



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla



Facultad de Ciencias Químicas

Lic. en Químico Farmacobiólogo

Departamento de Bioquímica-Alimentos

“Estudio de la capacidad antifúngica de eugenol y cinamaldehído en fase de vapor contra *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.* y *Botrytis cinerea*, en tomate (*Solanum lycopersicum var uva*)”

Tesis para obtener el Título de Químico Farmacobiólogo

Presenta

p. Q.F.B. Bahena Montoya Jorge Sebastian

Director: Dra. Teresa Soledad Cid Pérez

Co- director: Dr. Raúl Ávila Sosa-Sánchez

Puebla, Pue. Octubre 2023



OFICIO C.Q./CT 014P/2023

C. Jorge Sebastián Bahena Montoya
PRESENTE

Toda vez que se cuenta con la aprobación de la Coordinadora de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo, le comunico que su anteproyecto de Tesis denominado:

“Estudio de la capacidad antifúngica de eugenol y cinamaldehído en fase vapor contra *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.* y *Botrytis cinerea*, en tomate (*Solanum lycopersicum* var uva)”

ha sido autorizado, siendo:

Dra. Teresa Soledad Cid Pérez, Director de Tesis
Dr. Raul Ávila Sosa-Sánchez, Co-Director de Tesis

Y con esta fecha se registra en los archivos de la Dirección de esta Facultad, para los fines legales que tenga lugar.

Atentamente

“Pensar bien, para vivir mejor”

H. Puebla de Z., 17 de marzo de 2023

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena digital: 7Bh%h%Un)lr&Km&Ru!lg-Xw%h%HI%Rp)Gy&Ub*Ts'Qp&Ct)Vz-Oc-Qg!Rg%Tb''Pu,Nn&Ab/Ao)Ra\$Kj/Dt' Dz+Og&Er''Mx\$Xg)Vj&Nm.Ky-Yo'Ox''Ov+Qr)Qa+Wb*Di\$Fh,Kp,Bk\$Ky!Hg+Ek'Hc#Fb&Ym,Tu&De.Lu-Pc/Sl''Ci'lv.AL,Nd+Ko,Xu+Jy/Lg-Fw'Ls(Zs-Kq(Jt%UP*Qq&Dc+Ud+Qr/Ik'Qf\$Nz&Ax+Hp+Pa)Gj,Sn!Ou''Sb+Hc,Ax,Ae''Ho)Jh*Sx.Ta'

Facultad
de Ciencias
Químicas

San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390



OFICIO C.Q./CT 044CR/2023

Dra. Addí Rhode Navarro Cruz

Mtra. Obdulia Vera López

Dra. Edith Díaz Cabrera

Con toda atención comunico a Ustedes que se les propone como integrantes de la Comisión Revisora del trabajo de Tesis que presenta el pasante de la Licenciatura en Química Farmacobiólogo

Jorge Sebastián Bahena Montoya

cuyo título es:

"Estudio de la capacidad antifúngica de eugenol y cinamaldehído en fase vapor contra *Rhizopus ssp.*, *Fusarium spp.* y *Botrytis cinerea*, en tomate (*Solanum lycopersicum var uva*)"

Asimismo, les solicitamos que a la brevedad posible emitan el dictamen correspondiente.

Atentamente
"Pensar bien, para vivir mejor"
H. Puebla de Z., 22 de septiembre de 2023

Dr. Jorge Raúl Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas



c.c.p. Archivo

Cadena Digital: 3Dr(Wu*Aw1Xs(Og)Yo+Oc"Yf(Qw"GLAn!Bx"FG,Uo)Yx)Ja-JvRUT-
Eb!Bf#Ng(UH&Dr+Up(Pb,Zx\$Wj#Td)Tm.Rb&Tz&Ft%K%BF\$Be\$As/Pq&Cy"Ne/Zg!Qj(Nf"Kf\$Id"Md(Yz,Mn-
Up%Bv&lp\$Kr(Gq/Lm\$At%Yc,Tb"Jh-
Eg'CqITs+Ai"Wv,Xn"Cb"Wv'Vu,Xb!Ko#l"Dx*Lx'Ao\$Sd,Zq"Xy#Am#Kq"m)Le,Lz"Xb\$Nl\$Op+Bw,Cy"Dj,Wn%Nq)Go&Th'Hk&Tr!

