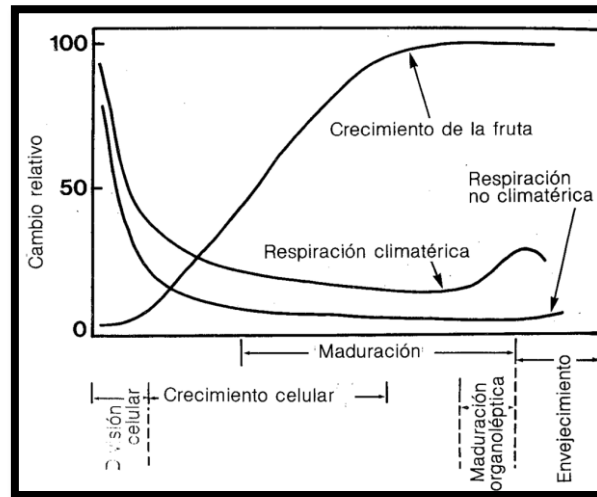
Fuente: Quintana (2005)

#### 1.4.1 Fisiológica y bioquímica del aguacate

Durante el desarrollo y crecimiento del aguacate suceden una serie de cambios que conllevan a la adquisición de las características típica de la variedad en estudio.

La vida de todas las frutas se puede dividir en tres etapas fisiológicas: el crecimiento, la maduración y la senescencia. El crecimiento implica la división celular y el subsiguiente desarrollo de las células que dan cuenta del tamaño final alcanzado por el producto. La maduración fisiológica suele iniciarse antes de que termine el crecimiento e incluye diferentes actividades en los distintos productos. La senescencia se define como una fase en la que los procesos bioquímicos anabólicos dan paso a los catabólicos conduciendo al envejecimiento y finalmente a la muerte tisular (Pluma, 1987).

El aguacate sigue creciendo ligeramente después del corte y la semilla hasta ocupar todo el espacio en la cáscara. Al aguacate se le clasifica como un fruto climatérico debido su respiración, ya que aumenta conforme este madura (Figura 5). En la etapa de maduración organoléptica, la actividad respiratoria aumenta de manera significativa (Wills *et al.*, 1998).



**Figura 5.** Cambios del aguacate en diferentes estados de maduración.  
Fuente: Wills *et al.* (1998)

Hay una relación entre la tasa respiratoria y la duración en la conservación de un producto vegetal. Los tejidos que tienen una tasa respiratoria más baja es posible conservarlos por periodos más largos de tiempo. La tasa respiratoria puede disminuirse por efecto de bajas temperaturas, la concentración de dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), oxígeno ( $\text{O}_2$ ) y etileno ( $\text{C}_2\text{H}_4$ ) que son los factores principales que pueden modificar la oxidación biológica y que amplían la conservación. (Pluma, 1987).

El aguacate tiene un índice de respiración a  $5^\circ\text{C}$  de  $10 \text{ mg CO}_2 \text{ kg /h}$  y a  $25^\circ\text{C}$   $400 \text{ mgCO}_2\text{kg/h}$  a una temperatura de  $5^\circ\text{C}$  dura 2 a 4 semanas.

En la maduración existe una difusividad de los gases en los frutos. Una vez que se alcanzan los umbrales de etileno requeridos se inicia el proceso de maduración, con la elevación de la tasa respiratoria y la producción de  $\text{CO}_2$ . El etileno que se produce en forma natural en el frutos se considera como un regulador del crecimiento, provocando entre otros cambios la biosíntesis de diferentes pigmentos y degradación de la clorofila (Pluma, 1987).

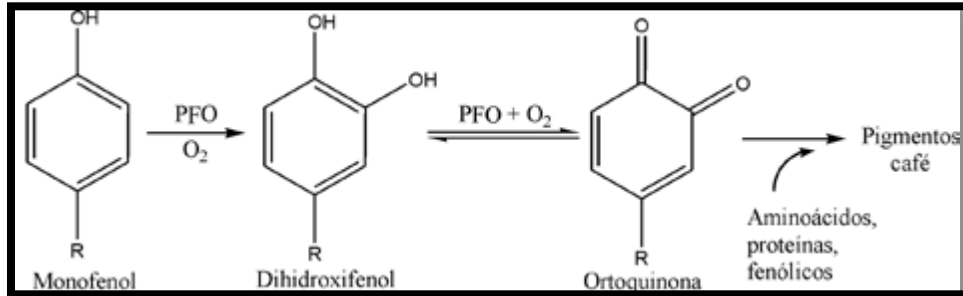
En el aguacate se ha observado ablandamiento asociado al patrón climatérico, ya que al aplicar tratamientos que supriman este comportamiento resulta en un retardo de la maduración. Los cambios de los compuesto pécticos son los responsables del ablandamiento en el mesocarpo. Estos cambios van acompañados de un rápido decrecimiento en la protopectina y un incremento en la pectina soluble en agua. Se ha



demostrado que durante la maduración en el aguacate existe una disminución de la pectinmetilesterasa y un incremento de la poligalacturonasa, que es la responsable en parte del ablandamiento (Pluma, 1987).

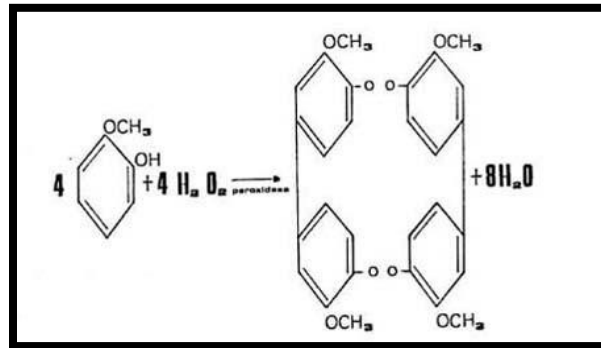
Otro cambio que se da en la maduración es la oxidación de las grasas, que provoca sabores y olores desagradables; el cambio de color pardo se debe a los compuestos fenólicos de uno y dos anillos, la cuales reaccionan con el oxígeno, este cambio de color puede aumentar al tener alguna contaminación fúngica (Biblioteca del Jardí Botánic. (2008). Las enzimas: polifenoloxidasas (PPO) y la peroxidasa (PDO) catalizan la oxidación de fenoles propios de las células a quinonas, las cuales son altamente reactivas con proteínas, ácidos nucleicos, flavonoides y otras quinonas; estas reacciones, además de generar colores pardos, reducen las propiedades sensoriales de textura, color y sabor, disminuyen la calidad nutricional del alimento y desembocan finalmente en la muerte del fruto (Duarte *et al.*, 2005).

Cuando el fruto es cortado se rompe la estructura celular, los fenoles se mezclan con las enzimas y con oxígeno del aire. Las enzimas oxidan a los fenoles formando moléculas que absorben la luz (Figura 6) (Biblioteca del Jardí Botánic, 2008).



**Figura 6.** Acción de PPO sobre los compuestos fenólicos.  
Fuente: Fennema (2000)

La peroxidasa, es una enzima que cataliza la oxidación de ciertos compuestos dadores de hidrógeno, como fenoles (guayacol, pirogalol) y aminas aromáticas (o-fenilendiamina) por medio de peróxidos ( $H_2O_2$ ). El substrato oxidable más usado es el guayacol, que es oxidado a un complejo coloreado de tetraguayacol en presencia de peroxidasa (Figura 7) (López- Munguía, 1987).



**Figura 7.** Estructura de la enzima Peroxidasa (PDO)  
Fuente: López- Munguía (1987)

Esta enzima juega un papel importante dentro de los frutos, pues al activarse, estas reaccionan generando compuestos que modifican el sabor de los vegetales y favorecen el pardeamiento (Burnette, 1977 citado en Tirilly, 2002).

### 1.5 Daños poscosecha en el aguacate

Algunos tipos de daños antes y durante el almacenamiento son los siguientes:

- ⊙ Daños mecánicos: Se generan como resultado del mal manejo poscosecha y pueden identificarse por raspaduras, golpes y por compresión en la misma fruta (Pluma, 1987;). Estos daños aceleran la pérdida de agua e interrumpen el arreglo superficial de los tejidos permitiendo un intercambio de gases más rápido, al cortar la capa protectora (cáscara) de las frutas y exponer el tejido (pulpa) directamente al ambiente, así la capacidad de cicatrizar y de producir sustancias antifúngicas disminuye a medida que el aguacate madura (Klimo, 2006).
- ⊙ Daños por frío: Esto se manifiesta principalmente en la zona del ápice en forma de una mancha de color gris. El daño referido se acentúa en la zona del tejido vascular, observándose como puntos de tonalidad café oscuro. En daños severos aparecen manchas que invaden casi todo el mesocarpo las cuales deben identificarse y diferenciarse de enfermedades como la pudrición del pedúnculo, antracnosis y otras. Por este motivo no es recomendable mantenerlos por debajo de su temperatura crítica pues estos daños ya mencionados pueden hacerse presentes.

Se ha observado que después de una prolongada exposición al frío de especies sensibles se produce una respuesta primaria que es el cambio de estado físico de





los constituyentes de la membrana y como respuesta secundaria cambios como: pérdida en la integridad de la membrana, salida de solutos; pérdida de los compartimientos celulares; estimulación de la producción de etileno; disminución de la velocidad oxidativa de las mitocondrias; incremento en la velocidad de respiración (elevados coeficientes de temperatura); incremento en la energía de activación de las enzimas asociadas a la membrana; cese del flujo protoplasmático; interferencia en la producción y utilización de energía; menor velocidad de fotosíntesis; desorganización de la estructura celular; desbalance y funcionamiento anormal del metabolismo; acumulación de sustancias tóxicas y metabolitos o bien reducción de estos últimos. Si es muy larga la exposición se presentan daños irreversibles como son; decoloración, daño interno, pérdida de capacidad de maduración, marchitamiento y otras (Pluma, 1987).

## 1.6 Plagas y enfermedades del aguacate

En tabla 6 se muestra las 4 plagas cuarentenarias del aguacate, las cuales pueden ser un problema para su exportación. En la tabla 7 se muestra las principales enfermedades que atacan al aguacate, siendo la antracnosis la enfermedad que más problemas ha causado en la exportación, es por ello que en el presente trabajo se propone controlarla y alargar la vida útil del aguacate.

### 1.6.1 Morfología de la antracnosis

La enfermedad aparece en el tejido de las plantas en desarrollo y también cuando están en estado maduro. Las infecciones de las hojas, tallos e inflorescencias jóvenes resultan en lesiones oscuras y hundidas de forma subcircular y angular que se unen destruyendo áreas grandes; cuando las hojas se ven severamente afectadas presentan enrollamiento así cuando el hongo ataca los frutos ocasionan dos tipos de enfermedades la primera en precosecha y se manifiesta como lesiones necróticas, húmedas y hundidas produciéndose masas conidiales que infectan otros tejidos. La segunda afecta a frutos maduros durante el almacenamiento (Aguirre, 2008).

*C. gloeosporioides* es un patógeno de poscosecha que infecta principalmente frutos pequeños durante su crecimiento en los huertos. El hongo produce un apresorio que penetra el fruto degradando la cutícula y produciendo una hifa subcuticular latente que no se desarrolla hasta que el fruto madura. Los cambios fisiológicos en el fruto permiten la



activación del patógeno quiescente y se manifiesta con la presencia de manchas circulares café oscuras en el pericarpio y daños por ablandamiento y pudrición de la pulpa o mesocarpo (Rodríguez-López *et al.*, 2008).

### 1.6.2 Clasificación

La identificación de las especies del género *colletotrichum* se basan principalmente en la morfología, el rango y especialización de los hospedantes (Tabla 8). De esta manera, se han descrito 38 especies, ocho de las cuales poseen un estado sexual *Colletotrichum spp.* Infecta diversas especies de manera individual o en asociación *C. gloeosporioides*, el hongo *colletotrichum* que afecta al aguacate es el siguiente (Rodríguez-López *et al.*, 2008):

### 1.6.3 Síntesis

La infección inicia después del reconocimiento de alcoholes grasos y ceras en la superficie del fruto y más tarde los genes del hongo CgMEKx CgMEK1 se fosforilan, dichos genes están involucrados en la diferenciación y germinación de conidios así como en la formación del apresorio.

Además, los conidios secretan las proteínas CHIP2 y CHIP3 mismas que se relacionan con el contacto a la superficie del fruto. La activación del gen cap20 ayuda al apresorio a desarrollarse después que se producen las hifas infectivas, para proveer de presión y secretar enzimas degradadoras de la pared celular (Rodríguez-López *et al.*, 2008).

Los cambios en el pH del hospedante activan al gen pac1 que induce la expresión del gen pelB y entonces se producen las enzimas poligalacturonasa y pectato-liasa. Los frutos de aguacate producen dieno y especies de oxígeno reactivas. Dichos compuestos provocan la quiescencia del hongo hasta que sus niveles disminuyen y el fruto madura. El proceso infectivo biotrófico produce la secreción de la proteína CIH1 y la etapa necrotrófica involucra las proteínas CLTA1 y CgDN3 mismas que se relacionan con la necrosis de tejidos en una etapa posterior (Rodríguez-López *et al.*, 2008).





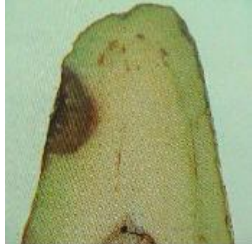
**Tabla 6.** Plagas cuarentenarias del aguacate

Plaga	Síntomas
 <p>Barrenador de ramas (<i>Copturus aguacatae</i>)</p>	<p>Debilita las ramas ya que las perfora, lo que provoca su rompimiento y que la flor caiga y/o que los frutos no lleguen a su madurez.</p>
 <p>Barrenador pequeño del hueso (<i>Conotrachelus perseae</i> y <i>C. aguacatae</i>)</p>	<p>Son insectos que atacan directamente al fruto durante su desarrollo, las larvas de estas especies perforan el fruto, lo barrenan y se alimentan de la semilla o “hueso” hasta destruirlo provocando su caída.</p>
 <p>Barrenador grande del hueso (<i>Heilipus lauri</i>)</p>	<p>Este insecto daña tanto a la pulpa como al hueso sin destruirlo completamente, provocando que los frutos se caigan prematuramente. Cuando no se aplican métodos de control, pueden ocasionar pérdidas de hasta el 90% de la producción.</p>
 <p>Palomilla barrenadora del hueso (<i>Stenoma catenifer</i>)</p>	<p>Es una palomilla que no se ha reportado en nuestro país. Ataca los frutos cuajados, provocando su caída.</p>

Fuente: SENASICA (2009).



**Tabla 7.** Principales enfermedades en aguacate

Enfermedad	Síntoma
 <p>Sarna o roña causada por el hongo <i>sphaceloma</i></p>	<p>Son manchas en el exocarpo, al principio realzadas y de color oscuro. En las hojas jóvenes y brotes tiernos, se observan diminutas lesiones de color café oscuro.</p>
 <p>Pudrición de pedúnculo causado por varios agentes destacando el <i>diplodia sp.</i></p>	<p>Es una enfermedad que se observa durante el almacenamiento. Se intensifica con humedades relativas excesivas. Se presenta con manchas negras en el pedúnculo.</p>
 <p>Antracnosis o mancha negra producida por el hongo <i>colletotrichum gloeosporioides</i></p>	<p>Es una enfermedad fungosa reconocida por la aparición de manchas oscuras en hojas, flores, pedúnculos y pulpa. Este hongo es el agente causal de la antracnosis del aguacatero (<i>Persea americana</i>) enfermedad que ocasiona pérdidas cercanas al 20% de la producción.</p>

Fuente: Aguirre (2008); Tamayo (2007); Rodriguez-Lopez *et al.* (2008).



**Tabla 8.** Clasificación del *colletotrichum*

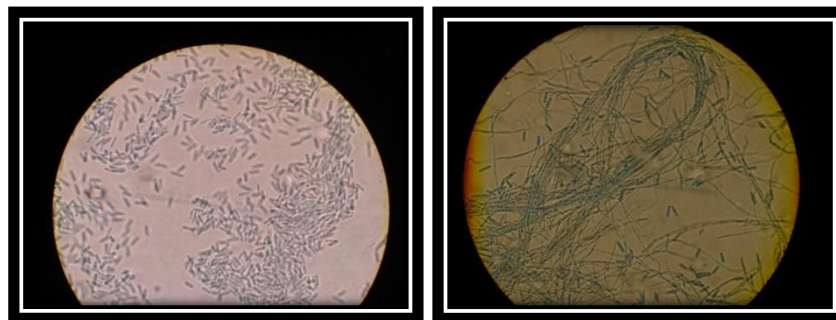
<b>REINO</b>	FUNGI <i>phylum Ascomycota</i>
<b>CLASE</b>	<i>Sordariomycetes</i>
<b>SUBCLASE</b>	<i>Sordariomycetes incertae sedis</i>
<b>ORDEN</b>	<i>Phyllachorales</i>
<b>FAMILIA</b>	<i>Phyllachoraceae</i>
<b>GENERO</b>	<i>Glomerella</i>
<b>ESPECIE</b>	<i>Glomerella cingulata</i>

Fuente: Rodríguez-López *et al.* (2008)

#### 1.6.4 Etiología y epidemiología de la antracnosis del aguacatero.

El *C. gloeosporioides* es un hongo de distribución cosmopolita y con predominancia en los trópicos y subtrópicos. Este hongo muestra un crecimiento lento *in vitro*, las colonias presentan coloraciones de gris claro a gris oscuro, sin embargo, en agar avena el micelio es blanco, poco algodónoso y posee masas conidiales de color naranja, en papa-dextrosa agar, agar agua y agar avena pueden observarse la formación de apresorios.

El hongo posee hifas septadas y produce apresorios clavados, ovalados, algunas veces lobulados, melanizados de color café cuyas dimensiones varían de 4 a 12  $\mu\text{m}$  de longitud. Los conidios son variables en tamaño, de forma cilíndrica y obtusos, con medidas de 9 a 24  $\mu\text{m}$  de largo y 3 a 4.5  $\mu\text{m}$  de ancho (Figura 9). La esporulación de *C. gloeosporioides* se ve favorecida cuando se cultiva en medio líquido a 25°C bajo agitación constante (Rodríguez-López *et al.*, 2008).



**Figura 8.** Estructura microscópica del hongo *C. gloeosporioides*.



### 1.6.5 Condiciones favorables

El patógeno puede penetrar directamente si el fruto tiene alguna lesión. El hongo puede infectar entre los 20 y 28°C, pero su temperatura óptima de crecimiento es de  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  en ambientes con humedad relativa de 80 a 100%. El pH óptimo de crecimiento del hongo es de 5.5 a 7 (Rodríguez-López *et al.*, 2008).

Cuando ataca frutos en desarrollo se le conoce como “viruela” y al inicio se observan manchas circulares translúcidas redondas, que posteriormente cambian a café oscuro y pueden ser numerosas; cuando infecta frutos maduros se le conoce como “clavo”, mostrando la presencia de lesiones negras hundidas, circulares o irregulares y masas de esporas color rosado; en las hojas se manifiesta como manchas de color café con un halo clorótico y puede provocar defoliación si la incidencia es alta; en las flores aparece como tizón y provoca la caída o aborto de fruto; en las ramas se observan manchas circulares color café o púrpura que rápidamente se necrosan. En el campo la temperatura para la germinación de la espora del hongo es de 22 y 32 °C con óptima de 25° C , las esporas presentes en las ramillas o en el suelo son viables después de dos años , en ramas superiores después de 19 meses y en hojas caídas después de 14 meses (Rodríguez-López *et al.*, 2008).

### 1.6.6 Medio de infección

Fijación de los conidios en la superficie. Los conidios de *C. gloeosporioides* se producen dentro de acérvulos, mismos que son la fuente principal de inóculo para el desarrollo y diseminación de la enfermedad, su dispersión puede ser por aire o salpicaduras de lluvia; lo cual indica que hay separación del patógeno por impacto de las gotas y transporte de las esporas siendo estos dos aspectos esenciales para los procesos físicos en el ciclo de la enfermedad. Un aspecto importante sería la dispersión de la espora mediante insectos que transportan la espora de frutos esporulados que se encuentran en el árbol o en el suelo (Rodríguez-López *et al.*, 2008)

Al dispersarse los conidios se adhieren al hospedero por medio de una capa mucilaginoso compuesta de polisacáridos y glucoproteínas presente en el acérvulo, las manoproteínas son las responsables de la hidrofobicidad en la superficie celular y controlan la adhesión de este patógeno al hospedero (Rodríguez-López *et al.*, 2008).





Una vez que el conidio de *C. gloeosporioides* se encuentra en la superficie, éste responde a las ceras epiculares del hospedante y al etileno, coincidiendo con la maduración del fruto; para tal efecto la señal del hospedante es el incremento en la producción de etileno en concentraciones internas cercanas a  $0.2 \mu\text{l l}^{-1}$ , requiriendo el contacto del conidio con la superficie por un período de 2 horas necesarias para inducir la germinación y formación del apresorio. Ruiz-Herrera (1993), describió que los procesos morfogénicos o de diferenciación celular como la germinación de las esporas, pueden dividirse en cuatro etapas generales: Recepción del estímulo, transducción de la señal al núcleo, cambio en la expresión génica y finalmente, cambio en el fenotipo, forma o función, de la célula (citado en Rodríguez-López *et al.*, 2008).

### 1.7 Tipos de tratamiento poscosecha

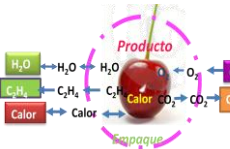
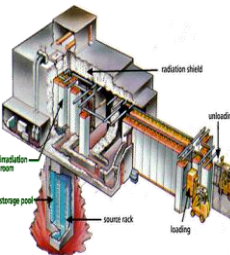

Para extender la vida de anaquel y controlar los desórdenes fisiológicos o infecciones presentes en el aguacate se utilizan una serie de métodos físicos y químicos (Tabla 9):

**Tabla 9.** Principales métodos de conservación en poscosecha del aguacate

Método	Principio	Efectos
 <p><b>Refrigeración</b></p>	<p>Remoción de calor de una sustancia para llevarla a mantenerla a una temperatura conveniente baja, inferior a la temperatura del ambiente. Reduce la velocidad de respiración, la producción de etileno, el proceso de maduración, la senescencia y otros cambios conducentes al deterioro de la calidad en los productos hortícolas: el crecimiento microbiano y, por tanto, el desarrollo de enfermedades y deterioro del producto.</p>	<p>En aguacate 'Fuerte' y 'Hass' al ser almacenados a bajas temperaturas 0, 2 y 3 °C sufren daños por frío después de los 8 días, ocasionando manchas y ablandamiento de la pulpa, a temperaturas de 5-7°C no se sufre ningún daño de este tipo, es uno de los más utilizados y el más efectivo para disminuir su maduración y mantener su vida útil.</p>
 <p><b>Atmósferas controladas (AC).</b></p>	<p>Los tres factores abióticos de la conservación más importante son: las bajas temperaturas, los bajos contenidos de O<sub>2</sub> y los altos contenidos en CO<sub>2</sub>, si estos ocurren en un ambiente cerrado el oxígeno se irá reduciendo y el anhídrido carbónico aumenta; creando una atmosfera favorable para una larga conservación. La concentración de oxígeno debe reducirse por debajo del 10%, para lograr un cierto descenso de la actividad respiratoria.</p>	<p>En aguacate 'Hass' se ha utilizado este tipo de almacenamiento con bajas temperaturas de <math>6 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}</math> y 1-metilciclopropeno (1-MCP), donde se retrasó. Aplicando CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub> se mantiene constante el color del mesocarpio, endocarpio, el contenido de aceite y porcentaje de humedad del aguacate disminuyó la velocidad de respiración, producción de etileno, maduración y senescencia de los productos</p>



**Tabla 9.** Principales métodos de conservación en poscosecha del aguacate (continuación)

Método	Principio	Efecto
 <p><b>Uso de películas microbianas</b></p>	<p>Evita el ataque del microorganismo y las pérdidas de agua. Las películas comestibles hechas a base de polisacáridos, proteínas, ceras y plastificantes ayudan también a un aporte nutritivo o a evitar su rápido deterioro del fruto.</p>	<p>Controlar diversas enfermedades fúngicas e incrementa de la vida de anaquel, la calidad física y química del fruto.</p>
 <p><b>Atmósferas modificadas (AM)</b></p>	<p>Creación de un microambiente alrededor del fruto u hortaliza. El microambiente creado debe disminuir la concentración de O<sub>2</sub> disponible, para que el fruto lleve a cabo sus reacciones metabólicas, aumentando con esto la concentración de CO<sub>2</sub> y por lo tanto disminuye la velocidad de respiración. Estas incluyen ceras y otros revestimientos de superficies, coberturas plásticas con ventanas de difusión limitada de CO<sub>2</sub> antes del sellado para establecer una A.M. rápidamente.</p>	<p>Diversos estudios han demostrado que los recubrimientos y películas comestibles ayudan a conservar los frutos de aguacate, disminuyen la velocidad de respiración y prolongan la vida útil.</p>
 <p><b>Irradiación</b></p>	<p>Propagación de energía suficiente para ionizar la materia, esto quiere decir que la radiación ionizante produce iones y extrae los electrones del estado llegado al átomo. La no-ionizante que son radiaciones de luz con longitudes de onda entre los 100nm. Causan la inducción de resistencia a enfermedades de poscosecha con distintos productos hortícolas. Estos tratamientos promueven la síntesis de litoalexinas específica que protegen al fruto de patógenos.</p>	<p>En aguacate 'Hass' se aplicó rayos gamma (100 y 150 gray), aumentó su respiración, perdió firmeza, el color de la pulpa cambió y aumentó su actividad enzimática, esto atribuido a que la irradiación alteró el metabolismo del aguacate. En cambio al aplicarle irradiación UV-C para el control de antracnosis, con exposiciones menores de 40 minutos, evitaron el perdimiento de la pulpa, redujo la antracnosis, disminuyó la pérdida de peso, aumentando la vida útil del aguacate.</p>
 <p><b>Tratamientos químicos</b></p>	<p>Sustancias químicas para retrasar o acelerar la maduración para reducir pérdidas y para mejorar mantener el color y la calidad de las frutas.</p>	<p>Diversos estudios se han realizado con fungicidas químicos y naturales, observando que asemejan su efectividad, lo cual podrían ser sustituidas algunas de estas sustancias químicas por naturales.</p>

Fuente: Acevedo (1986); Aguilar (2005); Arévalo *et al.* (2002); Corrales *et al.* (1999); González- Aguilar, *et al.* (1997); Miranda *et al.* (2003); Mondaca (2003); Osuna *et al.*, (2005); Reyes (1996); Rivas (2008); Rojas *et al.* (2009); Salvador *et al.* (1999); Undurraga *et al.* (2003); Zauberman *et al.* (1985).