Facultad de Ciencias Químicas | San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9
Ciudad Universitaria, Col. San Manuel
Puebla, Pue. C.P. 72540
01 (222) 229 5500 Ext. 7390



OFICIO C.Q./CT 046A/2023

Dr. Jorge R. Cerna Cortez
Director Facultad de Ciencias Químicas
Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Los que suscriben, integrantes de la Comisión Revisora de Tesis del alumno de la Licenciatura en Químico Farmacobiólogo

Jorge Sebastián Bahena Montoya

comunican a Usted la autorización para la publicación del trabajo de tesis bajo la dirección de la Dra. Teresa Soledad Cid Pérez y del Dr. Raul Ávila Sosa-Sánchez con el siguiente título:

“Estudio de la capacidad antifúngica de eugenol y cinamaldehído en fase vapor contra *Rhizopus spp.*, *Fusarium spp.* y *Botrytis cinerea*, en tomate (*Solanum lycopersicum var uva*)”

Se extiende la presente, para los usos que al interesado convengan el día 25 de octubre de 2023.

Atentamente
“Pensar bien, para vivir mejor”
H. Puebla de Z., a 25 de octubre de 2023



Dra. Addí Rhoda Navarro Cruz, Presidente



Mtra. Obdulia Vera López, Secretario



Dra. Edith Díaz Cabrera, Vocal

c.c.p. Archivo
Cadena digital: 1Im\$Po%Ux,Uo.Vv!Fv,Xq&Ku* Cm!Yf.Pt#Rn\$Rc/Np\$It.Hg!Hc(Mg!Ry-Td.Zd'Jn/Ln"Ka{Hx\$Dp.Ab"Na%Xc&Td%Kr,Uo-Af.Wj{Hm'Pj,Cr#Ek+Mg*Hw.Ck,Xe)Nk-Ci)Qc.Ra.Kr"Zc*Qk-Gh,Yn" Lb-Vt"Dj,Yo{Us'Km}Mp!BclAh.Qo-St.Lc,Zx&Gv"Vh.Nr+Br.Az!Sw!Vn"ln(Xi\$Qo-Hj,Gp"ln(Ve(ZblJv-Zr"Zu!Mq)Do}If\$Wg&Mq)Kc"Ps(Fw*Lf+ Cf\$

Facultad de Ciencias Químicas	San Claudio No. 1, Edificio FCQ-9 Ciudad Universitaria, Col. San Manuel Puebla, Pue. C.P. 72540 01 (222) 229 55 00 Ext. 7390
-------------------------------	---

Dedicatoria

Esta tesis se la dedico principalmente a las personas que siempre han estado conmigo apoyándome en todo momento; mi familia, a mi madre Francisca Montoya Castañeda por su ayuda y enseñanzas, a mi padre Jorge Bahena Barrera por su apoyo, a mi hermana Mariela Ivonne Bahena Montoya y a mi hermano Emmanuel Bahena Montoya con los que siempre conté con su confianza y apoyo; a ellos les agradezco por que fueron el pilar de mi motivación, la fuerza para continuar y nunca rendirme.

Agradecimientos

Agradezco a Dios por permitirme llegar a este punto de mi vida, logrando cumplir mi sueño y meta de ser Químico Farmacobiólogo.

Agradezco a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por ser mi alma mater, a la Facultad de Ciencia Químicas por haberme formado profesionalmente y cumplir con mis expectativas y mi visión de ser un químico farmacobiólogo. Y a mis profesores de carrera, que he aprendido mucho de ellos; haciendo mención especial a la Dra. Bertha Alicia León Chávez, a la Mtra. Araceli Ugarte Duarte, Mtro. Martín Alvarado Lazcano Hernández.

Agradezco a mi Familia por su constante ayuda y motivación en cada etapa de mi carrera.

Agradezco a mis amigos, que fueron grandes personas en mi camino, con los que siempre compartí momentos felices, tristes, de estrés, y que no olvidare cada momento que hemos pasado-juntos.

Agradezco a una amiga en especial: la QFB Guadalupe Gándara Rodríguez. Que más que una amiga es como mi hermana, con la cual he pasado muchos momentos inolvidables y que siempre contara conmigo, como sé que yo puedo contar con ella.