### 1.7.1 Cera de candelilla

La cera de candelilla se obtiene de la planta silvestre *Euphorbia cerífera*, la cual pertenece a la familia de las Euforbiáceas. La planta crece normalmente en zonas de clima semi-desértico y presenta un aspecto similar al de los cactus, de quienes se diferencian con claridad por el látex lechoso que contiene la planta de Candelilla.

La planta de candelilla se desarrolla casi exclusivamente en una región semi-desértica de Norteamérica, conocida como “El Desierto de Chihuahua”.

Esta es una sustancia 100% natural, dura, quebradiza y fácil de pulverizar. Su color puede variar desde café claro hasta amarillo, dependiendo del grado de refinación y blanqueo. Su superficie puede alcanzar altos niveles de brillo, siendo ésta una de las propiedades más apreciadas en diversas aplicaciones de especialidad.

La mayoría de los constituyentes de la cera son componentes naturales que se encuentran en los vegetales y en las frutas. Su composición química se caracteriza por un alto contenido de hidrocarburos (alrededor del 50%) y una cantidad relativamente baja de ésteres volátiles. Su contenido de resina puede llegar hasta 40% en peso, lo cual contribuye a sus propiedades adhesivas. Puede endurecer otras ceras sin aumentar significativamente el punto de fusión de la mezcla. Es reconocida por la Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos (FDA), como una sustancia natural segura-GRAS, Generally Recognized As Safe- para su aplicación en la industria alimenticia, por lo cual es ampliamente utilizada en diversos sectores del ramo (Multiceras, 2010)

#### 1.7.1.1 Usos de la cera de candelilla

La cera de candelilla presenta una gran diversidad de aplicaciones, siendo actualmente utilizada en más de 20 industrias distintas en todo el mundo, principalmente en la Unión Europea, Estados Unidos y Japón (Figura 9). Sus propiedades distintivas le confieren la categoría de material esencial para la fabricación de cosméticos, tintas, adhesivos, recubrimientos, emulsiones, pulimentos y productos farmacéuticos (Meza, 2006).



a)



b)

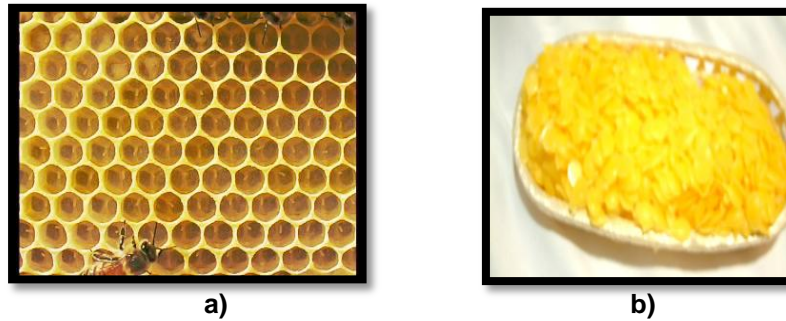
**Figura 9.** a) Planta de la cual se extrae el cerote, sustancia que se refina para obtener la cera de candelilla y b) cera de candelilla refinada lista para las diversas aplicaciones industriales.

### 1.7.2 Cera de abeja

La cera es el material que las abejas usan para construir sus nidos. Es producida por las abejas melíferas jóvenes que la segregan como líquido a través de sus glándulas cereras. Al contacto con el aire se endurece y forma pequeñas escamillas en la parte inferior de la abeja. Es producida por todas las especies de abejas melíferas, aunque las producidas por diferentes especies de abejas tienen propiedades químicas y físicas levemente diferentes (FAO, 2005).

#### 1.7.2.1 Composición

Las fases de este proceso son: las abejas comen miel y en el intestino se absorben las moléculas de los azúcares (de 6 carbonos), de allí pasan al interior de su cuerpo, donde son transformados en fragmentos pequeños (de 2 carbonos). Luego, en las glándulas cereras, se recombinan de diferente manera para formar por un lado los ácidos grasos y los hidrocarburos (de entre 14 y 41 carbonos), y por otro los ésteres y los alcoholes de la cera (de entre 28 y 54 carbonos). La cera virgen, inmediatamente después de ser secretada, elaborada y formada es color blanca. A lo largo del tiempo de utilizada en los panales va adquiriendo un color más oscuro debido a la incorporación de polen, propóleos, mudas y restos anatómicos (Figura 10). Su punto de fusión está en un rango de 61-66°C, o 62-65°C. La densidad relativa a 15°C es 0.958-0.970 g/cm<sup>3</sup>. La cera es un material inerte con alta plasticidad a temperatura relativamente baja (alrededor de 32°C) (FAO, 2005).



**Figura 10.** a).Panal formado por las abejas a través de sus glándulas cereras, estos son utilizados para conservar la miel, el polen, sus huevos y para la extracción de la cera b) cera de abeja refinada lista para diversas aplicaciones industriales.

### 1.7.2.2 Usos de la cera de abeja

Los principales usos de la cera de abeja son (FAO, 2005):

- Cosmético y Farmacéutico: entra en la composición de pomadas y cremas, como base grasa y como espesante.
- Impermeabilización y protección: para recubrir cordones de costura en zapatería, cartonajes.
- En la fabricación de betunes y cremas de zapatos.
- Para proteger recipientes del ataque de los ácidos de los zumos de frutas y de otros agentes corrosivos.
- Para encapsular componentes eléctricos y electrónicos.
- Otros: en la preparación de tejidos pintados, "batik"; de barnices y pulimentos; en imprenta en la preparación de grabados).

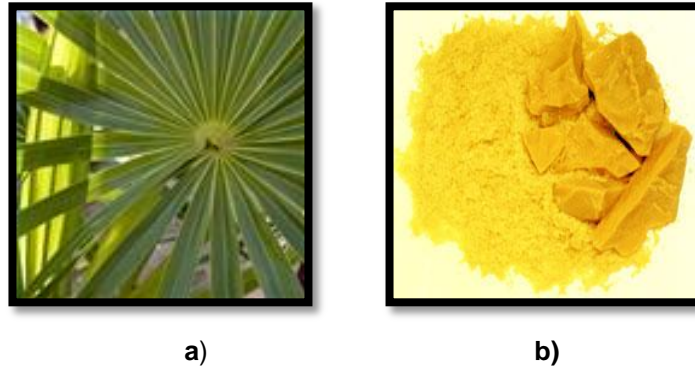
### 1.7.3 Cera de carnauba

La cera de carnauba se obtiene de las hojas de un árbol de palma conocido como *Copernicia cerifera* que también está llamado el "Árbol de Vida". Esta palma de Carnauba de lento-crecimiento florece en las regiones nororientales del Brasil, alcanzando una altura de 25-35 pies y crece a lo largo de los ríos, arroyos y tierras de bajas. (Strahl & Pitsch, 2010)

La cera de carnauba es reconocida por sus propiedades de brillo. Combina dureza con resistencia al desgaste y es compatible con muchos otros tipos de cera. Dependiendo de



la sección de la hoja de donde se extrae la cera y de la edad de la planta, se pueden obtener cuatro tipos distintos de Cera de Carnauba (Figura11) (Multiceras, 2010).



**Figura 11.** a) Hoja donde se extrae la cera de carnauba. Estas hojas son secadas al sol y posteriormente es removida de las hojas la cera cruda. b) cera de carnauba refinada lista para diversas aplicaciones industriales.

#### 1.7.3.1 Composición.

La cera de carnauba contiene principalmente ésteres de ácidos grasos 80-85 %, alcoholes grasos 10 a 15%, ácidos 3 a 6% e hidrocarbónos 1 a 3 %. La cera de carnauba tiene dioles esterificados grasos (cerca de 20%), ácido hidroxilados cerca del 6 % y ácidos cinámico cerca de 10%. El ácido cinámico, es un antioxidante, puede ser hidroxilado y metoxilado (Multiceras, 2010).

#### 1.7.3.2 Usos de la cera de Carnauba

Los usos de la cera de carnauba son diversos, desde aplicaciones alimenticias, hasta productos para obtener brillo como betunes y grasas para calzado, así como ceras para suelos y automóviles, y en la industria estética cremas e indispensables en la elaboración de ceras al agua o emulsificadas, para el encerado de frutas como manzanas, cítricos, pepinos plátanos etc. en los tratamientos de poscosecha (Multiceras, 2010).

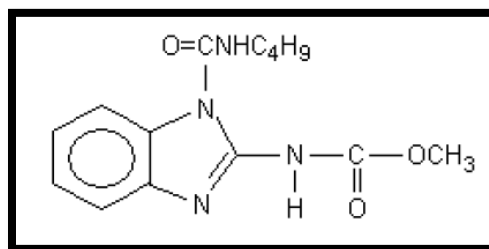
#### 1.7.4 Fungicida químico utilizado en el control de antracnosis.

Diversos estudios se han realizado en frutos con diferentes fungicidas químicos para el control de la antracnosis y alguno de ellos han presentado resistencia, entre los cuales destacan: el procloraz y amazilil que controlan a *Colletotrichum gloeosporioides* y



*Colletotrichum acutatum*, estos se utilizan principalmente en Centro y Sudamérica, azoxystrobin que es una nueva clase química pero que ha generado rápidamente resistencia y se ha utilizado principalmente para enfermedades en cítricos (Zavala *et al.*, 2005, Gutiérrez *et al.*, 2004), tiabendazol y benomilo el cual ha sido el más empleado para el control de esta enfermedad y que ha sido autorizado por la Unión Europea (RAP-AL, 2008).

El benomilo es un fungicida foliar sistémico de la familia de los benzimidazole, selectivamente tóxico para los microorganismos y los invertebrados, en especial para los gusanos de tierra. La existencia del fungicida benomil (benomyl o benomilo) se informó por primera vez en 1968 y al año siguiente fue registrado en Estados Unidos. En 1971 fue introducido en el mercado del Reino Unido y otros países. Su nombre químico (IUPAC) es metil 1 (butilcarbamoil) 2 benzimidazol carbamato y su fórmula molecular:  $C_{14}H_{20}N_4O_3$ . La fórmula estructural del benomil se muestra en la figura 12.



**Figura 12.** Estructura química del benomilo  
Fuente: RAP-AL, (2008)

#### 1.7.4.1 Mecanismo de acción.

Este fungicida y su principal metabolito, carbendazim, se unen a los microtúbulos (estructura importante de todas las células) y por eso interfieren en algunas funciones celulares, como la división de las células y los mecanismos de transporte intracelulares. La toxicidad selectiva del benomil como fungicida posiblemente se debe al aumento de su efecto en los hongos más que al efecto que tiene en los microtúbulos de los mamíferos (RAP-AL, 2008).



#### 1.7.4.2 Toxicidad.

El benomil posee baja toxicidad aguda en los mamíferos. En ratas, se fijó una dosis letal  $(LD)_{50}$  que es “mayor a 10.000 mg/kg/día”,  $LD_{50}$  oral de 5.000 y dermal de 2.000. La Organización Mundial de la Salud (OMS) lo clasificó en el grupo U, “improbable que presente riesgo agudo si se usa en forma normal” (RAP-AL, 2008).

Sin embargo, afecta el sistema nervioso central y la exposición puede provocar irritación y alergias en la piel de las personas. También produce enrojecimiento e irritación en los ojos, que puede variar de suave a moderada.

Los síntomas principales por inhalación son: calambres abdominales, pesadez, salivación, sudoración, náusea y vómitos. Por ingestión, produce náuseas y vómitos.

La toxicidad crónica se ha observado en diversos estudios en ratas, los efectos mutagénicos, teratogénicos, reproductivos y cancerígenos. La EPA lo clasifica como teratogénico, con evidencias de malformaciones congénitas en los ojos y el cerebro, y aumento de mortalidad infantil.

Además, destaca sus efectos reproductivos (testiculares) y la formación de tumores. Según la Ficha Internacional de Seguridad Química, el contacto prolongado o repetido con la piel puede producir sensibilización extrema y dermatitis (RAP-AL, 2008).

#### 1.8 Aceites esenciales utilizados como antifúngicos

Los aceites esenciales o extractos de vegetales con actividad antifúngica son compuestos aromáticos producidos por varios géneros de plantas que poseen actividad biológica que contienen compuestos que son sintetizados por las plantas como mecanismo de defensa contra algunos microorganismos (Ronquillo, 2007).

Por este motivo cabe señalar que los aceites esenciales están adquiriendo gran importancia, pues se ha reportado un efecto en el control de contaminaciones microbianas en diferentes tipos de alimentos: pan, carne, queso y frutas y hortalizas frescas (Martínez-Romero *et al.*, 2005).



Los aceites esenciales son considerados metabolitos secundarios producidos en alguna parte de la planta (hojas, flores, cáscaras, etc.), que pueden contener, dependiendo de la parte y tipo de planta utilizada, algunos de los siguientes compuestos: monoterpenos,  $\alpha$ -pineno, limoneno y timol, entre muchos otros; su mecanismo de acción se asocia con la capacidad de interactuar con el citoplasma de la membrana de los patógenos, su modo de acción parece estar estrechamente relacionada con la solubilidad de cada compuesto.

Los compuestos volátiles de plantas pueden inhibir o estimular el crecimiento del hongo y/o la formación y germinación de las esporas (Ronquillo, 2007).

Los aceites esenciales son una mezcla de componentes volátiles, producto del metabolismo secundario de las plantas. Las esencias son mezclas complejas en cuya composición se encuentran los hidrocarburos como terpenos con fórmula  $(C_5H_8)_n$ , (monoterpenos,  $n=2$ ; sesquiterpenos,  $n=3$ ; diterpenos,  $n=4$ ; etc.) junto con otros compuestos casi siempre oxigenados (alcoholes, éteres, ésteres, aldehídos y compuestos fenólicos) y que son los responsables del aroma que caracteriza a los aceites esenciales (Ronquillo, 2007).

Debido a su apariencia física y consistencia que es bastante parecida a los aceites grasos se les llama aceite, pero se distinguen de ellos, porque al dejar caer unas gotas de esencia sobre el papel, éstas se volatilizan fácilmente sin dejar ninguna huella ni mancha grasosa.

Los aceites esenciales se encuentran muy difundidos en el reino vegetal, se pueden localizar en diferentes partes de la planta, por ejemplo: en las hojas (albahaca, mejorana, menta, romero, salvia, etc.), en las raíces (cálamo, valeriana, etc.), en la corteza (canela, cedro, sándalo, etc.), en las flores (jazmín, rosa, etc.), en la cáscara del fruto (limón, mandarina, naranja, etc.), en los frutos (anís, cardamomo, eneldo, hinojo, etc.). La cantidad y composición del aceite varía de una especie a otra, y dentro de los mismos géneros de la planta (Ronquillo, 2007).

### **1.8.1 Mecanismo de acción**

El grado de inhibición de los aceites puede atribuirse a la presencia de un núcleo aromático que contiene un grupo funcional polar. Aunque se piensa que también están



involucrados otros factores como el balance hidrofílico/lipofílico; por ejemplo, los grupos fenólicos-OH que son muy reactivos y pueden fácilmente formar enlaces de hidrógeno con los sitios activos de las enzimas (García, *et al.*, 2006).

El principal compuesto fenólico que se ha encontrado en el aceite esencial de tomillo y canela es el Carvacrol (García *et al.*, 2006), el cual puede penetrar la membrana del citoplasma, causando una desestabilización y, además, podría actuar como intercambiador de protones, reduciendo el gradiente de pH a lo largo de la membrana. Se ha observado que los compuestos fenólicos más apolares (diterpenoides fenólicos) aparentemente eran responsables de la actividad antimicrobial de un extracto de romero (Ronquillo, 2007) así como en el tomillo el compuesto mayoritario es el timol, que ha sido un compuesto que se utiliza como desinfectante en la industria. Por otro lado se ha hallado que en el aceite esencial de limoncillo el compuesto mayoritario es el citral, la cual se ha asociado su propiedad antifúngica con la presencia de citral y sus isómeros, geranial (trans- citral, llamado citral A) y netral (cis-citral, llamado citral B) utilizado en la industria para desinfectantes domésticos (Alzate *et al.*, 2008).





## 2. OBJETIVOS

### General

Estudiar el efecto de recubrimientos formulados a base de ceras adicionados con compuestos naturales y químicos para el control de antracnosis y el aumento de la vida útil del aguacate variedad 'Hass'.

### Particular 1

Determinar la concentración (10, 15 y 20  $\mu$ l de aceite esencial /ml de agua) de aceite esencial de limón que permita inhibir el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporoides*, mediante una prueba *in vitro*.

### Particular 2

Determinar la concentración (4 y 10 mg de fungicida/litros de agua) de fungicida que permita inhibir el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporoides*, mediante una prueba *in vitro*.

### Particular 3

Establecer la formulación de los recubrimientos a base de ceras (candelilla, carnauba y abeja) y aceite esencial de limón y fungicida, que presente buenas propiedades físicas para su aplicación y que controle la antracnosis en aguacate.

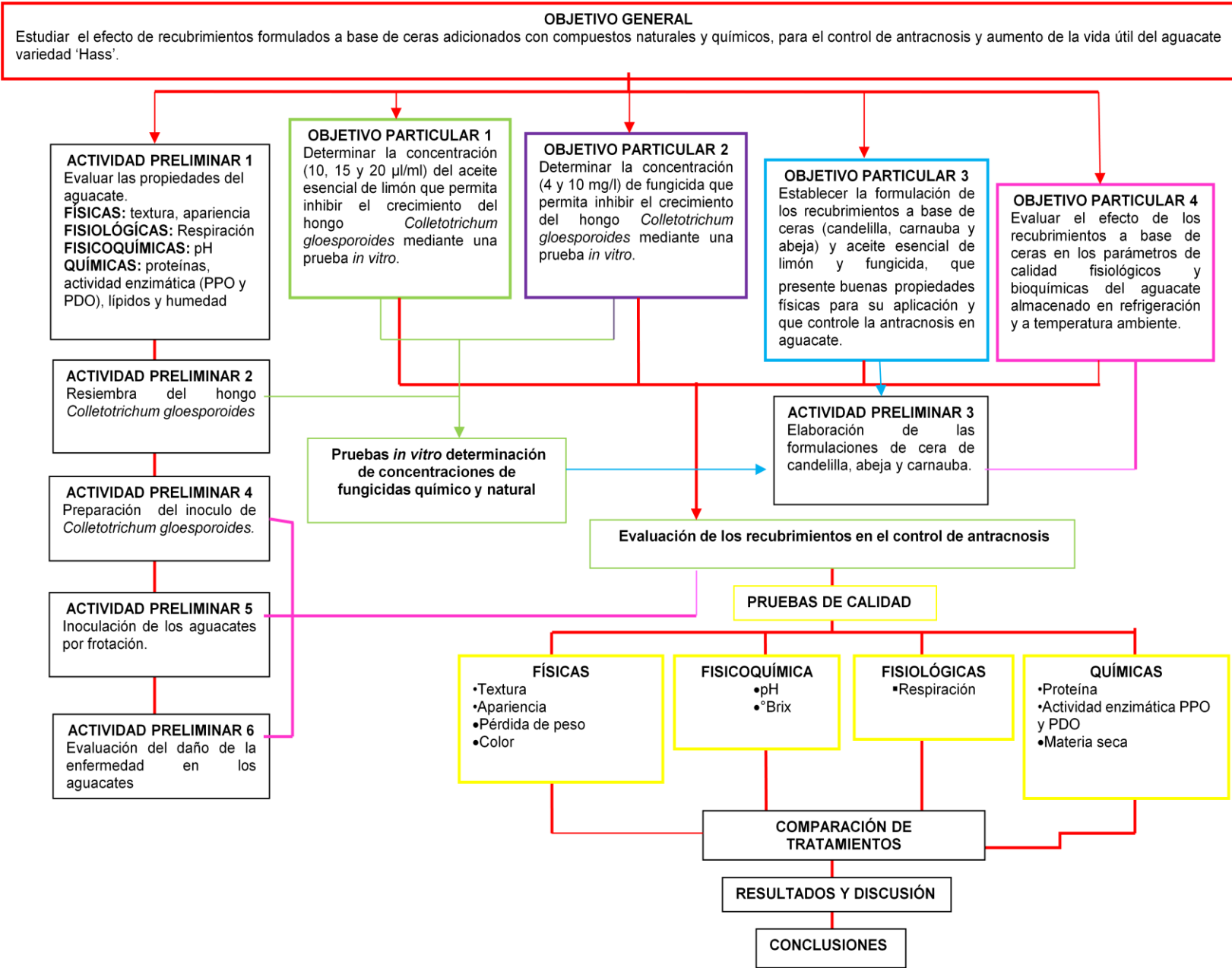
### Particular 4

Evaluar el efecto de los recubrimientos a base de ceras, en los parámetros de calidad fisiológicos y bioquímicas del aguacate almacenado en refrigeración y a temperatura ambiente.



3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Cuadro metodológico





### **3.2 Material biológico**

Los aguacates utilizados en la experimentación fueron de la variedad 'Hass' adquiridos en la Central de Abastos de la Ciudad de México en estado de madurez fisiológico, transportados por vía terrestre en cajas de cartón procedentes del estado de Michoacán.

### **3.3 Tratamiento de la muestras**

Los frutos se lavaron con agua para eliminar la suciedad, se desinfectaron con una solución de cloro al 3% y se secaron con aire, posteriormente se enumeraron y se acomodaron al azar en 6 lotes de 23 aguacates.

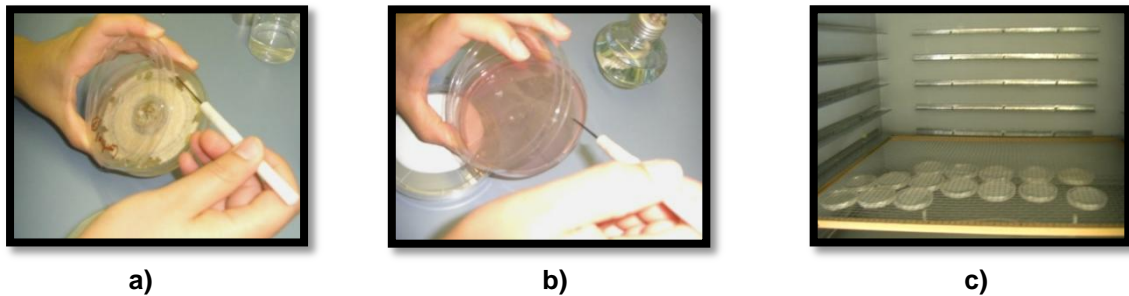
### **3.4 Caracterización química y fisicoquímica del aguacate**

Para la evaluación de las características físicas, químicas y fisiológicas del fruto de aguacate, se utilizaron frutos con madurez comercial. Los parámetros que se evaluaron fueron: parámetros de calidad (pH, textura, color), propiedades químicas (proteína, grasa, humedad, fibra, cenizas totales), parámetros bioquímicos (actividad enzimática PPO y PDO) y fisiológicas (producción de % CO<sub>2</sub>) de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 3.8.

### **3.5 Efecto de recubrimientos a base de ceras en el control de antracnosis.**

#### **3.5.1 Resiembra del hongo *Colletotrichum gloesporoides***

La cepa utilizada fue previamente aislada, purificada e identificada en el Laboratorio de Poscosecha de Productos Vegetales; la resiembra se realizó en Agar Papa Dextrosa (PDA), se sembraron en 3 puntos equidistantes en una caja petri. Estas se incubaron por 7 días a temperatura ambiente en fotoperíodo para ayudar al crecimiento y esporulación del hongo se muestra en la figura 13.