A mi Directora de tesis, la Dra. Teresa Soledad Cid Pérez por su gran apoyo, compañía, enseñanzas y los momentos bonitos que me permitió pasar con su hijo Amadeo. A mi Codirector de tesis el Dr. Raúl Ávila Sosa-Sánchez por sus enseñanzas y apoyo en este proyecto.

A mis Sinodales, la Dra. Addí Rhode Navarro Cruz, a la Mtra. Obdulia Vera López y a la Dra. Edith Díaz Cabrera que me han guiado en mi carrera y ayudado en cada paso de este proyecto.

INDICE

Dedicatoria	5
Agradecimientos.....	6
Índice de Tablas	10
Índice de Figuras	11
RESUMEN.....	13
1. INTRODUCCIÓN.....	14
2. ANTECEDENTES	15
2.1 Tomate	15
2.2 Variedades	15
2.3 Composición química y valor nutricional	21
2.4 Tomate Uva.....	21
2.5 Producción del tomate.....	22
2.6 Agentes patógenos para tomate	24
2.7 Mohos patógenos para el tomate	25
2.7.1 <i>Botrytis cinerea</i>	26
2.7.2 <i>Fusarium spp</i>	28
2.7.3 <i>Rhizopus spp</i>	31
2.8 Control químico	33
2.9 Antimicrobianos de origen natural en control patógeno	35
2.10 Compuestos puros	36
2.10.1 Eugenol.....	36
2.10.2 Cinamaldehído.....	37
2.11 Fase vapor	38

3. JUSTIFICACIÓN	40
4. OBJETIVOS	41
4.1 Objetivo general	41
4.2 Objetivos Específicos	41
5. DIAGRAMA DE TRABAJO	42
6. MATERIALES Y EQUIPO	43
6.1 Material	43
6.2 Equipos	43
7. METODOLOGÍA.....	44
7.1 Métodos	44
7.2 Aislamiento e identificación de mohos deterioradores de tomate	44
7.3 Conteo y ajuste de esporas.....	45
7.4 Obtención y limpieza de Materia vegetal.....	45
7.5 Inoculación de materia prima	46
7.6 Compuestos de origen natural.	46
7.7 Cámara fase vapor.....	47
7.8 Almacenamiento de materia prima.....	47
7.9 Dilución, vertido en placa y conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC).....	48
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
8.1 Aislamiento e identificación de mohos deterioradores en tomate	49
8.2. Morfología microscópica y macroscópica de los mohos de rápida pudrición previamente seleccionados.....	49
8.2.1 Identificación microscópica y macroscópica de <i>Botrytis cinerea</i>	49
8.2.2 Identificación microscópica y macroscópica de <i>Fusarium sp.</i>	51

8.2.3 Identificación microscópica y macroscópica de <i>Rhizopus sp.</i>	54
8.3. Evaluación antifúngica del eugenol y cinamaldehído en fase vapor	56
9. CONCLUSIONES.....	62
10. SUGERENCIAS	63
11. BIBLIOGRAFIA.....	64

Índice de Tablas

Tabla 1. Diferentes variedades de tomate comercial.....	16
Tabla 2. Principales enfermedades del tomate por cada grupo microbiano	25
Tabla 3. Clasificación taxonómica de <i>Botrytis cinerea</i>	26
Tabla 4. Clasificación taxonomía de <i>Fusarium spp.</i>	29
Tabla 5. Clasificación taxonómica de <i>Rhizopus spp.</i>	32
Tabla 6. Descripción de equipo, marca y modelo a utilizar en esta tesis.	43
Tabla 7 Técnicas y métodos a utilizar en esta tesis con su referencia.	44
Tabla 8. Concentraciones utilizadas de eugenol y cinamaldehído, colocados en fase vapor	46
Tabla 9. Días de almacenamiento de los tomates inoculados con los mohos deterioradores contra eugenol y cinamaldehído.	48