**Figura 13.** a) Cepa del hongo *Colletotrichum gloesporoides* b) siembra del hongo  
c) incubación del hongo

### 3.5.2 Pruebas *in vitro* para establecer el efecto antifúngica de aceites esenciales

Para evaluar las propiedades antifúngicos del aceite esencial de limón y del fungicida químico benomilo se realizaron pruebas *in vitro* basados en el método de Mendoza *et al.* (2007) con ligeras modificaciones. La metodología fue la siguiente:

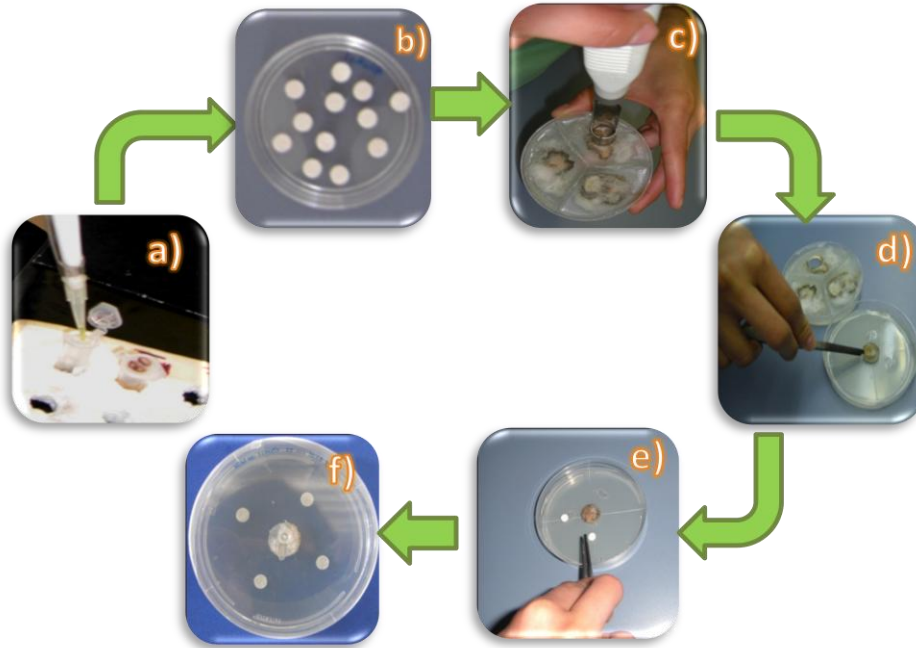
1. Las cajas Petri se prepararon con agar papa dextrosa (PDA) y se marcaron con una distancia de 2 cm del centro hacia afuera en 4 puntos equidistantes. Posteriormente se colocaron en un vaso de precipitados microtubos (marca eppendorf) para su esterilización y en papel aluminio discos de papel de 0.5cm de diámetro.
2. En los microtubos se hicieron diluciones para obtener las concentraciones deseadas de aceite esencial de limón (10, 15 y 20  $\mu\text{l}$  /ml) y el fungicida benomilo (4 y 10 mg/l).
3. Con un sacabocado previamente esterilizado, se extrajeron discos de 1 cm de diámetro de la resiembra (apartado 3.5.1) y se colocó en el centro de las cajas Petri. Los discos de papel filtro se adicionaron con 25  $\mu\text{l}$  /ml de aceite esencial de limón y fungicida en las diferentes concentraciones mencionadas anteriormente; a los controles se les agregó agua estéril y alcohol dejándose secar por 1 minuto. Una vez transcurrido el tiempo, con la ayuda de unas pinzas se colocaron los discos de papel en los 4 puntos marcados, ya colocados se sellaron para evitar su contaminación.

Para cada concentración se realizaron tres repeticiones, se incubaron a temperatura de 25°C durante 7 días en foto periodo (12 horas de luz blanca y 12 horas de luz negra). La velocidad de crecimiento se evaluó cada 24 horas con la ayuda de un vernier, en la cual



se midió el crecimiento en cm, desde el inicio del disco de la cepa hasta el punto de crecimiento del hongo (García *et al.* 2006).

En la figura 14, se muestra la metodología que se llevó a cabo para las pruebas *in vitro* para determinar las concentraciones del aceite esencial de limón y benomilo que presentará mayor efecto en la inhibición del crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporoides*.



**Figura 14.** a) Dilución de los fungicidas b) secado de los biodiscos después de la aplicación de los fungicidas c) corte de la cepa d) colocación de la cepa en el agar e) colocación de los biodiscos en el agar f) incubación de los bioensayos a temperatura ambiente por 7 días.

### 3.6 Selección de formulaciones para los recubrimientos.

Las formulaciones de los recubrimientos se desarrollaron con tres diferentes ceras: abeja, candelilla y carnauba al 10%, se les adicionó hidróxido de sodio al 10% para aproximar el pH a 7. Sólo se utilizaron aquellas que presentaron estabilidad. Las formulaciones estables en la emulsión fueron las que se muestran en las siguientes tablas 10, 11, 12, 13 y 14.



**Tabla 10.** Formulación 1 de cera de candelilla (50 g)

<b>Candelilla</b>	10
<b>Alcohol</b>	5
<b>agua</b>	43
<b>Acido oleico</b>	40
<b>Tween</b>	1
<b>Aceite esencial de limón</b>	1

**Tabla 11.** Formulación 2 de cera de candelilla (50 g).

<b>Candelilla</b>	10
<b>Alcohol</b>	10
<b>Agua</b>	38
<b>Acido oleico</b>	40
<b>Tween</b>	1
<b>Aceite esencial de limón</b>	1

**Tabla 12.** Formulación 3 de cera de candelilla (50 g).

<b>Componentes</b>	<b>%</b>
<b>Candelilla</b>	10
<b>Alcohol</b>	17
<b>Agua</b>	31
<b>Acido oleico</b>	40
<b>Tween</b>	1
<b>Aceite esencial de limón</b>	1

**Tabla 13.** Formulación 4 de cera de candelilla (50 g).

<b>Componentes</b>	<b>%</b>
<b>Candelilla</b>	10
<b>Alcohol</b>	21
<b>Agua</b>	27
<b>Acido oleico</b>	40
<b>Tween</b>	1
<b>Aceite esencial de limón</b>	1

**Tabla 14.** Formulación 5 de cera de abeja (50 g).

<b>Componentes</b>	<b>%</b>
<b>Cera de abeja</b>	10
<b>Alcohol</b>	23
<b>Agua</b>	25
<b>Acido oleico</b>	40
<b>Tween</b>	1
<b>Aceite esencial de limón</b>	1

Para elegir las formulaciones que preservaron la calidad del aguacate y que presentaron mejor adherencia, se realizó un experimento previo para observar y comparar los tratamientos.

Para observar estos parámetros, se utilizaron 6 lotes de 12 aguacates utilizando uno como control. Los lotes fueron lavados, secados y enumerados y posteriormente se aplicaron los recubrimientos, estos fueron colocados en una malla donde se secaron por 12 horas.



Después del tiempo transcurrido fueron almacenados a temperatura de 9°C para evaluar sus parámetros de calidad (respiración, pH, materia seca, pérdida de peso, sólidos solubles, firmeza y color externo) por 15 días de acuerdo a las técnicas descritas en el (apartado 3.8).

Los recubrimientos que se seleccionaron fueron aquellos que disminuyeron la maduración y preservaron la calidad del aguacate (Figura 15)



**Figura 15.** Lotes de aguacates utilizados para la aplicación de los diferentes recubrimientos.

### 3.7. Preparación del inóculo para pruebas reto

La siembra de la cepa de *Colletotrichum gloesporoides* se realizó en agar de Malta, debido a que en este medio favorecía la esporulación del hongo; se incubó a temperatura de 25°C por 7 días, y con ello se preparó la solución de esporas en tween al 0.5%.

Las cajas Petri, en las cuales se observó mayor esporulación del hongo se seleccionaron y se agregó aproximadamente 10 ml de la solución de tween al 0.5%, para romper la tensión superficial del agua y arrastrar las esporas; con la ayuda de un bisturí estéril se raspó la superficie de ésta y se obtuvo una mezcla de esporas, la cual se filtró por medio de una gasa y un embudo (previamente esterilizados), y se colocó en una probeta para medir su volumen, este procedimiento se realizó por cada caja Petri.

Una vez obtenida la solución se realizó el conteo de esporas en una cámara de NeuBauer, la cual está formado por 4 campos que a su vez está dividido por 16 cuadros (Figura 16). La medición se realizó colocando una gota de la solución en un porta objetos y cubriéndolo con un cubre objetos, evitando la formación de burbujas y se hizo el conteo de las esporas por cada cuadro y se sumaron las obtenidas por los 4 campos y



posteriormente se obtuvo el promedio. El promedio obtenido fue multiplicado por una constante (C=2000) que permite obtener la concentración de esporas por mililitro.

2	3	4	5			2	7	7	9		
5	4	3	2			3	5	6	1		
5	4	3	1			7	8	2	6		
6	7	8	9			3	9	3	1		
A				2	7	7	9	5	B		
				3	5	6	1	2			
				7	8	2	6	1			
C				3	9	3	1	9	D		
				6	7	8	9	1			
2	7	7	9	E				2	3	4	5
3	5	6	1					5	4	3	2
7	8	2	6					5	4	3	1
3	9	3	1					6	7	8	9

Figura 16. Campos de división de la cámara de NeuBauer

$$x \times C = \text{esporas} / \text{ml}$$

Siendo: C=2000 y x = promedio

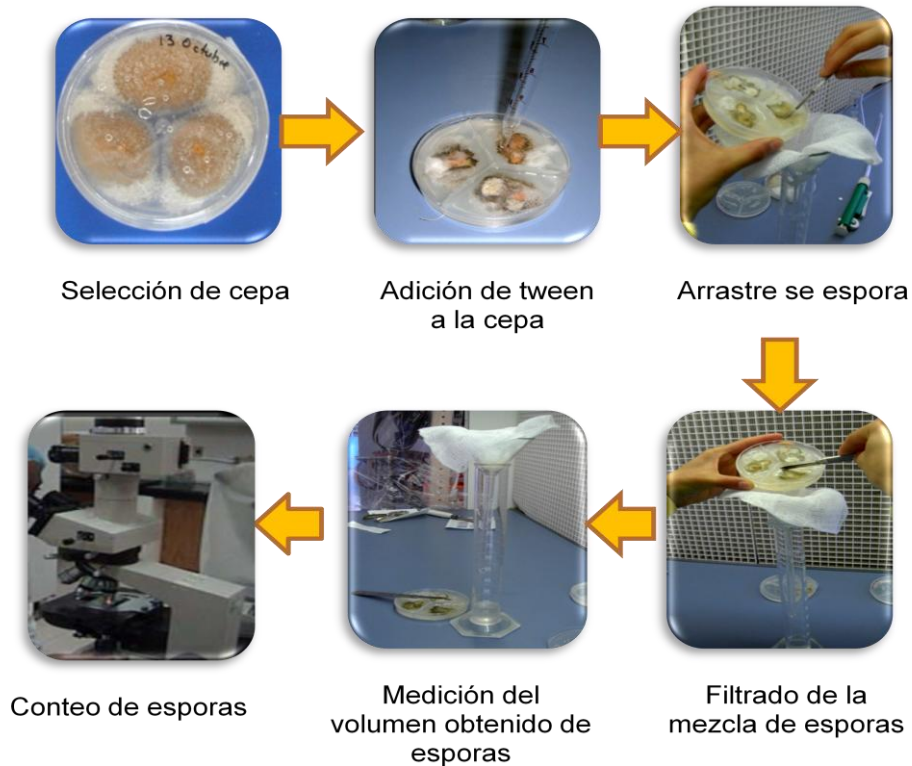
Una vez obtenido el número de esporas de la solución se realizó la dilución de ésta para obtener una concentración de  $1 \times 10^7$  esporas por mililitro la cual se estableció por referencias bibliográficas (Trigiano *et al.* 2004).

En la figura 17, se muestra la metodología que se llevó a cabo para la determinación de la concentración de esporas.

### 3.8 Aplicación de recubrimientos para el control de antracosis en aguacate

Para evaluar el efecto de los recubrimientos y de las concentraciones de aceite esencial de limón y benomilo seleccionadas en las pruebas *in vitro*; se les añadió en las formulaciones de cera las concentraciones seleccionadas; se formaron 6 lotes de 24 aguacates utilizando 2 lotes como control sin inocular y el otro inoculado, a los cuales no se les aplicó recubrimiento.





**Figura 17.**Preparación del inoculo de *Colletotrichum gloesporoides*

Los frutos fueron inoculados por frotación con la solución de esporas de *C. gloesporoides* a  $1 \times 10^7$  esporas/ml y posteriormente se aplicaron las diferentes formulaciones de ceras, se almacenaron a 9°C por 18 días y se transfirieron a 25°C hasta su maduración comercial.

Para observar el efecto de los recubrimientos se realizaron muestreos cada 3 días para observar su grado de infección en cada uno de los tratamientos y condiciones de almacenamiento, evaluando los parámetros de calidad: pH, sólidos solubles, pérdida de peso, %CO<sub>2</sub>, firmeza, y actividad enzimática (PDO y PPO) de acuerdo a las técnicas descritas en el apartado 3.9.



### 3.9 Técnicas analíticas.

#### 3.9.1 Parámetros químicos.

**Determinación de humedad:** se determinó por método gravimétrico. Se calcula el contenido de humedad de la muestra por pérdida de peso debido a la evaporación del agua a 70°C hasta obtener un peso constante (Pearson, 1998). La humedad se expresó en porcentaje de humedad.

**Determinación de lípidos:** Se determinó por el método Soxhlet, donde los lípidos son extraídos de la muestra con éter de petróleo, el solvente es eliminado por evaporación y queda como residuo la grasa (Pearson, 1998). Los resultados se expresaron en porcentaje de lípidos.

**Determinación de fibra cruda.** Se determinó por el método Kennedy-Wend. La fibra cruda es el residuo seco que queda después de la hidrólisis ácida y alcalina (Pearson, 1998). Los resultados se expresaron en porcentaje de fibra cruda.

**Determinación de cenizas totales.** Se determinaron por incineración directa, la ceniza es el residuo inorgánico que queda después de quemar la materia orgánica a 550°C (Pearson, 1998). Los resultados se expresaron en porcentaje de cenizas.

**Determinación de proteína.** Se realizó por el método de Lowry, *et al.* (1951), este es un método colorimétrico siendo la intensidad de color proporcional a la concentración de proteínas. Se utilizó albúmina como estándar y los valores de concentración de proteína se determinaron por interpolación gráfica en una curva patrón obtenida a 750 nm. Los resultados se expresa en mg/ml.

**Determinación de materia seca.** Se determinó por el método descrito en la Norma Mexicana NMX-FF-016-SCFI-2006, en el que la materia seca es tomada al ser eliminada el agua por evaporación y tomando como está la resta de la muestra con agua y la muestra seca. Los resultados se expresaron en porcentaje de materia seca.



### 3.9.1.2 Determinación de la actividad enzimática peroxidasa y polifenoloxidasas (PDO y PPO)

#### 3.9.1.2.1 Preparación de los extractos enzimáticos

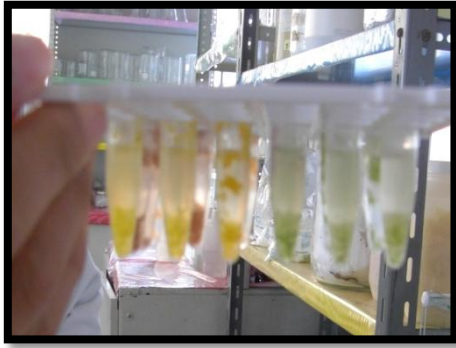
El extracto enzimático se realizó de acuerdo al método de Cano *et. al.*, (1990) con algunas modificaciones. Se pesaron 200 mg de muestra y se maceraron con nitrógeno líquido, se colocaron en microtubos (marca eppendorf) y se les agregó 1 ml de buffer fosfato 0.2 M a pH de 6.5. Se introdujeron a una microcentrífuga (marca Daigger 4350) y se centrifugaron a 12000 rpm por 30 minutos. Posteriormente, transcurrido el tiempo, se extrajo con la ayuda de una micropipeta el sobrenadante y se colocó en otro microtubo desechando el pellet (Figura 18).

#### 3.9.1.2.2 Determinación de la peroxidasa (PDO)

Para la determinación de PDO se utilizó buffer fosfato a 0.04M a pH de 6.5, 10 mg/ml de *p-fenilenediamina* y 15 ml/l de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ). En una celda se colocó 1.35 ml de buffer, 50  $\mu$ l de  $H_2O_2$ , 100  $\mu$ l de *p-fenilenediamina*, 50  $\mu$ l de agua y 50  $\mu$ l de extracto enzimático y se agitó para homogenizar la mezcla y provocar la oxidación de la *p-fenilenediamina*. La absorbancia fue registrada en un espectrofotómetro (marca Termo Spectronic, modelo Genesis 10 UV) a 485 nm por un lapso de 4 minutos. La actividad enzimática se calculó en base a la pendiente lineal a 485 nm contra el tiempo.

#### 3.9.1.2.3 Determinación de la polifenoloxidasas (PPO)

Para la determinación de PPO se utilizó buffer fosfato a 10mM a pH 6.5 y dopamina hidroclicorada. La dopamina hidroclicorada se mezcló con el buffer fosfato y se incubó a 40°C. En una celda se agregó 1.45 ml de la mezcla de buffer y dopamina y 100  $\mu$ l de extracto enzimático y se agitó para homogenizar la mezcla y provocar la oxidación de la dopamina. El cambio de absorbancia se registró en un espectrofotómetro (marca Termo Spectronic, modelo Genesis 10 UV) a 420 nm por un lapso de 4 minutos (Figura 19). La actividad enzimática se calculó en base a la pendiente lineal a 485 nm contra el tiempo.



**Figura 18.** Extractos enzimáticos obtenidos después de la centrifugación a 12000 rpm.



**Figura 19.** Espectrofotómetro

**Determinación de pH.** Se determinó por medio de un potenciómetro (Hanna Instruments, modelo H198127). Se pesaron 5 g de muestra diluida en 45 ml de agua destilada, se homogenizó y se sumergieron los electrodos del potenciómetro en la solución a temperatura ambiente hasta obtener la lectura.

**Determinación de sólidos solubles.** Se determinaron los sólidos solubles de forma directa por medio de un refractómetro (Master Refractometer, marca Atago), la cual se basa en la refracción de las partículas disueltas en frutos como la sacarosa y fructuosa y se miden en °Brix.

**Determinación de firmeza.** Se realizó la medición con un penetrómetro manual (modelo FT 327). La firmeza se midió de acuerdo a la fuerza que se le aplicó al penetrómetro para ocasionar la ruptura de la piel y penetrar el fruto sobre una de las caras de este. Los resultados se expresaron en  $\text{kg}/\text{cm}^2$ .

**Determinación de color.** Se midió con un colorímetro Minolta CR-300, por el sistema Hunter Lab que representa la cromaticidad en coordenadas rectangulares. Los valores “a” en abscisas se mueven desde los valores negativos para el verde a valores positivos para el rojo, los valores “b” en ordenadas van desde el azul al amarillo, “L” representa la luminosidad desde la reflexión nula ( $L=0$ ) a reflexión difusa perfecta ( $L=100$ ). Los valores “a” y “b” representan las coordenadas de la cromaticidad (croma) o de la saturación de color y estas son utilizadas para evaluar el tono al calcular el ángulo Hule el cual va de valores de  $0^\circ$  = rojo purpura



90 amarillo, 180 azul-verde y 270 azul (Mc Guirre, 1992). Las medidas se tomaron en una de las caras del fruto.

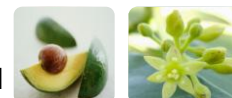
**Determinación de pérdida de peso.** Para la pérdida de peso se utilizó una balanza (marca OHAUS serie 800). Se obtuvo el peso inicial y final del fruto, tomando como porcentaje de pérdida de peso la diferencia entre ellos. El resultado se expreso en porcentaje.

#### 3.9.4 Parámetros fisiológicos

**Medición de respiración.** Se determinó con la medición de la producción de CO<sub>2</sub> en una analizador de gases (marca ANALYZER NITE LLC) utilizando un sistema cerrado. Se colocaron 2 aguacates en frascos de vidrio sellados y se dejó transcurrir una hora; transcurrido el tiempo se midió la acumulación de CO<sub>2</sub> de cada recipiente en un lapso de un minuto cada uno. Los resultados se expresaron en mg CO<sub>2</sub>/kg peso fresco.

#### 3.10 Análisis estadístico

Los experimentos se hicieron por triplicado para obtener un análisis estadístico confiable y representativo. Para conocer si había diferencia significativa entre tratamientos se aplicó un ANOVA pruebas de rango múltiple (Tukey y Duncan), con un nivel de significancia de 0.05. Se realizó este análisis por medio del programa estadístico SPSS (Statistical Packager for the Social Science Versión 18.0).



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 4.1 Caracterización, física, fisicoquímica y química del aguacate Hass

Para conocer la materia prima en estudio, se realizó una caracterización física, fisicoquímica y química de los aguacates en fresco.

Las pruebas físicas se llevaron a cabo para conocer la homogeneidad de cada fruto y obtener lotes similares. El peso, la longitud ecuatorial y el color fueron evaluados, estos parámetros proporcionaron una idea del estado fisiológico del fruto.

**Tabla 15.** Parámetros físicos del aguacate Hass

Parámetro	Promedio
<b>Peso (g)</b>	137.00
<b>Longitud ecuatorial (cm)</b>	15.60
<b>Longitud axial (cm)</b>	20.17

Los datos muestran la media de 3 réplicas

Los frutos de acuerdo a la norma para el aguacate (CODEX STAN 197-1995, EMD. 1-2005) fueron de calibre 28 perteneciendo a una categoría I dentro de la clasificación extra esto de acuerdo a las disposiciones relativas de la calidad del aguacate (Codex Alimentarius, 1995)

Para evaluar las características físicas, fisicoquímicas y químicas se utilizaron frutos en estado de madurez comercial a temperatura ambiente, en la tabla 16 se muestran los parámetros obtenidos de calidad como: pH, sólidos solubles, firmeza, materia seca y las características químicas como: proteína, lípidos, cenizas, fibra y contenido de humedad.

**Tabla 16.** Parámetros químicos y fisicoquímicos del aguacate Hass.

Parámetros	Promedio
<b>pH</b>	6.00 ± 0.36
<b>°Brix</b>	1.13 ± 0.05
<b>Firmeza (kg/cm<sup>2</sup>)</b>	7.53± 3.43
<b>Materia seca (%)</b>	29.41 ± 3.85
<b>Proteína (%)</b>	0.04 ± 0.05
<b>Lípidos (%)</b>	11.27 ± 6.14
<b>Ceniza (%)</b>	1.56 ± 0.35
<b>Fibra (%)</b>	0.28 ± 1.51
<b>Humedad (%)</b>	40.48 ± 8.17

Los datos muestran la media de 3 réplicas ± la desviación estándar



En los parámetros químicos se observa que presentan un bajo contenido de humedad y alto contenido de lípidos, siendo un fruto que está compuesto de una gran capacidad nutritiva y calórica, según su variedad puede llegar a las 200 kcal/100 g de parte comestible. En los lípidos que contiene se encuentran los glicéridos, ácidos grasos como el oleico y los fosfolípidos, estos lípidos se caracterizan por ser insaturados y tener un gran valor biológico. (APROA, 2007).

#### **4.2. Selección de las concentraciones de los fungicidas a través de las pruebas *in vitro***

La principal enfermedad del aguacate es la antracnosis producida por el hongo *Colletotrichum gloesporioides*, ésta genera pérdidas, problemas de exportación y comercialización, para su control se han utilizado diferentes recubrimientos adicionados con productos químicos sintéticos, que han traído consigo el incremento de costos de producción, el desarrollo de resistencia de residuos de pesticidas en los alimentos y, en consecuencia, los riesgos en la salud humana y el medio ambiente (Alzate *et al.*, 2008).

Debido a esto, se ha incrementado el interés y el estudio de alternativas de origen natural que permitan minorar este tipo de efectos (Alzate *et al.*, 2008) utilizando metabolitos secundarios producidos en algunas plantas como hojas, flores, cáscara etc. El aceite esencial de limón es uno de estos metabolitos secundarios en el cual se ha observado que inhibe el crecimiento microbiano (Martínez *et al.*, 2005) y ha sido estudiado en algunos frutos para inhibir el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides*. Por lo que se sigue investigando que tan efectivo puede ser en diferentes frutos.

Las pruebas *in vitro*, se realizaron siguiendo la metodología descrita en el apartado 3.4.2 de materiales y métodos. Estas pruebas se realizaron con el fin de establecer la concentración de los fungicidas para la inhibición del crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* y así adicionarlo en los recubrimientos que se le aplicara al aguacate.

En estas pruebas se utilizaron diferentes concentraciones de aceite esencial de limón y benomilo; las concentraciones del aceite esencial de limón (10,15 y 20  $\mu\text{l/ml}$ ) se basaron en trabajos de Ronquillo (2007) y las de benomilo (4 y 10  $\mu\text{l/ml}$ ), Zavala y colaboradores (2005).



#### 4.2.1 Velocidad de crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides*.

Para la realización de estas pruebas se siguió el procedimiento descrito en el apartado 3.4.2 de materiales y métodos. Con la ayuda de un Vernier se midió en cm el crecimiento de la cepa diariamente por 7 días, para calcular la velocidad en cm/día. Las imágenes se muestran en las tablas 17 y 18.

En el primer día no se observó crecimiento del hongo. En el tercer día, el crecimiento comenzó y en algunas cajas de los tratamientos de 4 y 10 mg/l de benomilo los biodiscos fueron tocados por el hongo, en los demás tratamientos el crecimiento fue homogéneo y no se tocaron los biodiscos.

En el quinto día el hongo tocó los biodiscos de los controles y las concentraciones con aceite esencial de limón, pero en los tratamientos con benomilo se observó que los biodiscos fueron cubiertos, teniendo que en este día el aceite esencial de limón tuvo mayor inhibición del crecimiento del hongo.

En el séptimo día se observó en los controles y en las concentraciones de 10 y 15  $\mu$ l/ml de aceite esencial de limón el cubrimiento de la superficie de las cajas por el hongo y en el caso del aceite esencial de limón con concentración de 20  $\mu$ l/ml los biodiscos fueron sobrepasados. En la concentración de 4mg/l de benomilo los biodiscos fueron tocados por el hongo y en la concentración de 10 mg/l se cubrió por completo la superficie de la caja

Debido a que en este experimento no se observó una clara inhibición del hongo, se decidió realizar nuevamente las pruebas *in vitro* pero, modificando las concentraciones del aceite esencial de limón y el benomilo. Las concentraciones se aumentaron para este experimento y fueron: 10, 20 y 30  $\mu$ l/ml de aceite esencial de limón y 10 y 20 mg/l de benomilo, las imágenes se muestran en la tabla 19 y 20.



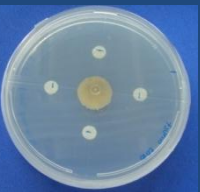
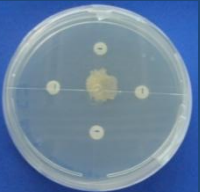
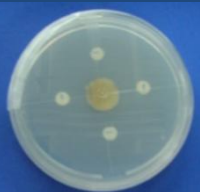
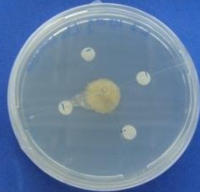
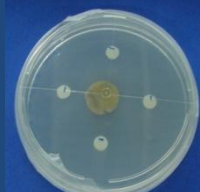
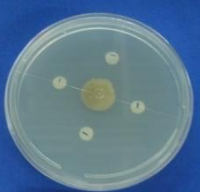
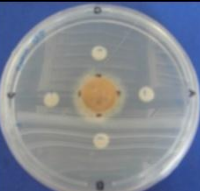
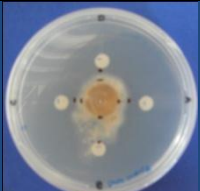
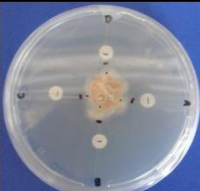
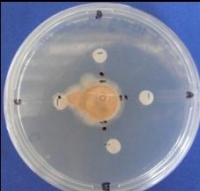
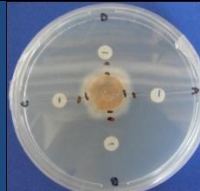
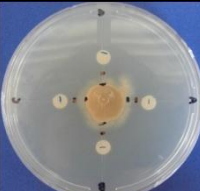
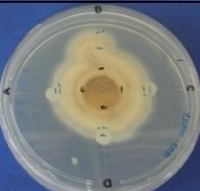
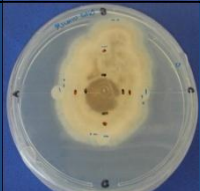
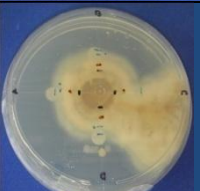
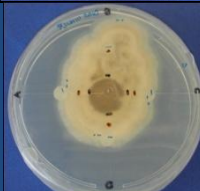
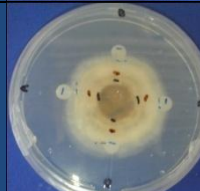
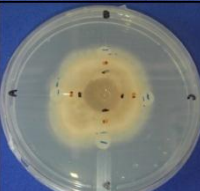
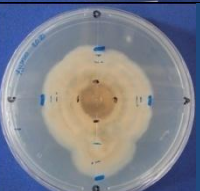
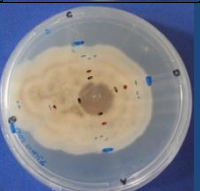
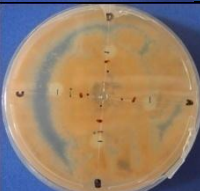
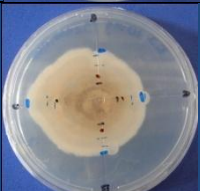
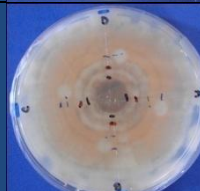
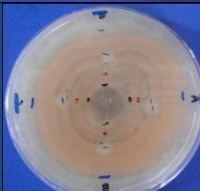


Tabla 17. Crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* con aceite esencial de limón.

	Control con alcohol	Control con agua	Ac. de limón 20 $\mu\text{l/ml}$	Ac. de limón 15 $\mu\text{l/ml}$	Ac. de limón 10 $\mu\text{l/ml}$
DIAS					
1					
3					
5					
7					



**Tabla 18.** Crecimiento del *Colletotrichum gloesporioides* con benomilo.

Días	Benomilo 4 mg/l		Benomilo 10 mg/l		Control con agua	Control con alcohol
<b>1</b>						
<b>3</b>						
<b>5</b>						
<b>7</b>						

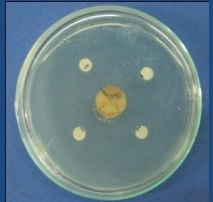
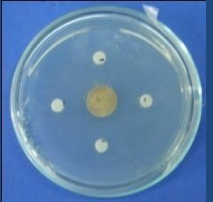
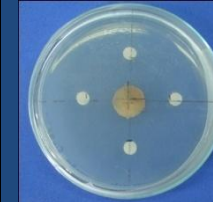
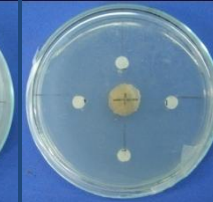
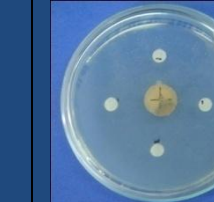
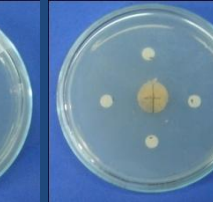
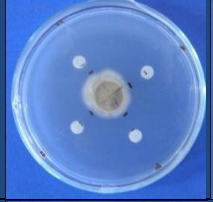
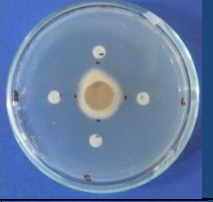
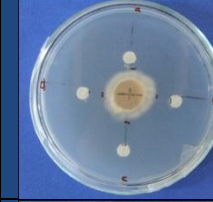
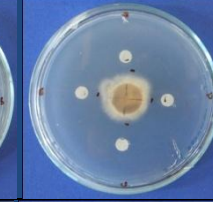
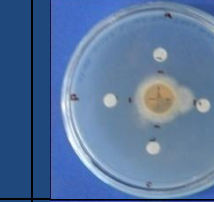
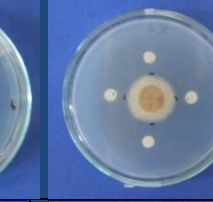
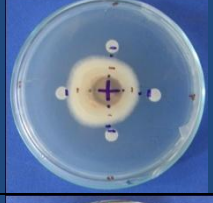
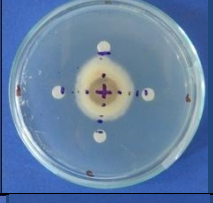
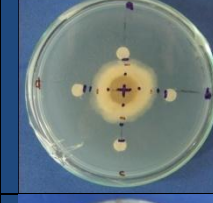
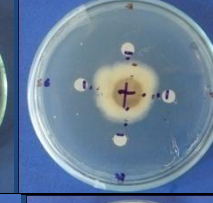
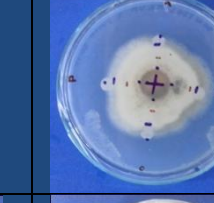
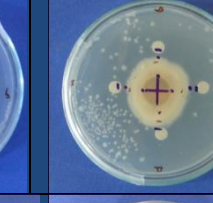
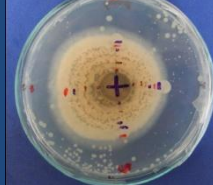
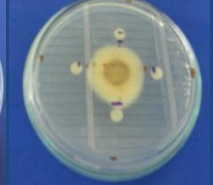
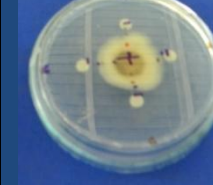
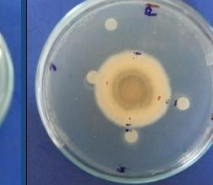
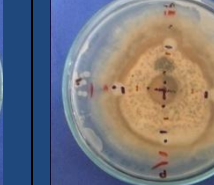
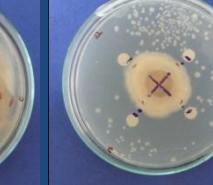


**Tabla 19.** Crecimiento del *Colletotrichum gloesporioides* con aceite esencial de limón del segundo experimento

DIAS	Ac. de limón 10 µl/ml		Ac. de limón 20 µl/ml		Ac. de limón 30 µl/ml		Control con agua	Control con alcohol	
	1	3	5	7	1	3	5	7	
1									
3									
5									
7									



**Tabla 20.** Crecimiento del *Colletotrichum gloesporioides* con benomilo segundo experimento.

Días	Benomilo 10 mg/l		Benomilo 20 mg/l		Control con agua	Control con alcohol
<b>1</b>						
<b>3</b>						
<b>5</b>						
<b>7</b>						



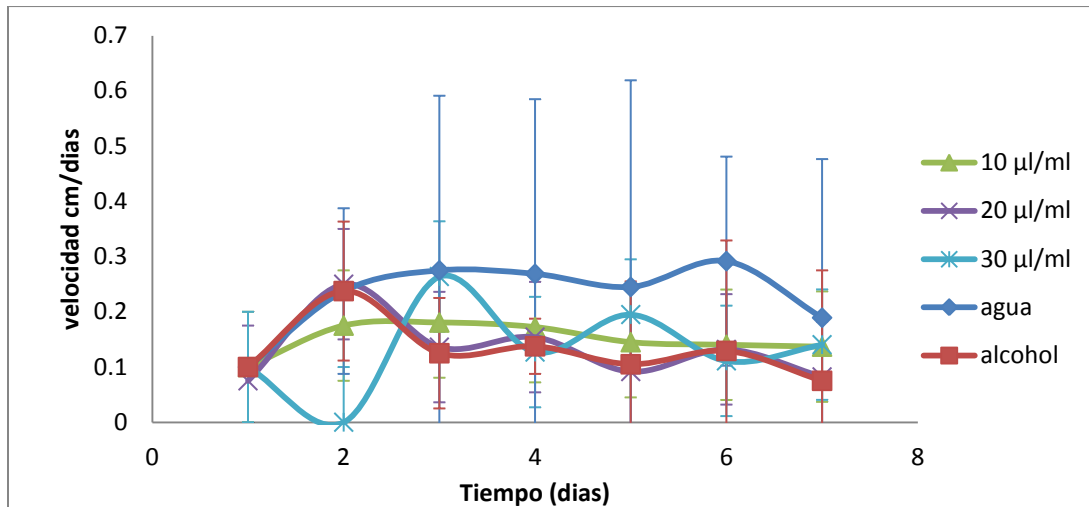
En este experimento como en el anterior se observó que en el tercer día comenzó el crecimiento del hongo en los tratamientos.

En el quinto día en todas las concentraciones con aceite esencial de limón, el hongo rozó los biodiscos percibiendo un crecimiento casi homogéneo. No se observó cual de las concentraciones tuvo una mejor inhibición en el crecimiento del hongo. En cuanto a las concentraciones de benomilo, los biodiscos no fueron tocados por el hongo, pero la concentración que mostro un menor crecimiento fue 20 mg/l. En el control de agua el hongo cubrió los biodiscos teniendo un mayor crecimiento que en los tratamientos; en el control con alcohol se desarrolló una contaminación del hongo por lo que el crecimiento del hongo se vio afectada y tuvo un menor crecimiento que en los tratamientos y el control de agua.

En el séptimo día, en la concentración de 10  $\mu$ l/ml de aceite esencial de limón una de las cajas el hongo cubrió la superficie y en la segunda tocó los biodiscos; en las concentraciones de 20 y 30  $\mu$ l/ml se percibió que en una cajas el hongo llegó a los biodiscos y en la segunda caja no tocó los biodiscos; en el control de agua se cubrió la superficie y en cuanto al control de alcohol el crecimiento fue menor debido a su contaminación. En las concentraciones de benomilo se observó, que en 10 mg/l una de las cajas cubrió los biodiscos y la otra no tocó los biodiscos, en la concentración de 20 mg/l se contempló, que una de ellas solo tocó uno de los biodiscos y en la otra no tocó ninguno. En este día el aceite esencial de limón y el benomilo tuvieron una inhibición del crecimiento del hongo dependiendo de su concentración.

Las concentraciones en las cuales tuvieron una mejor inhibición fueron: en el caso del aceite esencial de limón 20  $\mu$ l/ml debido que en este el crecimiento fue menor que en las demás concentraciones y con respecto al benomilo se observó mejores resultados en la concentración de 20mg/l.

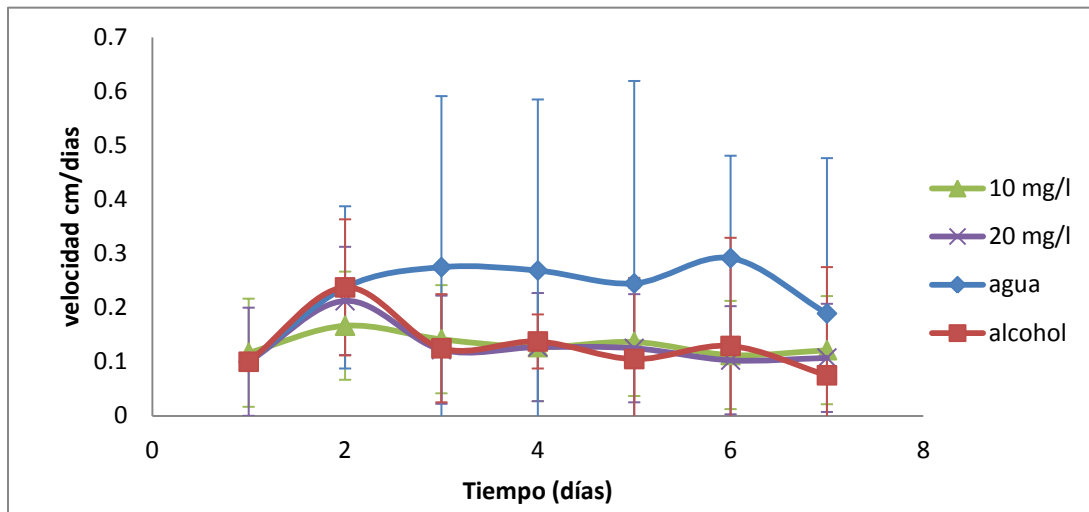
En las figuras 20 y 21 se muestran los resultados obtenidos de la velocidad de crecimiento por día en los diferentes tratamientos.



**Figura 18.** Velocidad de crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* utilizando aceite esencial de limón a diferentes concentraciones, agua destilada y alcohol. La desviación estándar de cada punto se representa con las líneas verticales.

La figura 20 se muestra la velocidad de crecimiento del hongo con las diferentes concentraciones de aceite esencial de limón, donde se observa la inhibición del crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides*. En el segundo día se observó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) en el control de agua (el control de alcohol como se mencionó anteriormente se contaminó, por lo que se tomó solamente como referencia el control de agua) y en las concentraciones de 20 y 30 µl/ml. A partir del cuarto día hubo diferencia entre el control de agua y las diferentes concentraciones de aceite. La velocidad de crecimiento presentó valores menores al del control de agua, obteniendo en el séptimo día una velocidad de crecimiento en el control de agua destilada de 0.189 cm/día y 0.075 cm/día del control con alcohol, para 10 µl/ml de aceite esencial de limón 0.136 cm/día, para 20 µl/ml: 0.082cm/día y para 30 µl/ml: 0.140 cm/día.

La concentración que tuvo mayor inhibición en el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* fue 20 µl/ml, esta concentración se seleccionó para ser agregada a la formulación a base de cera.



**Figura 19.** Velocidad de crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* utilizando Benomilo a dos diferentes concentraciones, agua destilada y alcohol. La desviación estándar de cada punto se representa con las líneas verticales.

La figura 21 se muestra la velocidad de crecimiento del hongo con las dos diferentes concentraciones del benomilo, en donde se observó una inhibición del crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* pues la velocidad de crecimiento fue menor en los tratamientos con benomilo que en el control de agua. En el primer día se obtuvo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) en el control y en la concentración de 10 mg/l. En el cuarto y quinto día se encontró diferencia en el control de agua y todas las concentraciones. En el sexto día solo hay diferencia entre controles. En el séptimo día hubo diferencia significativa entre controles y con las concentraciones de benomilo, la velocidad que se obtuvo en este día fueron: para el control de agua 0.189 cm/día, para la concentración de 10 mg/l de benomilo y 20 mg/l fueron de 0.121 cm/día y 0.107cm/día respectivamente.

La concentración que disminuyó el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* fue 20 mg/l de benomilo, esta concentración se seleccionó para ser agregada a la formulación a base de cera.

En diversos trabajos se han encontrado que los productos derivados de las plantas muestran un efecto antimicrobiano, entre estos compuestos destacan los flavonoides, fenoles, terpenos, aceites esenciales, alcaloides, lectinas y polipéptidos. Su mecanismo de acción son variables de modo la acción de los terpenos y aceites esenciales no ha sido conocido por completo, pero se cree que pueden causar rompimiento de la membrana a través de los compuestos lipofílicos. De los alcaloides se especula que se



intercalan con el DNA, y de las lectinas y polipéptidos se conoce que pueden formar canales iónicos en la membrana microbiana o causar la inhibición competitiva por adhesión de proteínas microbianas a los polisacáridos receptores del hospedero (Hernández *et al.*, 2007).

Resultados similares a los del presente trabajo se han encontrado utilizando diferentes extractos de plantas, en donde; el aceite esencial de limón inhibe el crecimiento micelio del hongo *Colletotrichum gloesporioides*. En pruebas *in vitro* se presentó inhibición a partir de una concentración de 12  $\mu$ l y en aceite esencial de tomillo se presentó la inhibición en una concentración de 8  $\mu$ l (Ronquillo, 2007). Los extractos de ajo (*allium sativum* L.), guayaba (*Psidium guajava* L.) y eucalipto blanco (*Eucalyptus globulus* Labill.) se han utilizado para inhibir el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides*, reduciéndolo significativamente en 54.3, 48.8, 47.7 y 39 % respectivamente (Hernández *et al.*, 2007).

En los extractos de cítricos se ha encontrado que inhiben bacterias, como por ejemplo los extractos de cáscaras de limón frescas y secas, cascarras de lima Kaffir y de pomelo, tuvieron actividad antibacteriana contra *S. aureus*; al igual que la cáscara de lima fresca inhibió el crecimiento de *E. coli* (Chanphanphon y Homgáttarakere, 2008).

El extracto de tomillo se ha utilizado para inhibir el crecimiento de varios hongos en plantas, como por ejemplo, se ha utilizado para observar si inhibe el crecimiento en plantas infectadas con tres diferentes hongos *Botrytis cinerea*, *Fusarium osyosporum* y *Sclerotinia sclerotium*, y la cual se llegó a la conclusión de que este extracto de tomillo inhibió el crecimiento solo del hongo *Fusarium osyosporum* a una concentración de 500g/ml (Lizcano, 2007).

#### 4.3 Selección del recubrimiento de cera.

Para seleccionar el tipo de cera se realizaron diferentes formulaciones basándose en otros trabajos de investigación con ligeras modificaciones. El experimento se realizó de acuerdo a lo descrito en el apartado 3.8.3 de materiales y métodos, el cual permitió seleccionar la formulación de ceras que alargaba la vida útil del aguacate y posteriormente adicionar la concentración de fungicida químico y natural seleccionado en el apartado anterior, de acuerdo a las pruebas *in vitro*.

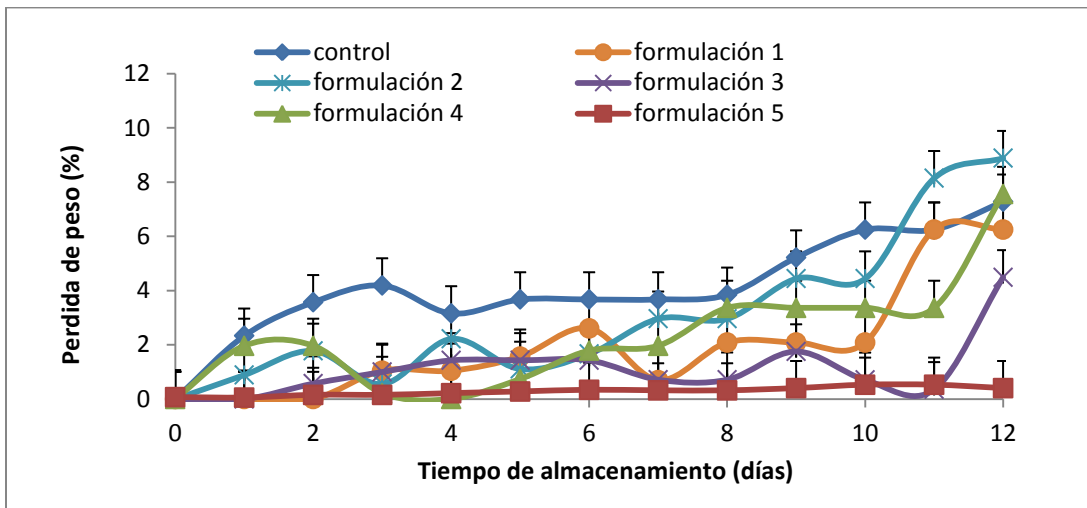




4.3.1 Efecto de los recubrimientos en los parámetros de calidad.

⊙ Pérdida de peso

La pérdida de peso en la mayoría de los frutos, es consecuencia directa de la pérdida de su contenido de humedad (Aguilar, 2005). En la figura 22 se observó que los tratamientos ayudaron a disminuir la pérdida de peso comparado con el control manteniendo su humedad y alargando su vida útil.



**Figura 20. Porcentaje de pérdida de peso del aguacate' Hass' almacenado a 9°C.** (Formulación 1: cera de candelilla 10% con 5% de alcohol y 43% de agua, **formulación 2:** cera de candelilla 10% con 10% de alcohol y 38% de agua, **formulación 3:** cera de candelilla 10% con 17% de alcohol y 27% de agua, **formulación 4:** cera de candelilla 10% con 21% de alcohol y 27% de agua y **formulación 5:** cera de abeja con 23% de alcohol y 25% de agua). La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

En el segundo día de almacenamiento se observó que los frutos control tuvieron mayor pérdida de humedad con un valor de 2.3%, los frutos con la formulación 5 de 0.05% mientras que la formulación 2 tuvo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con todos los tratamientos y con el control. En el séptimo día los frutos control siguieron perdiendo más peso que los frutos con tratamientos, observándose que la formulación 2, tuvo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el control. En el último día de almacenamiento la formulación 2, 3 y 5 tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control y la pérdida de peso de los frutos control fue de 7.28%, el tratamiento que se asemejó mucho a su pérdida fue la formulación 4 con un 7.56%, por lo que se puede decir que este tratamiento no actuó con barrera de transferencia de humedad afectando la vida útil del aguacate. Los



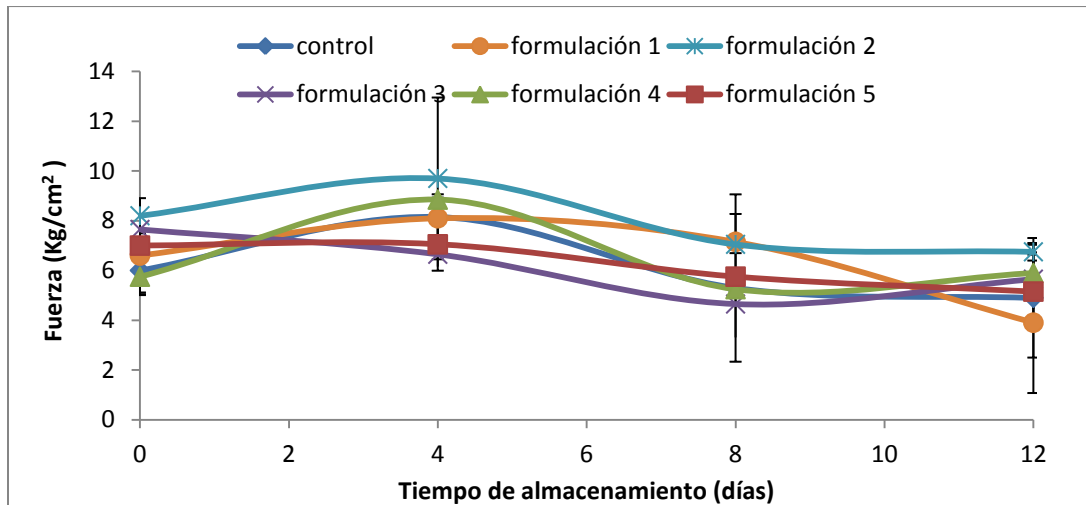
tratamientos que se mantuvieron con un porcentaje de pérdida de peso menor al del control en el último día fueron: la formulación 3 y 5 presentando una pérdida de peso de 0.4% y 5.12%, respectivamente a comparación de las demás formulaciones estos ejercieron una mejor barrera de pérdida de humedad, lo que ayudó a aplazar la vida útil del aguacate. Los tratamientos con cera presentaron un efecto significativo ( $P \leq 0.05$ ) en la pérdida de peso al final del almacenamiento.

Los recubrimientos a base de cera poseen propiedades de barrera, la cual retardan la difusión de gases a través de la corteza y construye una resistencia al transporte de masa entre la fruta y el medio exterior, esto se corrobora en estudios realizados en mango (*magnifica indica, L*) donde se observó que al aplicarle tres tratamientos la cual consistían en cera fría, agua caliente y agua caliente con cera frías, el tratamiento que mantuvo menor pérdida de peso fueron aquellos que solos se les aplico cera fría (Pérez *et al.*, 2003b). En frutos cítricos se han utilizado en mayor parte la aplicación de ceras, a las cuales se han hecho varias modificaciones en la formulaciones para obtener una mejor conservación de los frutos, tal es el caso del estudio realizado por Cáceres *et al.* (2003a), en el cual se le aplicó a mandarina “*Clemules*” ceras combinadas con goma laca, en este experimento se observó que se disminuyó la pérdida de peso con respecto al control, el mismo resultado lo obtuvo en el trabajo efectuado por Lizárraga, (2001) en donde se aplicó cera de candelilla con aceite mineral y una cera comercial a el limón Persa (*Citrus Latifolia Tanaka*). Los resultados obtenidos en el presente trabajo fueron similares a estos trabajos.

### ● Firmeza

La firmeza o textura en las frutas y hortalizas varían, ésta depende de la turgencia, la cohesión, la forma y el tamaño de las células, la presencia de tejidos de sostén y de la composición (Rivas, 2009). Uno de los parámetros que afectan a la firmeza es el contenido de humedad pues ésta no solo se refleja en la pérdida de peso, sino que también causa pérdidas en la apariencia (debido al marchitamiento y deshidratación), textura (ablandamiento, flacidez, pérdida de consistencia y jugosidad) y valor nutricional.

El efecto de las ceras como se ha venido mencionando, actúa como una barrera a la transferencia de agua, retardando la deshidratación y prologando por lo tanto, la firmeza de los frutos recubiertos (Aguilar, 2005).



**Figura 21. Cambios en la firmeza del aguacate Hass almacenado a 9°C. (Formulación 1:** cera de candelilla 10% con 5% de alcohol y 43% de agua, **formulación 2:** cera de candelilla 10% con 10% de alcohol y 38% de agua, **formulación 3:** cera de candelilla 10% con 17% de alcohol y 27% de agua, **formulación 4:** cera de candelilla 10% con 21% de alcohol y 27% de agua y **formulación 5:** cera de abeja con 23% de alcohol y 25% de agua). La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

La figura 23 muestra la pérdida de firmeza en los frutos debido a su maduración, observando una tendencia a disminuir. Al inicio del almacenamiento no se observó diferencia significativa en la firmeza y a partir del cuarto día, se encontró que los frutos con aplicación de ceras de las formulaciones 3 y 5 presentaron menor firmeza que los frutos control. Sin embargo los frutos con la formulación 2 presentaron una mayor firmeza. A partir del octavo día hubo una mayor disminución de la firmeza en el control y en los tratamientos, el control tuvo un porcentaje de firmeza de 11.66 % seguido por la formulación 4 con un 8.69%, la formulación con mayor porcentaje de firmeza fue la formulación 3 con 39.2% respecto al control, encontrando diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) en el control y todos los tratamientos. En el último día de almacenamiento (12) no se encontró diferencia significativa entre tratamientos. El tratamiento que presentó menor pérdida de firmeza fue la formulación 1 con un 10.6% mientras que los frutos control fue de 18.3 %.

La aplicación de ceras y recubrimientos retardan la pérdida de la firmeza y en el presente trabajo se observó que el tratamiento 2 se mantuvo con una mayor firmeza con respecto al control, en diversos estudios se demuestra este efecto como es en el caso de Pérez *et al.* (2003b) que obtuvo en mangos tratados con una combinación de hidrotérmia y cera y solo cera, estos mantuvieron una mayor firmeza a comparación de los que sólo se

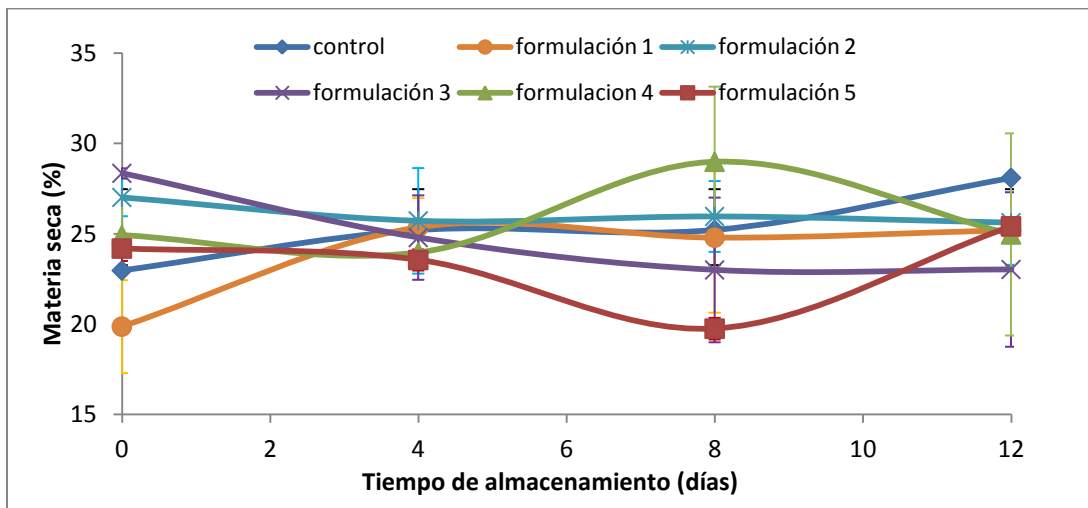


trataron con hidrotérmia. Restrepo *et al.* (2010) obtuvo una mayor firmeza en fresas tratadas con gel mucilaginoso de penca sábila y cera de carnauba en 10 días de almacenamiento, a la cual atribuyeron que los recubrimientos disminuían el porcentaje de pérdida de humedad.

☉ **Materia seca**

El porcentaje de materia seca, determinado de acuerdo a la NMX-FF-016-SCFI-2006 fue uno de los parámetros de calidad del aguacate evaluados siendo un equivalente mínimo del 21.5% el porcentaje que debe presentar en su madurez fisiológica.

En la figura 24 se muestra que la materia seca varió para cada tratamiento. Al inicio del almacenamiento se observó que todas las formulaciones tuvieron diferente porcentaje de materia seca



**Figura 22. Cambios en el porcentaje de materia seca del aguacate ‘Hass’ almacenado a 9°C.** (Formulación 1: cera de candelilla 10% con 5% de alcohol y 43% de agua, formulación 2: cera de candelilla 10% con 10% de alcohol y 38% de agua, formulación 3: cera de candelilla 10% con 17% de alcohol y 27% de agua, formulación 4: cera de candelilla 10% con 21% de alcohol y 27% de agua y formulación 5: cera de abeja con 23% de alcohol y 25% de agua). La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

El tratamiento en el que se obtuvo un menor porcentaje de materia seca con respecto al control fue la formulación 5, el cual en el transcurso presentó porcentajes por debajo del control, en el cuarto día las formulaciones 3, 4 y 5 presentaron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control. En el octavo día se observó un aumento en la materia seca, el control presentó un valor de 22.9 % seguido por la formulación 3 con 23 %, el



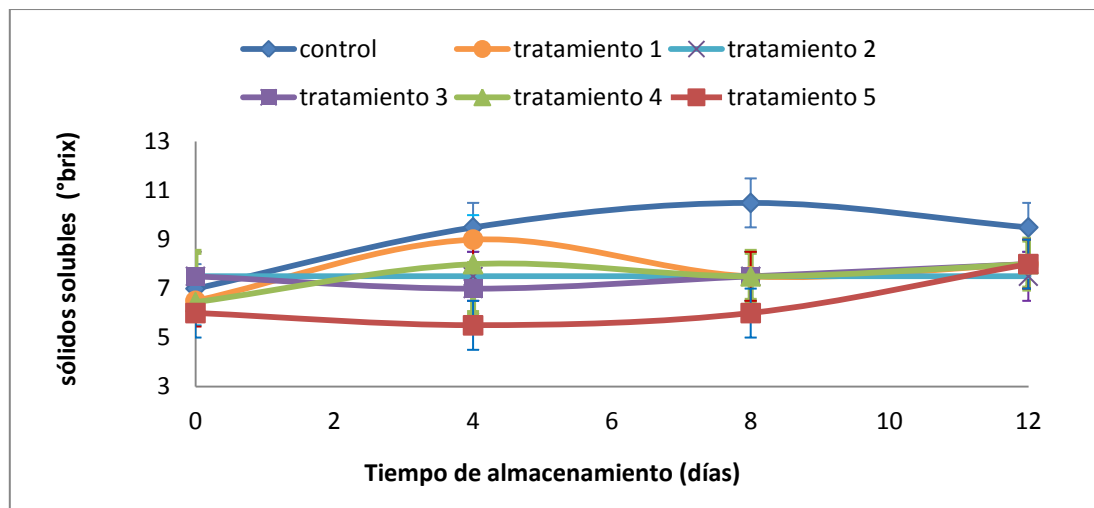
mayor valor obtenido fue por los frutos con la formulación 4 con un valor de 28.9 % teniendo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el control.

En el último día de almacenamiento los tratamientos presentaron un valor cercano al del control, el cual fue de 24.03% mientras que los frutos con la formulación 1 de 27.47%, la formulación 2 de 24.58, la formulación 3 de 23.97%, la formulación 4 de 25.2% y la formulación 5 de 25.4%, observándose diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) de los tratamientos con respecto al control.

Los cambios de la materia seca se deben a la pérdida del porcentaje de humedad el cual va disminuyendo en la maduración, en la figura 25 se observó que la materia seca no se vio afectada por los tratamientos, pues no hubo un descenso en este parámetro.

### ⊙ Sólidos solubles

Los cambios asociados a la maduración en frutos es la degradación de los hidratos de carbono, esta transformación tiene doble efecto de alterar el sabor como la textura del producto (Pérez *et al.*, 2007b).



**Figura 23. Cambios en los sólidos solubles en el aguacate ‘Hass’ almacenado a 9°C.** (Formulación 1: cera de candelilla 10% con 5% de alcohol y 43% de agua, formulación 2: cera de candelilla 10% con 10% de alcohol y 38% de agua, formulación 3: cera de candelilla 10% con 17% de alcohol y 27% de agua, formulación 4: cera de candelilla 10% con 21% de alcohol y 27% de agua y formulación 5: cera de abeja con 23% de alcohol y 25% de agua). La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.



En la figura 25 se observa que el control tuvo un aumento en los sólidos solubles de 6.4 a 9.5 °Brix al final del almacenamiento. Los frutos con los diferentes tratamientos presentaron ligeros cambios en los sólidos solubles a lo largo del almacenamiento inicio a 6 °Brix a partir del cuarto día se encontró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) en las formulaciones 2, 3 y 5 con respecto al control.

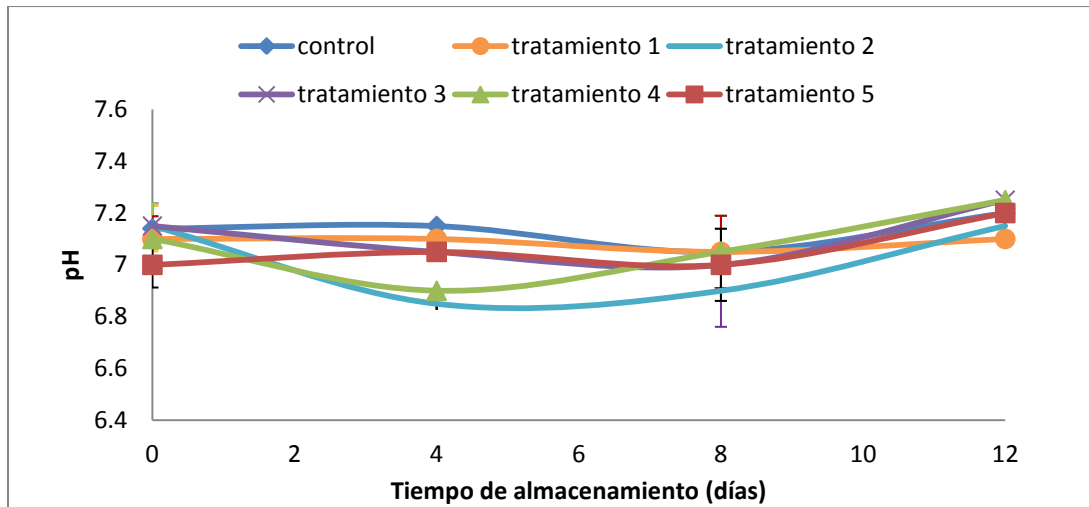
En el octavo día los frutos con recubrimiento registraron valores aproximados de 7 °Brix los cuales presentaron diferencia con respecto al control con un valor de 10.5 °Brix sin embargo en el último día las formulaciones 3 y 5 alcanzaron un valor de 8 °Brix, las formulaciones 1, 2 y 4 valores de 7.5, 6.5 y 7 °Brix. En este parámetro no se observó efecto significativo al final del almacenamiento

Datos similares se encontraron en diferentes trabajos dado el caso en fresas (Pérez y Ramos, 2006), con recubrimiento de gelatina a diferentes tiempos de inmersión, tuvieron valores menores en el control, pero tampoco se encontró diferencia entre tiempos de inmersión, dado el caso contrario en mangos recubiertos con quitosán y quitosán compuesto (Hernández, 2006) encontró que los mangos con los recubrimientos disminuyeron el valor de los sólidos solubles en comparación al control y entre ellos el que obtuvo valores menores fueron los mangos recubiertos solo con quitosán.

### ☉ pH

El aumento de pH está relacionado con los cambios en el contenido de acidez titulable en frutos de aguacate el ácido predominante es el ácido málico presentándose en frutos en estado de madures fisiológica del 0.33% (Rivas, 2009).

En la figura 26 se observa que el pH en los diferentes tratamientos se comporta de diferente manera, no encontrándose un efecto en este.



**Figura 24. Cambios en el pH del aguacate ‘Hass’ almacenado a 9°C. (Formulación 1:** cera de candelilla 10% con 5% de alcohol y 43% de agua, **formulación 2:** cera de candelilla 10% con 10% de alcohol y 38% de agua, **formulación 3:** cera de candelilla 10% con 17% de alcohol y 27% de agua, **formulación 4:** cera de candelilla 10% con 21% de alcohol y 27% de agua y **formulación 5:** cera de abeja con 23% de alcohol y 25% de agua). La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales.

El valor de pH en el primer día de almacenamiento tuvo valores aproximados de 7 para el control y los tratamientos, manteniéndose casi constantes hasta el cuarto día donde los tratamientos tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control, sin embargo los siguientes días se mantuvieron los valores de igual manera llegando hasta el último día con valores muy similares, donde sólo las formulaciones 2, 3 y 4 muestran diferencia con respecto a la formulación 1.

En distintos estudios se ha observado el mismo comportamiento que en el presente trabajo, en fresas con recubrimiento de gel mucilaginoso de penca y cera de carnauba (Restrepo *et al.*, 2010) se reportó un aumento en el pH en los días de almacenamiento pero, no se encontró una diferencia significativa entre recubrimientos y el control. En mangos tratados con 4 diferentes métodos, cera de carnauba, éster de sacarosa, hidrotérmico y cera de carnauba y éster de sacarosa con hidrotérmico, se obtuvo que los mangos con recubrimiento de cera y éster de sacarosa presentaron valores menores de pH y acidez, que los tratados con hidrotérmico (Cáceres *et al.*, 2003b).



Los recubrimientos ya sea céreos o no céreos fungen un papel importante para la disminución de la maduración de los frutos por lo que se tienen una mayor durabilidad del fruto que es lo que se pretendió en el presente trabajo.

Los tratamientos tuvieron un efecto en la firmeza, pérdida de peso y materia seca y en los parámetros como sólidos solubles y pH no se observó dicho efecto, como se mencionó anteriormente se pretendió elegir aquel tratamiento que disminuyera la maduración del aguacate por lo que se eligieron aquellas formulaciones que presentaron diferencia con respecto al control, estas fueron: 3 y 5, las cuales se utilizaron como vehículo para adicionarle las concentraciones de aceite esencial de limón y benomilo seleccionadas en el apartado 4.2.

### © COLOR

En la figura 27 se observa el cambio de color de los frutos de aguacate con los diferentes recubrimientos, estos fueron almacenados por 12 días en temperatura de 9°C.

La figura 27 muestra que los tratamientos presentaron un efecto en el color del aguacate. En el día cero se observó que en todas las formulaciones el color de los aguacates fue muy similar, teniendo un color verde.

En el tercer día el control y la formulación 2, disminuyeron su color verde a comparación a los demás tratamientos. En el sexto día el control adquirió el color negro debido a que estos van perdiendo su clorofila en su maduración, las formulaciones 4, 3 y 5 también manifestaron un cambio de color. Se puede atribuir a que las emulsiones no son homogéneas y estas permitieron el intercambio de gases del fruto, lo que ocasionó que no hubiera un retardo en la maduración y en el cambio de color.

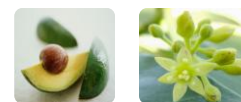
El noveno día se percibió que el control cambió completamente a color negro teniendo una pérdida de clorofila a comparación de los demás tratamientos y en el doceavo día se observó que los tratamientos aún mantuvieron pigmentos verdes, lo que retardaron por más tiempo la pérdida de la clorofila.





Días	Control	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
0				
3				
6				
9				
12				

**Figura 25.** Comportamiento de la aplicación de las diferentes formulaciones de ceras en los aguacates 'Hass'. **Formulación 1:** cera de candelilla 10% con 5% de alcohol y 43% de agua, **Formulación 2:** cera de candelilla 10% con 10% de alcohol y 38% de agua, **Formulación 3:** cera de candelilla 10% con 17% de alcohol y 27% de agua.



Días	control	Formulación 4	Tratamiento 5
0			
3			
6			
9			
12			

**Figura 27** Comportamiento de la aplicación de las diferentes formulaciones de ceras en los aguacates. **Formulación 4:** cera de candelilla 10% con 21% de alcohol y 27% de agua y **Formulación 5:** cera de abeja con 23% de alcohol y 25% de agua (continuación).

Los recubrimientos utilizados tuvieron un efecto en la pérdida del color, ya que este al disminuir su respiración por ende disminuyeron su maduración y retardaron la pérdida de color, se ha registrado en varias estudios resultados similares, como en el realizado por Meir *et al.*, (1995) en aguacate donde reportaron cambios menores de color al almacenar los aguacates en atmósferas controladas comparándolas con condiciones normales. En mango “Super Haden”, se compararon tratamientos de inmersión de agua y encerado de



carnauba; donde se observó que los tratados con cera mantuvieron su color amarillo con manchas verdes, mientras que los inmersos en agua caliente su color fue amarillo completamente (Cáceres *et al*, 2003b).

#### **4.4 Efecto de los recubrimientos de cera adicionados con fungicidas químicos y naturales sobre los parámetros de calidad, fisiológicos del aguacate.**

El aguacate es un fruto perecedero y aunado a un posible mal manejo poscosecha y un inadecuado almacenamiento, se pueden ocasionar diversas enfermedades causando pérdidas de la calidad durante su comercialización y distribución. Para evitar este tipo de pérdidas se han utilizado diversos métodos agroquímicos sintéticos como insecticidas, bactericidas y fungicidas; sin embargo su utilización masiva ha incrementado la población de organismos y su resistencia, por lo que ha aumentado el costo de producción y problemas ambientales. Esta situación ha llevado a investigar productos naturales derivados de las plantas con propiedades antifúngicos presentes en sus metabolitos secundarios (Bernal *et al.*, 2005).

Se propone para mantener la calidad del aguacate en su distribución y su exportación un recubrimiento de cera que ayude a retrasar la maduración y un fungicida natural para inhibir el crecimiento de antracnosis en el aguacate.

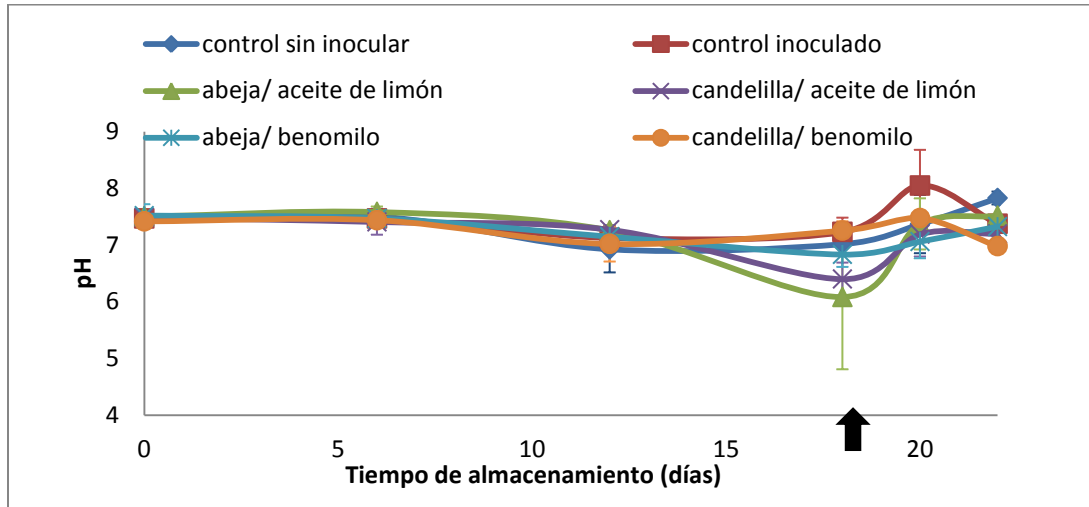
Para evaluar el efecto de los recubrimientos y de los fungicidas se realizaron dos repeticiones y para obtener una mejor visibilidad del desarrollo de la enfermedad de la antracnosis, se decidió añadir un control sin inocular y un control inoculado, ambos sin recubrimiento, esto para tener una referencia del estado en la cual los aguacates se encontraban con respecto a la enfermedad que pudieran tener desde el campo.

##### **4.4.1 Efecto en el pH**

Este parámetro proporciona una medida de la acidez o alcalinidad de un fruto. Este es el principal factor que determina la supervivencia y el crecimiento de los microorganismos durante el procesamiento, el almacenamiento y la distribución.



En la figura 28 se observa el efecto de los recubrimientos de cera en el pH de los aguacates variedad 'Hass', en donde se contempla que en el cambio de temperatura tiene un efecto en el pH dejando de ser constante.



**Figura 26.** Efecto de los recubrimientos en el pH de los frutos de aguacate 'Hass'. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales. La flecha indica la transferencia a 25 °C.

En los primeros días no se observó un cambio de pH de los frutos, hasta el trasladaron a temperatura ambiente, donde el menor valor obtenido fue el de cera de abeja con aceite esencial de limón con 6 a comparación del control inoculado con 7; se encontró que los tratamientos de cera de abeja con aceite de limón y cera de candelilla con aceite de limón tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con los controles y el tratamiento de cera de candelilla con benomilo. En el vigésimo día los tratamientos de cera de abeja y candelilla con aceite de limón, y cera de abeja con benomilo tuvieron diferencia con respecto a los controles.

En el vigésimo segundo día los controles y los tratamientos se mantuvieron con un valor de 7. En este día no se encontró diferencia con respecto a los controles;

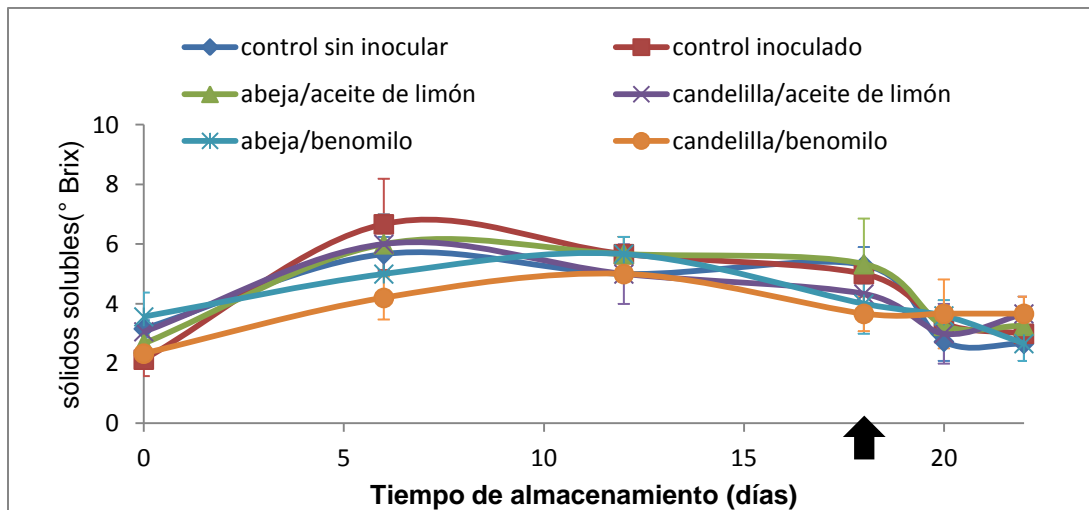
En este parámetro no hubo un efecto significativo manteniendo el aguacate casi en la neutralidad, en varios estudios realizados con recubrimientos, se observó el mismo efecto, tal es el caso ocurrido en papaya maradol, donde se le aplicaron dos tratamientos de cera con compuestos de aceite mineral, ácidos grasos y carbohidratos y un testigo. Las papayas fueron almacenadas por 12 días y se observó que sus parámetros de pH, sólidos



solubles y acidez titulable tuvieron una tendencia normal a la maduración de la papaya, no teniendo una disminución o algún efecto menor al testigo. Por lo que se concluyó que los recubrimientos no afectaron a este parámetro (Petit *et al.*, 2010).

#### 4.4.2 Efecto de los sólidos solubles

Los sólidos solubles es el cambio que está asociado a la maduración de los frutos y estos están formados, fundamentalmente por azúcares reductores y no reductores y por los ácidos orgánicos (Primo, 1997). En la figura 29 se muestra el efecto que tuvieron los recubrimientos en los sólidos solubles del aguacate, observando que su tendencia es a disminuir.



**Figura 27.** Efecto de los recubrimientos en los sólidos solubles de los frutos de aguacates 'Hass'. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales. La flecha indica la transferencia a 25°C

En el primer día de almacenamiento el control inoculado tuvo un valor de 2 °Brix y el control sin inocular de 3°Brix, los tratamientos mantuvieron valores aproximados de 2.8 °Brix obteniendo que el tratamiento de cera de candelilla con aceite esencial de limón y cera de abeja con benomilo, tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el control el control inoculado. Hubo diferencias significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre controles.



En el sexto día se observó un aumento en los sólidos solubles en donde el que presentó un aumento fue el control inoculado con un valor de 6.6 °Brix y el tratamiento que mantuvo un valor menor a este fue el tratamiento de cera de candelilla con benomilo con 4 °Brix, los demás tratamientos se mantuvieron aproximadamente con un valor de 6 °Brix. Los controles tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre ellos y el tratamiento de candelilla con benomilo tiene diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control inoculado.

En el decimo octavo día se trasladaron a temperatura ambiente, los sólidos solubles comenzaron a disminuir a 3°Brix en todos los casos, manteniéndose así hasta el último día de almacenamiento no encontrando diferencia significativa en ninguno de los tratamientos con respecto al control.

La aplicación de los tratamientos no afectó la concentración de sólidos solubles durante el almacenamiento, presentando solo una ligera disminución debido a la maduración del aguacate.

Los resultados obtenidos son similares al estudio realizado en zarzamoras donde estas fueron sumergidas en soluciones de gelatina al 2 y 3% con tiempos de inmersión de 5 y 10 minutos y fueron almacenadas por 11 días, encontraron que los recubrimientos no tuvieron efecto en los sólidos solubles pues éstos aumentaron por la maduración del fruto pero no disminuyeron con respecto al control (Navarrete, 2009)

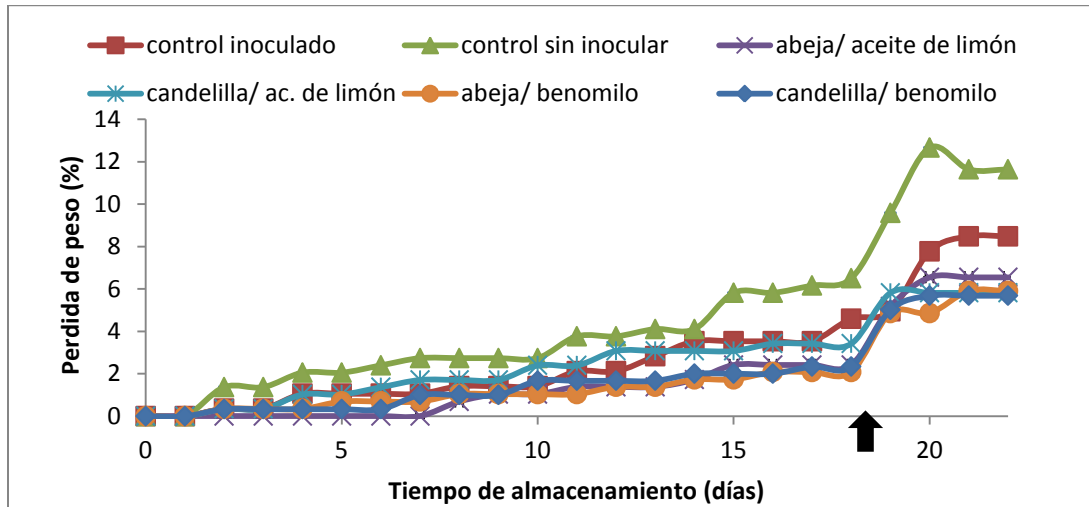
#### **4.4.3 Efecto en la pérdida de peso**

El agua es uno de los principales componentes de las frutas y hortalizas para realizar sus procesos vitales, los frutos pierden una gran cantidad de agua mediante la transpiración. Es por ello que es importante mantener al producto a una humedad relativa adecuada, ya que esta puede ocasionar pérdida de masa, reducción del tamaño del fruto y pérdida de calidad cuando alcanza un nivel tal que el metabolismo se modifica provocando una aceleración del proceso de alteración del fruto (Pérez y Ramos 2006).



La pérdida de peso en este experimento es importante ya que es un indicador sobre la función del recubrimiento de cera, el cual se espera que ayude a controlar la pérdida de peso y por consiguiente retrasar la senescencia.

En la figura 30 se observó una disminución en la pérdida de peso de los aguacates con recubrimiento con respecto al experimento control sin recubrimiento.



**Figura 28.** Efecto de los recubrimientos en la pérdida de peso de los frutos de aguacates ‘Hass’. La flecha indica la transferencia a 25°C.

En los primeros días de almacenamiento de los frutos de aguacate no hubo un cambio en la pérdida de peso con respecto al control, se encontró diferencia significativa a partir del tercer día donde el tratamiento de cera de abeja con aceite esencial de limón tuvo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el control sin inocular.

En el decimo día se observó un aumento de la pérdida de peso, donde el control inoculado presentó valores del 1.4 % y el control sin inocular 2.7%, seguido por el tratamiento de cera de candelilla con aceite de limón con 2.3 %, cera de candelilla con benomilo y cera de abeja con benomilo con 1.6%, siendo estos los tratamientos que tuvieron menor pérdida en este día. El tratamiento de cera de candelilla con benomilo, cera de abeja con aceite de limón y cera de abeja con benomilo presentaron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control sin inocular.



En el decimo octavo día, el tratamiento de cera de candelilla con benomilo presentó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con los controles. En este día se observó un aumento en la pérdida de peso siendo este día la transferencia de temperatura de almacenamiento, donde el control inoculado registró un valor de 4.5% de pérdida de peso y el control sin inocular de 6.5%, el tratamiento que mantuvo un menor valor fue el tratamiento de cera de abeja con benomilo con 2%.

En el último día de almacenamiento, los tratamientos se mantuvieron con una pérdida de peso menor que los controles que tuvieron valores aproximados del 10 %, los tratamientos que tuvieron menor pérdida de peso durante el almacenamiento fueron los de cera de candelilla con benomilo con 5.6 % de pérdida de peso y cera de abeja con benomilo con 5.9%. En este día se obtuvo que todos los tratamientos presentaron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control sin inocular y el inoculado.

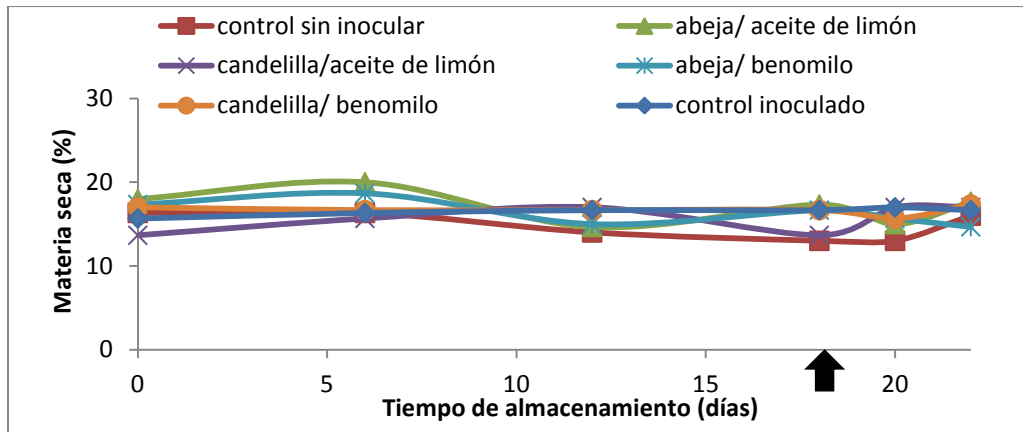
Por lo que se concluye que, los recubrimientos ayudan a mantener por más tiempo la humedad del aguacate, disminuyendo su deterioro tanto por la enfermedad así como también su maduración.

En el trabajo de Salvador *et al.*, (1999) se observó que la película de quitosán aplicada al aguacate 'Hass' con concentraciones de 0.25 a 2% disminuyó un 10% la pérdida de peso con respecto al control, al igual que inhibió el crecimiento de *colletotrichum gloeosporioides* y *Diplodia*. La aplicación de recubrimiento de cera de candelilla con ácido elálgico en manzana, disminuyó la pérdida de peso hasta un 56% con respecto a los frutos sin recubrimiento, así como sus parámetros de calidad se mantuvieron por más tiempo (Saucedo *et al.*, 2007). Estos resultados fueron similares a los obtenidos en el presente trabajo ya que los recubrimientos disminuyeron la pérdida de peso de los frutos de aguacate.

#### 4.4.4 Efecto de la materia seca

La materia seca es uno de los parámetros de calidad, que aunado a la pérdida de peso indica pérdida de humedad del fruto de aguacate. En la figura 31 se muestra este parámetro. La materia seca no se afectó notoriamente por los tratamientos.





**Figura 29.** Efecto de los recubrimientos en la materia seca de los frutos de aguacates ‘Hass’. La flecha indica la transferencia a 25°C.

Durante el almacenamiento se observó que la materia seca no fue afectada por los tratamientos ni por los días de almacenamiento. Los tratamientos de cera de abeja con aceite esencial de limón y benomilo y el tratamiento de candelilla con benomilo tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los controles. En el sexto día se observó que el tratamiento de cera de abeja con aceite de limón presentó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con todos los tratamientos y los controles.

Los valores que se obtuvieron fueron muy similares entre tratamientos y los controles, no encontrando un efecto al cambio de temperatura en este parámetro. En los siguientes días no se encontró diferencia significativa con respecto a los controles.

Diversos estudios han demostrado que los recubrimientos tienen la capacidad de disminuir la pérdida de humedad, en el presente trabajo, la materia seca según la norma NMX-FF-016-SCFI-2006 está relacionada con la calidad del aguacate y la humedad que este contiene, la cual se debe cumplir con un porcentaje mínimo de 21.5% de materia seca, pero no se ha encontrado trabajos que midan este parámetro. Es por ello que se relacionó con trabajos que se han observado pérdida de humedad como es el caso de un recubrimiento cera de candelilla y utilizando ácido elálgico como fungicida en aguacate ‘Hass’ para aumentar su vida de anaquel e inhibir el crecimiento del hongo *Fusarium oxysporum*. Diversos tratamientos se usaron, siendo un control sin cobertura sin inocular, control con cubierta sin inocular y 3 tratamientos con cobertura adicionando concentraciones de 0.05, 0.01 y 0.015% de ácido elálgico y se almacenaron por 6 semanas, los frutos con recubrimiento presentaron una menor pérdida de humedad que los controles sin recubrimiento, obteniendo que el recubrimiento con un porcentaje de



0.01 inhibió el crecimiento del hongo *Fusarium oxysporum* y disminuyó su pérdida de humedad a comparación de los demás tratamientos (Rojas *et al.*, 2009).

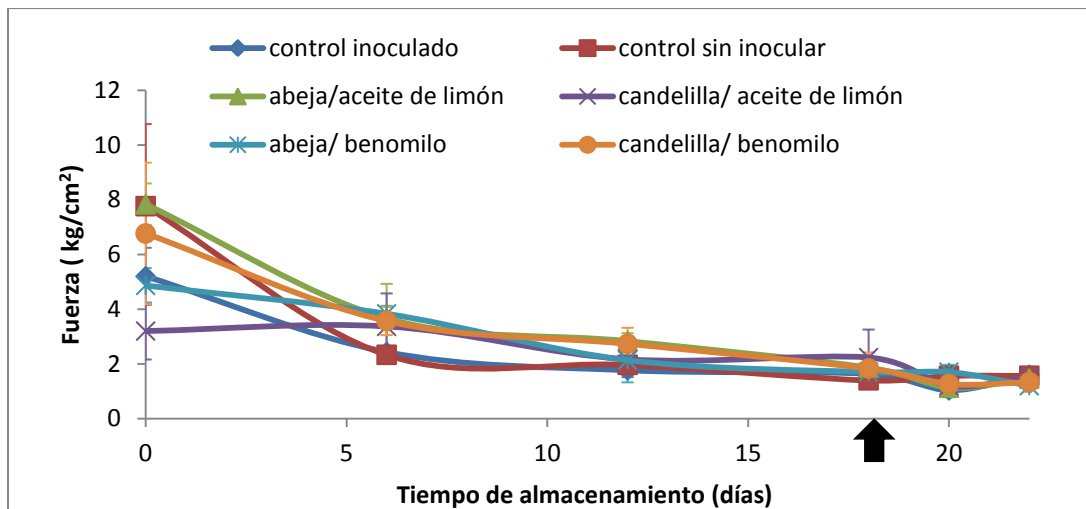
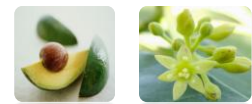
Los recubrimientos con bases ceras se ha demostrado que disminuyen la pérdida de humedad y peso, debido a que este forma una barrera al agua entre el fruto y el ambiente que lo rodea, evitando así la transferencia externa, pero se ha demostrado que también algunos polisacáridos evitan esta transferencia, tal es el caso del gel de Aloe vera, el cual se utilizó en cerezas *Prunus avium* y uva *vitis vinífera*. Se almacenaron a temperatura de 1°C y 95% HR por 21 días y 4 días a temperatura ambiente, la cual disminuyó la pérdida de la humedad significativamente con respecto al control así como también retraso la podredumbre (Martínez *et al.*, 2006). Estos trabajos no coincidieron con los resultados obtenidos en el presente trabajo ya que no hubo un efecto de los tratamientos en este parámetro.

#### 4.4.5 Efecto de la firmeza

La firmeza es afectada, tanto por el almacenamiento y la enfermedad por hongos. Los tejidos de sostén hacen variar la textura de las frutas y hortalizas; en el caso de los aguacates, la cutícula gruesa, combinada con el colénquima, da dureza a las capas exteriores (Rivas, 2009).

En la figura 32 se observa que la firmeza disminuyó, tanto para frutos con recubrimiento como los controles.

La firmeza presentó una tendencia a disminuir, esto debido al proceso normal de maduración del fruto de aguacate, se observó que los controles registraron una menor firmeza que los tratados con las formulaciones. Al inicio del almacenamiento se obtuvo que la formulación con cera de candelilla con aceite de limón presentó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control inoculado y con los tratamientos de cera de abeja aceite de limón y cera de candelilla con benomilo.



**Figura 30.** Efecto de los recubrimientos en la textura de los frutos de aguacates ‘Hass’. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales. La flecha indica la transferencia a 25°C.

En el sexto día se observa una disminución de la firmeza presentando el control sin inocular 70% y el control inoculado 53.8%, la formulación que mantuvo una menor pérdida de firmeza con respecto al inicio del almacenamiento fue el tratamiento de cera de abeja con benomilo con un 20.8%.

En el doceavo día las formulaciones de cera de abeja con aceite esencial de limón y cera de candelilla con benomilo tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control sin inocular.

En el último día de almacenamiento (22) el control sin inocular tuvo una pérdida de firmeza del 80.5% y el control inoculado 69.2%, la formulación de cera de abeja con aceite de limón. En el vigésimo segundo día se observó que todas las formulaciones no tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los controles.

Los frutos con tratamientos mantuvieron por más tiempo su firmeza, ya que este parámetro está relacionado con el grado de madurez de los frutos, los recubrimientos disminuyeron la madurez ya que en la figura 32 se aprecia que todas las formulaciones se encuentran por encima de los controles, esto debido a que al ser infectado con el hongo *colletotrichum gloeosporioides* afecta la degradación de la pared celular, lo que afecta su textura. Las formulaciones que mantuvieron por mayor tiempo la firmeza fueron los de cera de abeja con aceite de limón y cera de candelilla con benomilo, sin embargo no se observó diferencia significativa con respecto a los frutos sin tratamiento.



Diversos trabajos han demostrado que los recubrimientos con ceras han ayudado a mantener la firmeza de los frutos con respecto a sus frutos testigos, tal es el caso en aguacate, al cual se le aplicaron varios tratamientos: I- inmersión de teabendazol, II- cera polietilénica, III- inmersión en agua caliente en 50°C por 2 minutos y IV- combinación de los tratamientos I, II y III, el tratamiento que tuvo mejores resultados en cuanto a apariencia y firmeza fueron los de cera, y aquel que su firmeza fue menor igualándose al los frutos testigo fueron los tratados con agua caliente (Cáceres *et al.*, 2003c).

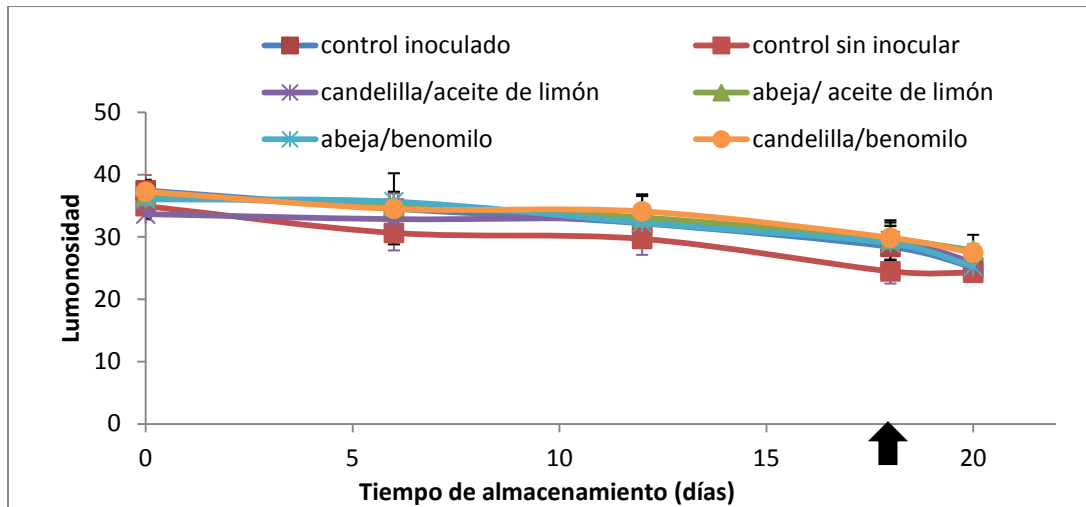
#### 4.4.6 Efecto en el color

El color es el parámetro más evidente del aguacate en su maduración que conjuntamente con su maduración los pigmentos verdes se descomponen y dejan aparecer las coloraciones rojas, amarillas y negras (Acevedos, 1986). Los tres atributos básicos de color son: la luminosidad que está asociada con la brillantez, el tono indica la tonalidad del matiz y da una idea más clara del color y croma da el grado de saturación del tono o la intensidad de este (Rivas, 2009).

##### **Luminosidad.**

La luminosidad (L) está asociada con la brillantez, que depende del flujo luminoso que es transmitido por la muestra; a escala de 0 (negro) a 100 (blanco). En la figura 33 se muestra que la luminosidad de los aguacates disminuyó conforme pasaban los días de almacenamiento, esto como se ha mencionado al cambio de color de los aguacates en su maduración.

El control sin inocular se mantuvo por debajo del control inoculado y los demás tratamientos, ya que este mantuvo valores de luminosidad más bajos que los demás tratamientos. En el primer día de almacenamiento los valores se mantuvieron aproximadamente en 36, no encontrándose diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) en ninguno de los tratamientos con respecto al control.



**Figura 31.** Efecto de los recubrimientos en la luminosidad de los frutos de aguacates 'Hass'. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales. La flecha indica la transferencia a 25°C.

En el sexto día de almacenamiento se encontró que los tratamientos de cera de abeja con aceite esencial de limón y benomilo, tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control sin inocular. En el doceavo día el tratamiento de cera de candelilla con benomilo tuvo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control sin inocular.

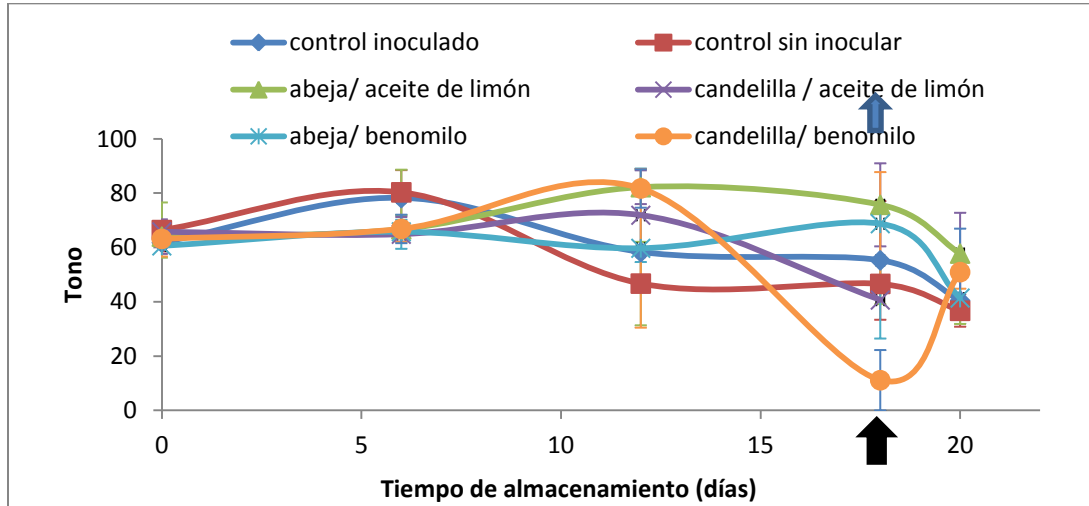
En el cambio de temperatura (18) los valores disminuyeron aproximadamente a 29, no se encontró diferencia significativa hasta el día 20, el tratamiento de cera de abeja con aceite esencial de limón y cera de candelilla con benomilo tuvieron diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ) con respecto a los controles y en el último día de almacenamiento (22) se observó que los controles, cera de abeja con benomilo y cera de candelilla con aceite esencial de limón tuvieron valores de L aproximadamente de 24 y los tratamientos de candelilla con benomilo y cera de abeja con aceite esencial de limón L fue de 27. A pesar que la luminosidad fue ligeramente inferior en los frutos sin tratamiento a lo largo del almacenamiento comparado con los frutos con cera, al final no se encontró diferencia significativa entre ellos.

### Tono

El tono indica la tonalidad del matiz, el cual es el ángulo °Hue, este brinda una idea más clara del color, es decir, la impresión visible del color del fruto. Los valores van desde 0°= rojo-púrpura, 90°= amarillo, 180°= azules-verde hasta 270°= azul.



En la figura 34 se presentan los valores obtenidos en frutos con tratamiento y controles.



**Figura 32.** Efecto de los recubrimientos en el tono de los frutos de aguacates 'Hass'. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales. La flecha indica la transferencia a 25°C.

Los valores que se obtuvieron se comportaron de diferente manera, los valores en el primer día fueron para el control inoculado 66.42 °Hue y en el control sin inocular fue de 61.81°H el tratamiento que obtuvo el menor valor fue el tratamiento de cera de abeja con benomilo con 60.5 °Hue. En el sexto día de almacenamiento todos los tratamientos tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los controles.

En el día del cambio de temperatura (18) se observó que los controles disminuyeron sus valores, donde el control inoculado tuvo un valor de 46.59 °Hue y el control sin inocular 55.2 °Hue en algunos tratamientos aumentaron hasta 70 °Hue tal es el caso de cera de abeja con aceite de limón y candelilla con aceite de limón. En este día todos los tratamientos presentaron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control sin inocular.

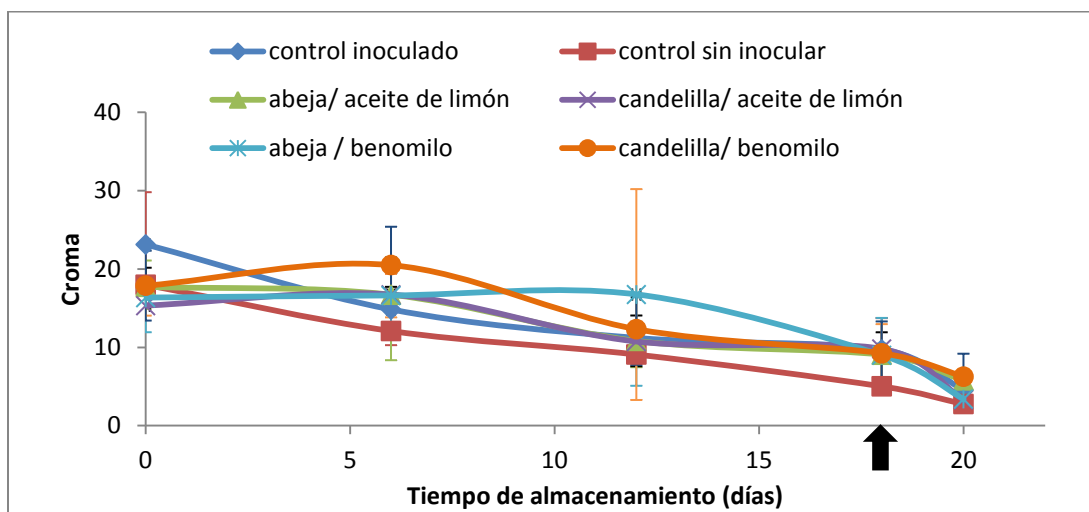
En el último día de almacenamiento (22) los valores disminuyeron, el control inoculado tuvo un valor de 36.69 y 40.44 °Hue para el control sin inocular; los tratamientos alcanzaron valores mayores; siendo el tratamiento de cera de abeja con aceite de limón el que presentó 57.78 °Hue seguido de cera de candelilla con benomilo 50.94 °H, indicando que estos dos tratamientos mantuvieron el color verde a comparación de los controles que disminuyó su valor señalando que se acercaban al color púrpura. En este día se encontró



que el tratamiento de cera de abeja con aceite de limón presentó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con todos los tratamientos y los controles.

### Cromaticidad

La cromaticidad indica el grado de saturación del tono o la intensidad de este; también muestra que tanto un color difiere del gris (Rivas, 2009). En la figura 35 se observa que este parámetro tiende a disminuir presentando, una tendencia similar para todos los tratamientos.



**Figura 33.** Efecto de los recubrimientos en la cromaticidad de los frutos de aguacates 'Hass'. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales. La flecha indica la transferencia a 25°C.

En la figura 35 se observó que este parámetro tiende a disminuir de forma natural debido a la maduración. Los valores obtenidos en el primer día de almacenamiento fueron para el control inoculado 23.1 y para el control sin inocular 17.9; los tratamientos mantuvieron un valor aproximado de 17. El tratamiento de cera de candelilla con aceite esencial de limón y benomilo presentaron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control inoculado.

En el sexto día se encontró que el tratamiento de cera de candelilla con benomilo presentó diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto a los controles.

En el último día (22) de almacenamiento este valor disminuyó para el control inoculado con 4.5 y para el control sin inocular 2.7, teniendo en cuenta que el control infectado con el hongo también afectó en su maduración; los tratamientos que tuvieron menor valor de



cromaticidad fueron el tratamiento de cera de candelilla con aceite de limón y cera de abeja con benomilo, los cuales tuvieron valores aproximados de 3, los demás tratamientos llegaron a valores de 6. En este día se tiene que hay diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con los controles pero el tratamiento de cera de candelilla con aceite esencial de limón y cera de abeja con benomilo presentaron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el tratamiento de cera de abeja con aceite esencial de limón y cera de candelilla con benomilo.

En el aguacate 'Hass' al comenzar su maduración, el color verde va disminuyendo debido a la degradación de la clorofila, lo que su tono tiende a disminuir. Los recubrimientos al disminuir sus parámetros fisiológicos, disminuyen también su maduración que a su vez se ve reflejado en el cambio de color.

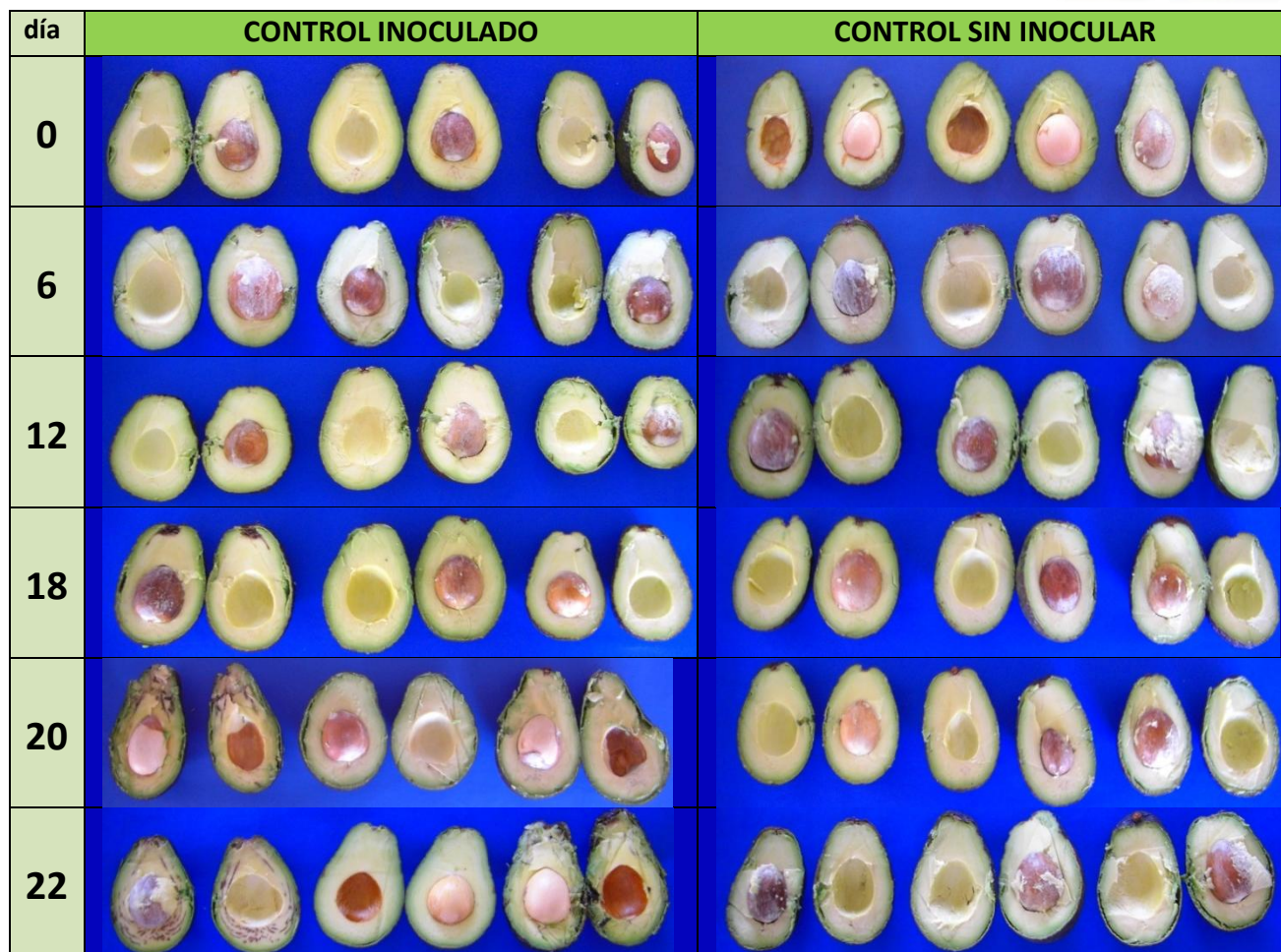
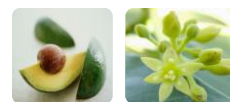
En mandarina *Clemenules* fue aplicado dos recubrimientos el primero fue cera de carnauba al 18-20%, resinas y sólidos solubles, el segundo cera a base de shellac (10-12%), resina (6-8%) y sólidos totales. Se almacenaron 45 días a 6 °C y 7 días a temperatura ambiente. Las mandarinas mantuvieron por más tiempo su color verde disminuyendo sus parámetros de calidad con respecto al control (Valencia, 2008). En fresas almacenadas a 5°C por 20 días, se utilizaron 3 recubrimientos a base de mucilago de linaza: A- 100% de mucilago de linaza, B- 80% de mucilago de linaza y C-70% de mucilago de linaza, se obtuvo que la luminosidad, el tono y el croma se mantuvieron por más tiempo en comparación al control, los tratamientos B y C fueron aquellos que mantuvieron mejor color (Díaz *et al.*, 2010). En el presente trabajo se obtuvo la disminución del oscurecimiento de los aguacates que fueron recubiertos por cera a comparación de los frutos sin tratamiento.

En las figuras 36, 37 y 38 se observa las imágenes de los aguacates con los diferentes tratamientos a base de cera en diferentes momentos del almacenamiento.

En el primer, sexto y doceavo día de almacenamiento se observó que los aguacates mantienen el color verde característico de la pulpa.

En el día decimo octavo en el traslado de temperatura de almacenamiento, se observó que el control inoculado en uno de los aguacates hay ligero pardeamiento de la pulpa, síntoma indicativo de que la enfermedad comenzó a desarrollarse; en cambio el control sin inocular mantuvo el color característico de la pulpa.



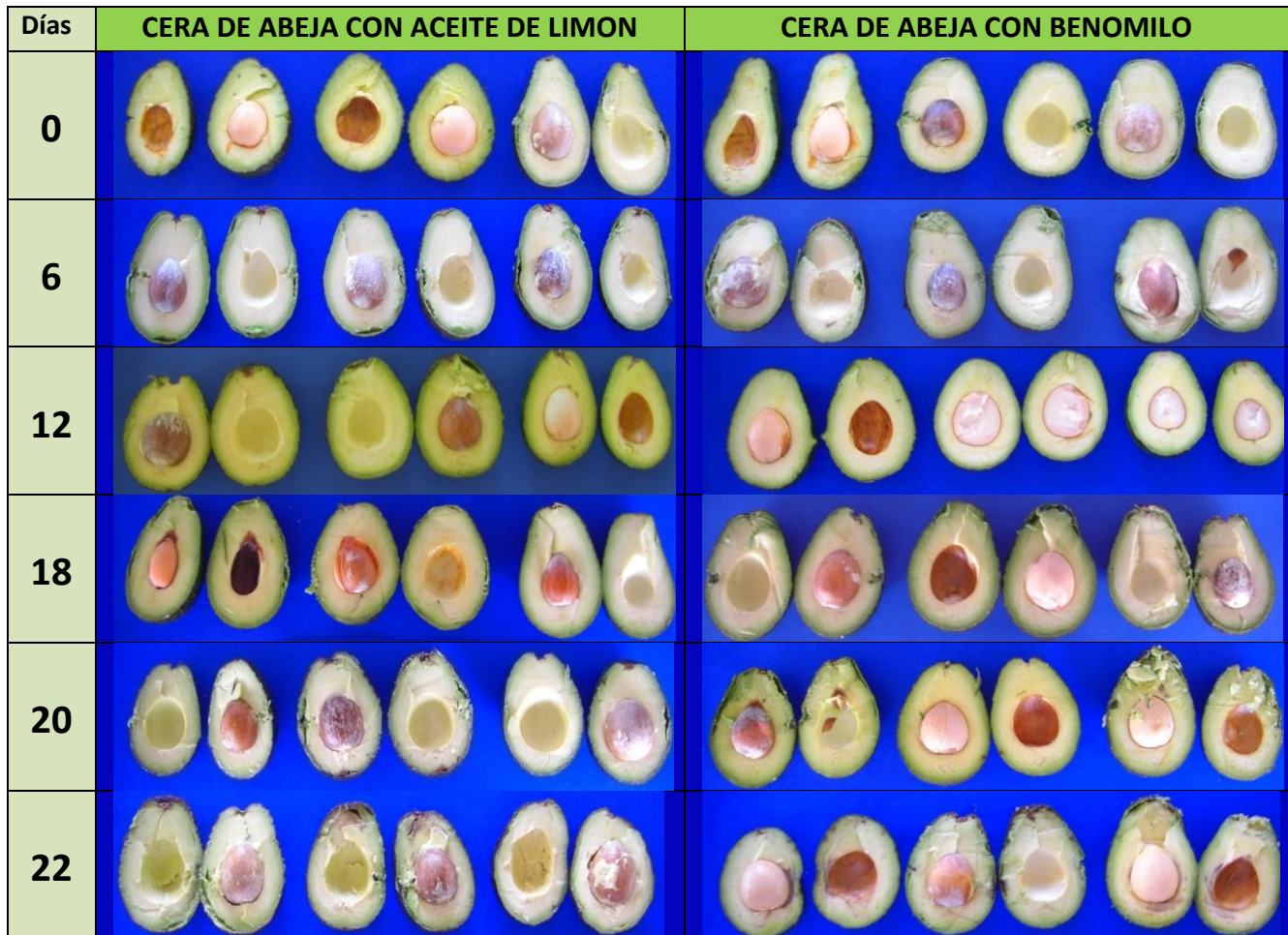


**Figura 34.** Desarrollo de antracnosis en el aguacate ‘Hass’ en los frutos control inoculado y control sin inocular.

En el vigésimo día se observó el oscurecimiento de la pulpa de los frutos del control inoculado, en cambio los frutos del control sin inocular no presentaron pardeamiento interno.

En el último día de almacenamiento (día 22) se observó que el control inoculado presentó pardeamiento interno y aumentó a comparación del día vigésimo, mientras que los frutos del control sin inocular comenzó el oscurecimiento de la pulpa.

En la figura 37 se muestran las imágenes de cera de abeja con aceite esencial de limón y el benomilo.



**Figura 35.** Desarrollo de la antracnosis en el aguacate ‘Hass’ tratados con cera de abeja y benomilo.

A partir del decimo octavo día, se observó que los controles inoculados y sin inocular presentan pardeamiento en su pulpa y los frutos de cera de abeja con aceite esencial y benomilo no presentaron síntomas de enfermedad. En el día vigésimo en los frutos con recubrimiento no se observa desarrollo de la enfermedad, al contrario del control inoculado y sin inocular, en la cual el pardeamiento de la pulpa fue visualmente más notorio.

En el último día de almacenamiento (día 22), los frutos tratados con cera de abeja con aceite esencial de limón presentó el desarrollo de la enfermedad y el control inoculado mostró mayor pardeamiento y en el control sin inocular se presentó el inicio del desarrollo de la enfermedad. El recubrimiento con benomilo retardo por completo en este día la aparición del hongo, lo que tanto el recubrimiento como el benomilo fueron efectivos para inhibir el crecimiento del hongo y para retardar la maduración del aguacate.



En la figura 38 se observan los frutos tratados con cera de candelilla con aceite esencial de limón y benomilo.

días	CERA DE CANDELILLA CON ACEITE DE LIMÓN	CERA DE CANDELILLA CON BENOMILO
0		
6		
12		
18		
20		
22		

**Figura 36.** Desarrollo de la antracnosis en el aguacate 'Hass' tratados con cera de candelilla con benomilo y aceite esencial de limón.

En el primer día de almacenamiento, en el sexto y el doceavo, se observó que no hubo pardeamiento en la pulpa del aguacate, manteniéndose sin rastros de la enfermedad de la antracnosis.

A partir del decimo octavo y en el vigésimo día los frutos del control sin inocular y los tratados con cera de candelilla con aceite esencial de limón y benomilo no presentaron oscurecimiento en la pulpa a comparación del control inoculado, en donde en estos dos días los frutos presentaron la enfermedad.

En el último día de almacenamiento (día 22), los frutos del control sin inocular y los tratados con cera de candelilla con aceite esencial de limón y con benomilo presentaron desarrollo de la enfermedad, observándose el comienzo del pardeamiento de la pulpa, en



el control inoculado el desarrollo de la antracnosis fue más notorio. Estos recubrimientos retardaron la aparición del hongo, comparados con los frutos del control inoculado, se observaron menos afectados por la enfermedad.

Se ha reportado en distintos trabajos realizados con fungicidas químicos como fungicidas extraídos de metabolitos secundarios de plantas han tenido un efecto en la inhibición del crecimiento del hongo *C. gloesporioides*, tal es el caso en la cual se utilizó cepas de *C. gloesporioides* extraídas del mango y se realizaron pruebas *in vitro* utilizando extractos de swinglea (extracto de una planta de limón ornamental), capcialil (concentrado de ajo), desfan 100 (extracto de cítricos de semillas de toronja y naranja), ecoswing (extracto de cítricos), Xplode (compuesto bioquímico de capsaicina y alicina) y extracto de lefaria (extraído de un cactus llamado *cereus deficiens*) y se observó que el extracto de desfan 100 obtuvo una mejor inhibición del crecimiento del hongo (Aguirre, 2008).

En el mango se manejaron 16 tratamientos incluyendo dos testigos (infestado de *C. gloesporioides* y sin inocular) en la cual consistían en  $\text{CaCl}_2$ , benomilo, azoxytrobin, trifloxystroin a diferentes concentraciones, hidrotérmico, y la combinación de hidrotérmico con los fungicidas mencionados. Los mejores resultados de inhibición fueron para el fungicida azoxytrobin en combinación con el hidrotérmico, presentaron mayores niveles de efectividad, se observó que los fungicidas combinados con hidrotérmico fueron más efectivos que individualmente (Gutiérrez *et al.*, 2004).

En papaya maradol, en donde se controló el crecimiento de antracnosis empleando 3 antifúngicos, en la cuales 2 eran naturales extraídos de ajo y eucalipto y un fungicida químico Imazalil y observaron que estos dos extractos inhibían el crecimiento del hongo al igual que el Imazil (Baños *et al.*, 2004), en nuez pecanera, los aceites esenciales de canela y orégano inhibieron la producción de aflatoxinas (García *et al.*, 2006) y en uvas, se utilizaron envases activos con aceites esenciales del timol, eugenol y carvacrol, la cual fue utilizado para evitar la podredumbre *Botrytis cinérea*, obteniendo un retraso en su maduración e inhibición del crecimiento de mohos y levaduras (Valverde *et al.*, 2006). Estos resultados son similares a los obtenidos en el presente trabajo, ya que el fungicida químico (benomilo) y natural (aceite esencial de limón) inhibieron el crecimiento del hongo.

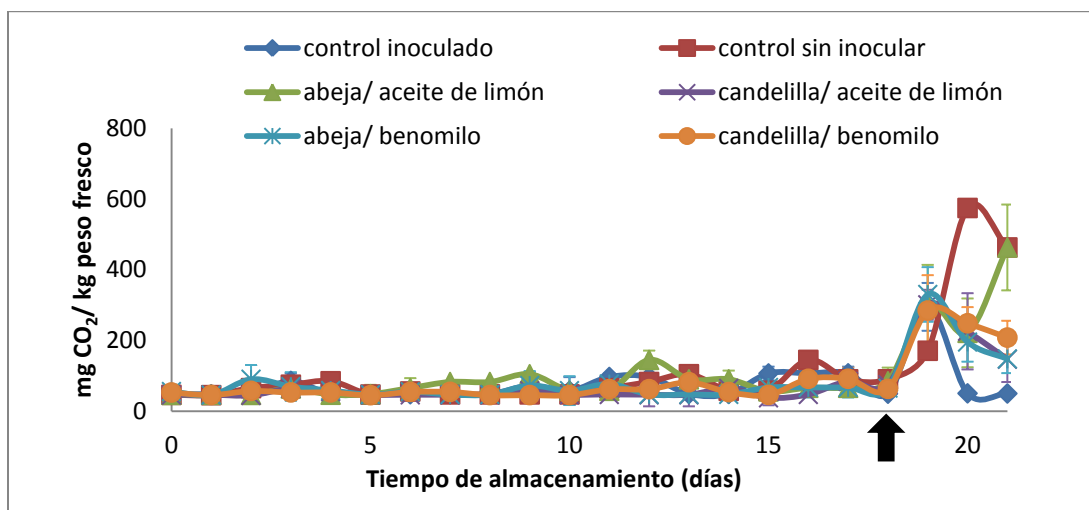


#### 4.4.7 Efecto en la respiración

La respiración es un parámetro importante que se debe evaluar al aplicar recubrimientos, pues este nos determina la vida de anaquel que tendrá el fruto, así como las condiciones a las que debe de ser almacenado (Rivas, 2008)

La evolución de la maduración se puede medir con la intensidad respiratoria, siendo la cantidad de CO<sub>2</sub> que desprende el fruto, en un tiempo determinado, pues este parámetro puede determinar la etapa de maduración, en la cual se encuentra el fruto (Rodríguez, 1982).

En la figura 39 se observa la producción de CO<sub>2</sub> de los aguacates infectados con el hongo *colletotrichum gloeosporioides* y dos lotes control uno inoculado con el hongo y otro sin presencia del microorganismo.



**Figura 37.** Respiración de los frutos del aguacate ‘Hass’ con los diferentes recubrimientos. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales. La flecha indica la transferencia a 25°C.

La respiración de los frutos de aguacate se mantuvieron casi constantes hasta el cambio de temperatura, en donde el fruto sufrió un aumento en su respiración y posteriormente disminuyó, esto fue atribuido a que el aguacate al tener un cambio de temperatura y aunado a la enfermedad, entra drásticamente a su estado climaterio y casi enseguida a su máximo climaterio hasta llegar a su posclimaterio, en donde se observa una disminución en su respiración lo que indica el inicio de la senescencia.



A partir del tercer día se encontró que los controles tuvieron valores de %CO<sub>2</sub> similares a 80 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h teniendo para este día que los tratamientos de aceite de limón con cera de candelilla y abeja, tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control inoculado y sin inocular con valores de 63 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h. En el quinto día, se observó que los tratamientos de cera de candelilla con aceite esencial de limón y benomilo tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control inoculado, y los tratamientos de cera de abeja con aceite de limón y benomilo. En el decimo cuarto día, el control inoculado y todos los tratamientos tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con respecto al control sin inocular y el tratamiento de cera de abeja con aceite de limón tuvo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con los tratamientos de candelilla con aceite esencial de limón y cera de abeja con benomilo donde se observó que los controles tuvieron valores aproximados de %CO<sub>2</sub> de 52 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h, el tratamiento que se mantuvo con valores menores a los controles fue el de cera de abeja con benomilo con un valor de 47 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h,. En el decimo octavo día, momento de transferencia de temperatura se de almacenamiento, se observó que aumentó la respiración de todos los tratamientos y controles, registrándose para el control sin inocular 90 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h y para el inoculado 49 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h; en cuanto a los tratamientos, el que obtuvo una menor producción de CO<sub>2</sub> fue el tratamiento de cera de candelilla con benomilo con un valor de 63 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h seguido por el tratamiento de cera de abeja con benomilo con un valor de 65 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h.

En el día decimo noveno se observó más claramente el comienzo del máximo climaterio para los tratamientos; en este día el control sin inocular presentó un valor de 574 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h y el control inoculado un valor de 501mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h, los tratamientos que tuvieron para este día menor producción de CO<sub>2</sub> fueron el tratamiento de cera de abeja con benomilo con 195mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h y la cera de candelilla con aceite esencial de limón con 225mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h. Se observó que el control inoculado y todos los tratamientos tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el control sin inocular.

En el último día de almacenamiento (día 22) disminuye la respiración lo que indica el postclimaterio, en este día los tratamientos que se encontraron con menor respiración fueron el de cera de abeja con benomilo con 147 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h y cera de candelilla con benomilo 208 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h, los cuales la producción de CO<sub>2</sub>



fue menor que en el control sin inocular 463 mg CO<sub>2</sub> /kg peso fresco \*h y mayor que el control .inoculado, encontrando diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) entre controles, así como también el tratamiento de cera de abeja con aceite esencial de limón tuvo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el control inoculado, el tratamiento de cera de candelilla con aceite esencial de limón, el tratamiento de cera de candelilla con y cera de abeja con benomilo.

El tratamiento que tuvo un efecto en este parámetro fue el tratamiento de cera de abeja con benomilo, ya que este mantuvo su respiración por debajo del control inoculado y sin inocular durante la experimentación.

Los recubrimientos a base de lípidos han sido uno de los principales que disminuye la producción de CO<sub>2</sub> haciendo una barrera en la superficie del fruto modificando la composición gaseosa interna, disminuyendo la velocidad gaseosa, diversos estudios confirman esto, tal es el caso de Pérez *et al.* (2003a), donde se utilizaron tres tratamientos para melones cataloupe, los cuales consistían en cera fría a 20°C, cera caliente a 55°C, agua caliente y agua caliente con cera fría y un testigo. La respiración disminuyó con respecto al testigo en los tratamientos de cera caliente y agua caliente más cera y los tratamientos que aumentaron su respiración, fueron los sumergidos en agua caliente. Otro tipo de recubrimientos también han disminuido la tasa respiratoria de frutos, en el trabajo de Márquez *et al.*, (2009) se hizo la comparación de dos recubrimientos a base de quitosan, los cuales consistían en quitosan al 0.6% y sucroester al 1% en níspero japonés, se obtuvo que los recubrimientos disminuyeron la pérdida de peso, la tasa de producción de CO<sub>2</sub> y la pérdida de firmeza con respecto al control, siendo el más efectivo para la disminución de CO<sub>2</sub> y producción de etileno el quitosan. Estos resultados fueron similares a los obtenidos en el presente trabajo, y que disminuyeron la producción de CO<sub>2</sub> en los frutos de aguacate.

#### **4.4.8 Efecto de la actividad enzimática por los tratamientos de cera y los fungicidas en las enzimas PPO (polifenoloxidasas) y PDO (peroxidasa) en el aguacate infectado con antracnosis.**

Las polifenoloxidasas y peroxidasa son las enzimas que intervienen en la oxidación de los compuestos fenólicos, las cuales catalizan la oxidación de los fenoles propios de las células a quinonas, estas reacciones, además de generar colores pardos, reducen las

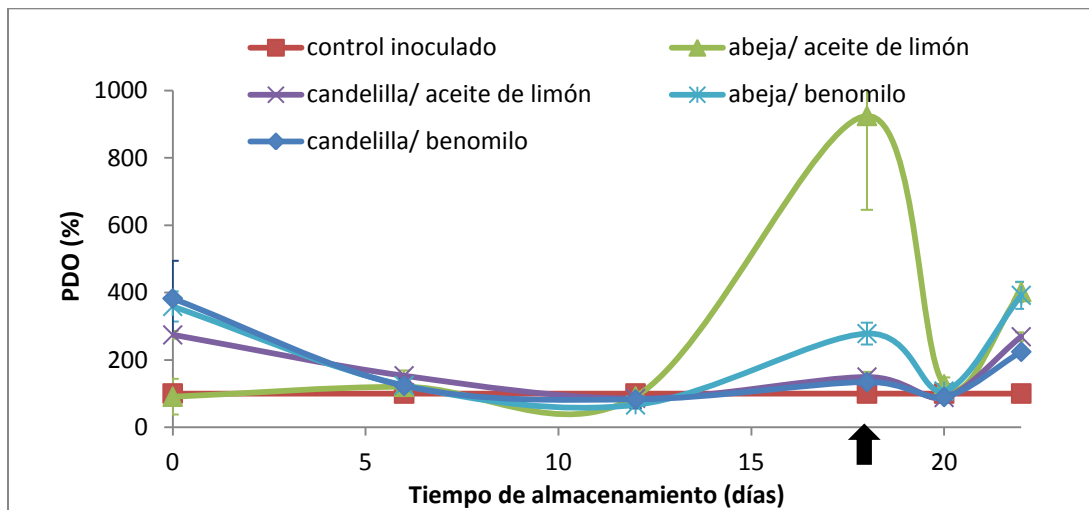


propiedades sensoriales de textura, color de la pulpa y sabor, disminuyendo la actividad nutricional del fruto y desembocan la muerte del mismo (Rivas, 2009).

#### 4.4.8.1 Efecto de la peroxidasa (PDO)

En la figura 40 se observó que la actividad enzimática de la PDO del primer experimento se evaluó de forma residual, en la cual se determinó la actividad enzimática de los frutos tratados con cera y fungicida con respecto a los frutos control sin recubrimiento e inoculados durante el almacenamiento.

La PDO tuvo una actividad muy parecida al control, esta mantuvo tendencias muy similares al del control se observó que no hubo cambios en esta enzima con respecto al control.



**Figura 38.** Efecto de los recubrimientos en la PDO de los frutos de aguacates 'Hass'. La desviación estándar de cada punto se representa con barras verticales. La flecha indica la transferencia a 25°C.

En el primer día de almacenamiento se observó que hubo diferencia del porcentaje de PDO del control con los tratamientos, en los siguientes días no se contempla una diferencia con el control hasta el día de la transferencia de temperatura de almacenamiento (día 18), donde se encontró que el tratamiento de cera de abeja con aceite de limón tiene diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con todos los demás tratamientos y los controles, donde fue afectada la actividad de la peroxidasa de la misma forma que el control, tanto por la enfermedad como por su proceso de maduración.

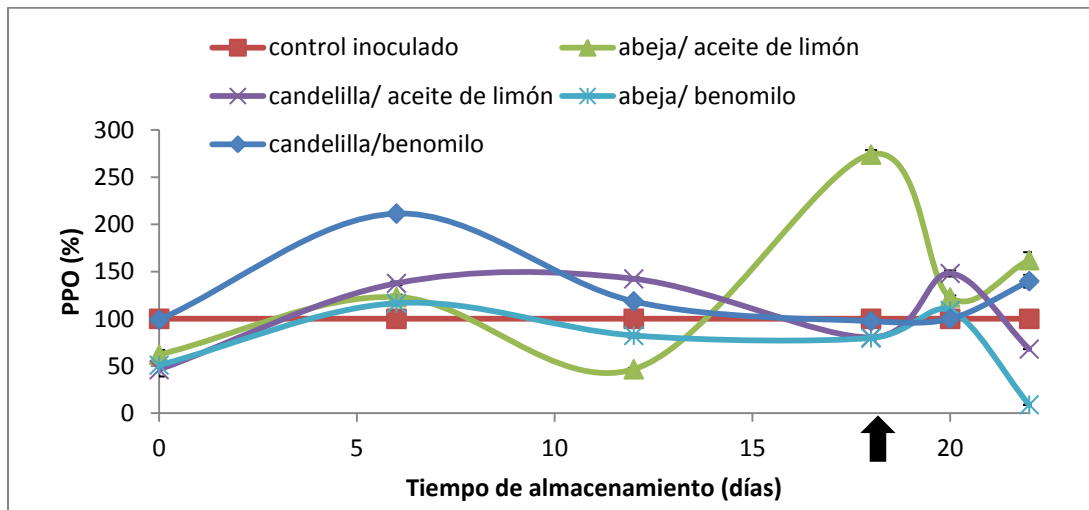




En los siguientes días no se encontró diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ). Los frutos con tratamiento estuvieron aproximadamente 20% por encima de los frutos control observándose un aumento en el último día del 40%.

#### 4.4.8.2 Efecto de la polifenoloxidasa (PPO)

En la figura 41 se muestra el efecto de los tratamientos a base de cera en la actividad de la enzima PPO se observó que hubo un aumento en su actividad en los tratamientos con respecto al control.



**Figura 39.** Efecto de los recubrimientos en la enzima PPO de los aguacates ‘Hass’. La flecha la transferencia a 25°C.

Los tratamientos mantuvieron valores que en algunos días no sobrepasaron al control inoculado, en el primer día de almacenamiento los tratamientos tuvieron actividad enzimática del 2% al 38% menor que el control. En el doceavo día estadísticamente se presentaron diferencias significativas, en el tratamiento de cera de candelilla con aceite esencial de limón y el tratamiento de cera de candelilla con benomilo tuvo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el control inoculado.

En el día decimo octavo fue la transferencia de temperatura de almacenamiento, se observó que el tratamiento que sobre paso al control con 73% fue el de cera de abeja con aceite de limón, mientras que los demás tratamientos se mantuvieron por debajo del control, el tratamiento de cera de abeja con benomilo tuvo un porcentaje de 20% menor



con respecto al control inoculado. El tratamiento de cera de abeja con aceite esencial de limón tuvo diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con los tratamientos y el control inoculado.

En el último día de almacenamiento los tratamientos que sobrepasaron al control inoculado fueron el de cera de abeja con aceite de limón con un 62% más y el de cera de candelilla con benomilo con un 39% más que el control inoculado, los demás tratamientos no sobrepasaron al control, siendo el tratamiento de cera de abeja con benomilo el que se mantuvo un 91% por debajo del control inoculado. Los tratamientos de cera de abeja con aceite de limón y cera de abeja con benomilo tuvieron diferencia significativa ( $P \leq 0.05$ ) con el control inoculado.

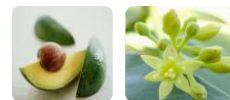
Los tratamientos de cera de candelilla con aceite esencial de limón y benomilo y cera de abeja con aceite esencial de limón tuvieron un menor pardeamiento interno con respecto al control inoculado, esto se observó en las figura 37 y 38 en el último día de almacenamiento (día 22) en donde el hongo causó una alteración en la actividad enzimática, esto debido a que secreta enzimas que degradan la pared celular, lo que ocasiona pigmentación en la pulpa. En la figura 41 se observó que el tratamiento de cera de abeja con benomilo mantuvo un porcentaje de actividad enzimática por debajo del control inoculado a comparación de los demás tratamientos, disminuyendo en mayor proporción el avance de la enfermedad de la antracnosis, esto también se puede observar en la figura 38, en donde se contempla que el pardeamiento fue menor con respecto al control y a los demás tratamientos.



## 5. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye lo siguiente:

- El aceite esencial de limón y el benomilo utilizados en las pruebas *in vitro* son efectivos para inhibir el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* en concentraciones de 20  $\mu\text{l/ml}$  y 20 mg/l.
- Los tratamientos de cera no afectan de manera significativa los parámetros de calidad (pH, sólidos solubles y materia seca) manteniendo la vida de anaquel y reduciendo la pérdida de peso debido a que estos proporcionan una barrera al fruto que disminuye su permeabilidad del agua con el ambiente. Además color de los aguacates se favorece, pues el tono y la cromaticidad fueron mayores que los frutos sin tratamiento, mejorando la apariencia de los frutos.
- Los tratamientos de cera adicionados con benomilo o aceite esencial de limón ayudan a la inhibición del crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* siendo una buena alternativa como tratamiento poscosecha
- Los tratamientos de ceras con aceite esencial de limón y benomilo ayudaron a conservar por más tiempo la firmeza en los frutos de aguacate y reducir la producción de  $\text{CO}_2$  debido a que al disminuir el intercambio de gases disminuyó su maduración. Además no presentaron un efecto en la enzima PDO siendo similares al control, mientras que para PPO se observó que el tratamiento de cera de candelilla con aceite esencial ayudó a disminuir esta enzima.



## 6. RECOMENDACIONES

- 👁️ Evaluar otros tipos de recubrimientos a base de carbohidratos y proteínas en el aguacate para retardar su maduración y alargar su vida útil en el aguacate.
- 👁️ Realizar más estudios referentes a las enzimas en aguacate responsables del pardeamiento, para poder determinarlas en otros estudios y observar si estas tienen una inhibición con diferentes condiciones de conservación.
- 👁️ Aplicar diferentes recubrimientos al aguacate adicionándoles aceites esenciales que inhiban el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides*.
- 👁️ Realizar más estudios de aceites esenciales de diferentes plantas para inhibir enfermedades en frutos.
- 👁️ Aplicar una concentración más alta de esporas de *Colletotrichum gloesporioides* para observar mejor la inhibición del hongo con los fungicidas.
- 👁️ Aplicar a los recubrimientos concentraciones más altas de aceite esencial de limón y benomilo y observar si la inhibición aumenta.



## 7. ABREVIATURAS

**C=** Croma

**L=** Luminosidad

**M=** molaridad

**mM=** milimolar

**nm=** nanómetros

**PDA=** Papa Dextrosa Agar

**PDO=** Peroxidasa

**PPO =** Polifenoloxidasa

**rpm=** Revoluciones por minuto

**µl=** Microlitros

**µm=** Micrómetros



## 8. REFERENCIAS

1. Acevedo, C. H. M. (1986). Preservación del aguacate con emulsión de cera de candelilla. Tesis de Ingeniero Químico. Universidad, Nacional Autónoma de México. México.
2. Aguilar, M. M. A. (2005). Películas Biodegradables y su empleo en el recubrimiento de frutos de aguacate. Tesis de maestría en Ciencias de Tecnología Avanzada. Instituto Politécnico Nacional, México.
3. Aguirre R. J. E. (2008). Evaluación del efecto de diferentes extractos vegetales sobre el crecimiento de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc. Agente causal de la antracnosis en mango (*Mangifera indica* L.) Tesis de licenciatura en microbiólogo agrícola y veterinario. Universidad javeriana. Bogotá.
4. Alzate, O. D. A; Mier, M. G. I; Afanador, K. L; Durango R. D. L; García P. C. M. (2008). Evaluación de la fitotoxicidad y la actividad antifúngica contra *Colletotrichum acutatum* de los aceites esenciales de tomillo (*Thymus vulgaris*), limoncillo (*Cymbopogon citratus*), y sus componentes mayoritarios. *Revista de la Facultad de Química Farmacéutica* 16:116-125.
5. APROA (2007). Asociación agrícola local de productores de aguacate de Uruapan Michoacán. Boletín informativo el aguacatero. El aguacate: Alimento para las arterias. No. 49. Fecha de consulta 28/7/2011. Disponible en: <<http://www.aproam.com/boletines/aguacatero.html>>
6. Arévalo, G. L.; Saucedo, V. C.; Bustos, R. E. y González H. H. (2002). Maduración de frutos de aguacate Hass tratados con radiación Gamma. *Agrociencia*. Colegio de Postgraduados. 36 (006): 667-673
7. Baños G. P. E; Zavaleta M. E.; Colinas L. M. T.; Luna R. I.; Gutiérrez A. J. G. (2004). Control biológico de *colletotricum gloeosporioides* ((penz.) Penz y Sacc) en papaya maradol roja (carpa papaya I.) y fisiología poscosecha de frutos infectados. *Revista Mexicana de fitopatología*. 22(002): 198-205.



8. Bernal, A. A; Zamora, N. J. F; Virgen- Caballeros G. y Nuño R. R. (2005). Actividad Biológica in vitro de Extractos de *Lupinus* spp. Sobre hongos fitopatógenos. *Revista Mexicana de fitopatología*. 23 (002):140-146.
9. Biblioteca del Jardí Botánic. (2008). Aguacate. Fecha de consulta 17/1/2011. Disponible en: <<http://mjburras.files.wordpress.com/2008/10/aguacate.pdf>>
10. Bósquez, M. E. (2003). Elaboración de recubrimientos comestibles formulados con goma de mezquite y cera de candelilla para reducir la cinética de deterioro en fresco del limón persa (*citrus latifolia* Tanaka). Tesis de doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
11. Cáceres, I; Martínez J. J; Cuquerella, J; Rio del, M. A., Navarro, P. (2003a). Influencia del encerado en la calidad de la mandarina “*Clemenules*” procedente de sistemas de producción integral. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 5 (002)113-116.
12. Cáceres, I; Mulkay, T; Rodríguez, J; Paumier, A. S; Castro L. T; Alonso, O; Bang, G; Gutiérrez, P. (2003b). Influencia del encerado y tratamiento térmico en la calidad de postcosecha del Mango. Instituto de investigación es en Fruticultura Tropical, 73 (1-2) 25-29.
13. Cáceres I.; Mulkay T.; Rodríguez J.; Paumier A. y Sisino A. (2003c). Tratamiento postcosecha para alargar la vida de anaquel del aguacate. *Revista Simiente*. 73 (1-2): 20-24.
14. Cano, P.; Marín, M. A. y Fúster, C. (1990). Effects of some thermal treatments on polyphenoloxidase and peroxidase activities of banana (*Musa cavendishii*, var *enana*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51: 223-231.
15. Cedaño C. J. (2010). Se exporta 60% de aguacate a E.U. Diario gran de Michoacán. Provincia. Fecha de consulta: 10/2/2011. Disponible en: <<http://www.provincia.com.mx/25-03-2010/31052>>.



16. Chanthaphon, S. y Hongpattarakere, T. (2008). Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical *Citrus* ssp. against food-related microorganisms. *Songklanakarin journal of Science and Technology* **30** (Suppl.1):125-13.
17. *Codex alimentarius* (1995). Norma del Codex para el aguacate. Fecha de consulta 3/6/2011. Disponible en: <[www.codexalimentarius.net/web/more\\_info.jsp?id\\_sta=321](http://www.codexalimentarius.net/web/more_info.jsp?id_sta=321)>.
18. CONACYT, (2008). El aguacate en México, origen y amenazas. Ciencia y desarrollo. Fecha de consulta 10/12/2010. Disponible en:< <http://www.conacyt.gob.mx>>.
19. Corrales, G. J.; Tlapa, R C. C. (1999). Daños por frío y producción de etanol en aguacate (*persea americana* mill.) cv. Hass. *Revista Chapingo serie horticultura*. 5: 345-351.
20. Díaz N. G. C.; Pérez C. L. E.; Hernández L. L. C.; Ramírez G. M. M (2010). Desarrollo de un recubrimiento comestible a base de mucílago de linaza y quitosano y su aplicación para extender la vida útil de fresas. Tecnología de alimentos. Congreso nacional de ciencia y tecnología de alimentos.
21. Duarte, B. L. E.; Castro, R. J. A.; Narváez, C. C. E. (2005). Catalasa, peroxidasa y polifenoloxidasas en pitaya amarilla (*Acanthocereus pitajaya*): Maduración y senescencia. *Acta Biológica Colombia*. 10:02 49-59.
22. Espinoza, G. F.; Hernández, V. M. (2006). Aplicación de tratamientos térmicos por vapor caliente en el control de antracnosis y en los síntomas de daños por frío en mangos y variedad "Keitt". Tesis de Ingeniería en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
23. FAO (2011). Committe on commodity problems intergovernmentl group on bananas and tropical fruits. Fecha de consulta: 28/06/2011. Disponible en:< <http://www.fao.org/economic/est/seguimiento-y-perspectivas-de-mercados/frutas-tropicales/es/>>.





24. FAO (2005). La cera de abejas. Un producto útil y valioso. Deposito de documentos de la FAO. Fecha de consulta: 12/12/2010. Disponible en: <<http://www.fao.org/docrep/008/y5110s/y5110s07.htm>>.
25. Fennema O.R. (2000). “*Química de los Alimentos*”. 2<sup>da</sup> edición. Acribia, Zaragoza España.
26. García, C. E. A.; Quezada V. M. Y.; Moreno L. J.; Sánchez, H. G.; Moreno, M. E.; Pérez R. M. C. J. (2006). Actividad antifúngica de aceites esenciales de canela (*cinnamomun zeylanicum blume*) y orégano (*origanun vulgare l.*) y su efecto sobre la producción de aglatoxinas en nuez pecanera. *Revista Mexicana de Fitopatología* 24 (001): 8-12.
27. Gutiérrez, A. J., Gutiérrez, O., Nieto, D., Téliz, D., Zavaleta, E., Delgadillo., F. (2004) Manejo integrado de la antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides (Penz.) Penz. Y Sacc.*) del mango (*Mangifera Indica L.*) durante la postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22: 395-402.
28. González- Aguilar, G.; Yahia, G. F.; Silveira, M. (1997). Predicción de la atmosfera en aguacate empacado en bolsas de polietileno y evaluación de su calidad durante el almacenamiento. *Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo*. 5 (4): 351-360
29. Hernández Q. L. J. (2006). Recubrimiento de quitosán sobre mango *Magnifera indica L.* variedad manila. Tesis de Ingeniería en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
30. Hernández, A.N; Bautista, S. y Velásquez, G.M. (2007). Prospectiva de extractos vegetales para controlar enfermedades postcosecha hortofrutícola. *Revista Fitotecnica Mexicana* 30 (002):119.123.



31. Klimo V. I. (2006) Guía técnica manejo poscosecha de aguacate (*Persea americana* L.). Ministerio de Agricultura y Ganadería. Programa nacional de frutas de el Salvador.
32. Lizárraga, N. J. A. (2001). Respuesta al daño pro frio del limón Persa (*Citrus latifolia* Tanaka) con y sin recubrimientos. Tesis de licenciatura de Química de Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
33. Lizcano, G. M. C. (2007). Evaluación de la actividad antifúngica del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) contra *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Tesis de Microbiología agrícola y Veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogota D.C.
34. Lowry, O.H; Rosebrough, N. J.; Farr A. L. y Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry* 193: 265-275.
35. López- Munguía A. (1987). "Tecnología Enzimática". UNAM. México
36. Márquez C.; Cartagena V. J R.; Pérez G M. B. (2009). Efecto de recubrimientos comestibles sobre la calidad en poscosecha del níspero japonés (*Eriobotrya japonica* T.). *Red de Revista Científica de América Latina*. 16(3): 304-311.
37. Martínez-Romero, D., Guillén, F., Castillo, S., Valero, D. and Serrano, M. (2005). The Use of Natural Aromatic Essential Oils Helps to Maintain PostHarvest Quality of Crimson Proc. 5th Int. Postharvest Symp. ISHS, Acta Hort., pp. 682.
38. Martínez R. D.; Guillén, F.; Valverde, J. M; Serrano M. Zapata, P.; Bailén G.; Castillo, S.; Valero, D. (2006). Aloe vera, recubrimiento comestible de frutas y hortalizas. Tecnología de poscosecha. *Revista Horticultura*. 195. 42-44.
39. Meir, S.; Akeman, M; Fuchs, Y; Zaubeman, G. (1995). Further studies on the controlled atmosphere storage of avocados. *Postharvest Biology and technology*. 5, 323.330.



40. Meza, G. A. (2006). Desarrollo de películas o recubrimientos comestibles con potencial para el recubrimiento de frutas frescas. Tesis de posgrado de especialización en biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana, México.
41. McGuire, R.G (1992). Reportin of objective color measurements. *HortScience*, 27 (12): 1254-1255.
42. Miranda, S. P.; Cárdenas, G.; López, D. Lara, S. A. V. (2003). Comportamiento de películas de quitosán compuesto en un modelo de almacenamiento de aguacate. *Journal of the Mexican Chemical Society*. 47 (004) 331-336.
43. Mondaca, A. C. A. (2003). Comportamiento de Paltas Variedad Hass almacenada en atmosferas controladas. Universidad de Chile. Facultad de ciencias agrónómicas. Santiago- Chile.
44. Multiceras. (2010) Fecha de consulta: 25/05/2010. Disponible en: <<http://www.multiceras.com.mx/procandelilla>>.
45. Navarrete G. K. (2009). Aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina para preservar la calidad de zarzamora (*Robus Frocticosus*) almacenada en refrigeración listo para consumir. Tesis de licenciatura en Ingeniería en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
46. NMX-FF-016-SCFI-2006. Productos alimenticios no industrializados para uso humano fruta fresca aguacate (*Persea america mil*). Norma Mexicana.
47. NOM-066-FITO-2006. Especificaciones para el manejo fitosanitario y movilización del aguacate. Norma Oficial Mexicana.
48. Osuna, G. J. A.; Beltrán, J. A. y Vázquez V. V. (2005). Efecto del 1-metilciclopropeno (1-MCP) sobre el comportamiento postcosecha del aguacate 'Hass'. *Revista de fitotecnología Mexicana*. 28 (001): 1-8.



49. Pérez B; Bringas E.; Saucedo C.; Nuñez M.; Reginaldo B. (2003). Efecto del uso de cera comestible en las características físico-químicas de melón cantaloupe. *Revista Iberoamericana de Tecnología poscosecha*. 5(2): 140-147.
50. Pérez, B., Brigas, E., Cruz, L., Báez, S. R. (2003b). Aplicación de ceras comestible en mango. Parte I: efecto en las características físico-químicas durante el almacenamiento comercial. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 5 (002) 100-112.
51. Pérez G. C. K; Ramos L. K. (2006). Efecto de la aplicación de un recubrimiento comestible a base de gelatina en la calidad de fresa (*fragaria vesca, L.*) almacenada en refrigeración. Tesis de Ingeniería en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
52. Pearson, D. (1998). Técnica de laboratorio para el análisis de alimentos. Acribia, Zaragoza, España. 331. pp.
53. Petit J. D.; Terán Y.; Rojas B.; Salinas H. R.; García R. J.; Baéz S. R. (2010). Efecto de las ceras comestibles sobre la calidad en frutos de papaya. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 11 (1): 37-42.
54. Pluma, L.I (1987). Conservación de aguacate variedad Hass en fresco para exportación. Tesis de Ingeniería en alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
55. Primo, Y. E., (1997). Química de alimentos. Ed. Síntesis. Madrid, España, pp.461.
56. Quintana, S. M. E. (2005). Estudio Monográfico de los métodos más usuales en la conservación de aguacate. Tesis de ingeniería en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
57. RAP-AL. (2008). Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina. Ficha técnica del Benomilo. Fecha de consulta: 25/2/2011. Disponible en: <[http://www.rap-al.org/articulos\\_files/Benomil\\_Enlace\\_81.pdf](http://www.rap-al.org/articulos_files/Benomil_Enlace_81.pdf)>.



58. Restrepo F. J. I.; Aristizábal T. I. D. (2010). Conservación de fresa (*Fragaria x ananassa Duch cv. Camarosa*) mediante la aplicación de recubrimientos comestibles de gel mucilaginoso de penca sábila (*Aloe barbadensis Miller*) y cera de carnauba. Facultad de ciencias agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia 17(3).
59. Reyes A. J. C. (1996). Aplicación de productos alternativos para el control de *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de aguacate 'Rincoatl'. Fecha de consulta 11/07/11. Disponible en: <[http://www.avocadosource.com/journals/cictamex/cictamex\\_1996/ecologia\\_96.pdf](http://www.avocadosource.com/journals/cictamex/cictamex_1996/ecologia_96.pdf)>.
60. Rivas, F.A. (2008). Control de antracnosis en aguacate (*persea americana*) variedad "Hass" por tratamientos de irradiación UV-C. Tesis de Ingeniería en Alimentos. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
61. Rodríguez-López E., González-Prieto J., Mayek-Pérez N. (2008). La Infección de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. y Sacc. en Aguacatero (*Persea americana Mill.*): Aspectos Bioquímicos y Genéticos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 1: 53-63.
62. Rodríguez, S. F. (1982). El aguacate. AGT, editor, México. 167p.
63. Rojas R.; Saucedo S.; De León M.; Aguilera A.F; De la Garza H.; Aguilar C.N. (2009). Efecto en la calidad y capacidad antifúngica de una cubierta comestible a base de cera de candelilla sobre aguacate Hass. Congreso nacional de biotecnología y bioingeniería. Fecha de consulta: 22/06/2011. Disponible en: <[http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA\\_III/CII I-31.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_III/CII I-31.pdf)>
64. Ronquillo, J. E. (2007). Evaluación del potencial antimicrobiano de películas comestibles con aceites esenciales *in vitro* e *in situ*. Proyecto de posgrado en biotecnología especialización en biotecnología. Universidad Autónoma de México, México.



65. Salvador L.; Miranda P.; Aragón N.; Lara V. (1999). Recubrimiento de quitosán en aguacate. *Revista de la Sociedad Química de México*. 43: 18-23.
66. Saucedo P. S.; Jass C. D.; Ventura s. J.; Saenz G. A.; Aguilar C. N.; (2007). Efecto de cubiertas comestibles con actividad biológica portadoras de ácido elágico formuladas con cera de candelilla, sobre la calidad en la vida de anaquel de manzanas. Congreso Nacional de Biotecnología y bioingeniería. Fecha de consulta 22/6/2011. Disponible en: <[http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area\\_III/Cartereles/CIII-27.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/morelia07/TRABAJOS/Area_III/Cartereles/CIII-27.pdf) >
67. Salazar G. S. (2009). Actualización sobre la industria aguacatera en Michoacán, México. Fecha de consulta 14/11/2010. Disponible en: <<http://www.avocadosource.com>>.
68. SENASICA (2009). Plagas reglamentadas del aguacatero. Fechas de consulta: 5/02/2010. Disponible en: <http://www.senasica.gob.mx/?id=675>.
69. SIAP, (2008). Financiera rural, dirección Gral. Adjunta de planeación estratégica y análisis sectorial monografía aguacate. Fecha de consulta: 4/07/2011. Disponible en: < [http:// www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx).>.
70. SIAP, (2009). Cierre de la producción agrícola por cultivo. Fecha de consulta: 7/07/2011. Disponible en: <[http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=350](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350) >.
71. Strahl & Pitsch. (2010). Fecha de consulta 27/05/2010. Disponible en: <[http://www.spwax.com/spanish/span\\_spcarnau.htm](http://www.spwax.com/spanish/span_spcarnau.htm)>.
72. Tamayo, M. P. J. (2007). Enfermedades del Aguacate. Magister Sciencies de la Universidad Federal de Vicoso- Brasil. *Politécnica*, 3: 51-70.
73. Tirilly Y. (2002). “*Tecnología de Las Hortalizas*”. Acribia Zaragoza España.



74. Trigiano, R.N., Windham, M.T y A.S Windman (2004). Plant pathology. Concepts and Laboratory CRC. Press, Boca Raton, London 413pp.
75. Undurraga, P.; Olaeta, J. A. y Opazo, G. (2003). Caracterización histológica y bioquímica de desórdenes fisiológicos en paltas (*Persea americana* mill.) cv. hass en almacenaje refrigerado, en dos estados de madurez. Facultad de agronomía Universidad Católica de Valparaiso-Chile. 653-658.
76. Valencia R. D. (2008). Efecto de dos coberturas cereas sobre el desverdeamiento y calidad en almacenamiento refrigerado de mandarina cv. Clemenules. Facultad de Agronomía. Área de Poscosecha e Industrialización Quillota-Chile.
77. Valverde. J.M.; Guillen F.; Bailén, G., Zapata, P. Castillo S.; Serrano M.; Martínez R. D.; Valero D. (2006). Diseño de un envase activo para mantener la calidad y seguridad de uva de mesa. Fecha de consulta 21/07/2011. Disponible en: <<http://www.horticom.com/pd/imagenes/67/899/67899.pdf>>.
78. Wills, R; Mc Glasson, B; Graham, D. y Joyce, D. (1998). *Introducción a la fisiología y manipulación poscosecha de frutas, hortalizas y plantas ornamentales*. Acribia. España. Pp.240.
79. Zavala, L. M. J; Tun, S. J. M; Cristobal, A. J; Ruíz, S. E; Gutiérrez A. O; Vázquez C. M; Méndez G. R. (2005). Control poscosecha de la antracnosis en papaya y sensibilidad de *colletotrichum gloeosporioides* (penz.) sacc. A fungicidas organosintéticos. *Revistas Chapingo* 11:251-255.
80. Zauberman, G.; Fuchs, Y. y Akerman, M. (1985). Peroxidase activity in avocado fruit stored at chilling temperatures. Department of Fruit and Vegetable Storage, Institute for Technology and Storage of Agricultural Products. 26 261- 265