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura y constitución de tomate	15
Figura 2. Intercambio comercial de tomate en el periodo 2004-2014.....	23
Figura 3. Comparativo de 7 años de volumen exportado por México de tomate uva del 1 de noviembre al 9 de marzo de cada año.....	24
Figura 4. A) Ataque de <i>Botrytis cinerea</i> en tomate. B) Daño en fruto y tallo.	27
Figura 5. Morfología macroscópica y microscópica de <i>Botrytis cinerea</i>	28
Figura 6. A) Plantas marchitas por <i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersici</i> . B) Tomate infectado con <i>Fusarium sp.</i>	29
Figura 7. Morfología de colonias y estructuras de reproducción asexual de <i>Fusarium oxysporum</i> Schldl.	31
Figura 8. A) Tinción de <i>Rhizopus</i> spp. (azul de algodón lactofenol), observada a 10x. B) Colonia madura de <i>Rhizopus</i> spp., cultivada en agar dextrosa sabouroad	33
Figura 9. Estructura química de eugenol	37
Figura 10. Estructura química de cinamaldehído	38
Figura 11. Esquema de cámara fase vapor terminada.....	47
Figura 12. Morfología microscópica de <i>Botrytis cinerea</i>	50
Figura 13. Morfología macroscópica de <i>Botrytis cinerea</i>	51
Figura 14. Morfología microscópica de <i>Fusarium spp.</i>	52
Figura 15. Morfología macroscópica de <i>Fusarium spp.</i>	53
Figura 16. Morfología microscópica de <i>Rhizopus sp.</i>	55
Figura 17. Morfología macroscópica de <i>Rhizopus spp.</i>	56
Figura 19. Cinética de <i>B. cinerea</i> inoculado en tomate uva con diferentes concentraciones de eugenol y cinamaldehído	57
Figura 20. Cinética de <i>Fusarium sp.</i> inoculado en tomate uva con diferentes concentraciones de eugenol y cinamaldehído	58

Figura 21. Cinética de *Rhizopus sp.* inoculado en tomate uva con diferentes concentraciones de eugenol y cinamaldehído 59

RESUMEN

En la actualidad existe una gran pérdida postcosecha de productos en la industria agroalimentaria. Siendo el tomate la hortaliza más consumida a nivel mundial, se caracteriza por tener un alto porcentaje de humedad, lo que se relaciona a su susceptibilidad al ataque de distintos microorganismos trayendo pérdidas económicas. Hoy día los consumidores buscan que los aditivos sean naturales y seguros. Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad antifúngica de eugenol y cinamaldehído en fase de vapor contra *Botrytis cinérea*, *Fusarium sp.* y *Rhizopus sp.* en tomate (*Solanum lycopersicum var uva*). Para realizar este trabajo se utilizaron tomates inoculados con los distintos mohos deterioradores, que se pusieron en contacto en fase vapor (cámaras herméticamente cerradas) con eugenol y cinamaldehído, a diferentes concentraciones, colocándolos en almacenamiento hasta por 20 días (a temperatura ambiente). Los datos obtenidos sirvieron para realizar cinéticas, las cuales mostraron que eugenol tiene un mejor efecto inhibitorio contra los mohos utilizados, logrando inhibir hasta 3 ciclos log de *Botrytis cinerea* a los 20 días de almacenamiento, mientras que cinamaldehído fue el que tuvo un menor efecto en *Rhizopus sp.* de 2 ciclos log al final del almacenamiento. Concluyendo que eugenol y cinamaldehído generan un efecto fungistático ante los mohos utilizados, actuando como un conservador de tomate (*Solanum lycopersicum var uva*) y aumentando su vida de anaquel.

1. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una de las hortalizas con mayor producción y comercialización a nivel mundial. Su alta demanda es debido a su consumo, ya sea en crudo, cocido o en productos de anaquel. Aparte de que es un alimento con buenas características organolépticas y es nutritivo aportando vitaminas (A, B1, B2, B3, C) y algunos oligoelementos como calcio, hierro, magnesio, sodio, potasio y zinc (Mendoza et al., 2010).

En la República Mexicana hay estados que producen tomate a cielo abierto como Sinaloa, Sonora, Baja California, Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Morelos y San Luis Potosí, entre otros que prácticamente cubren la demanda del mercado interno y de exportación (INEGI, 2019). Para octubre del 2019, con datos del SIAP, se sembraron a nivel nacional 22,236 hectáreas de las cuales se han cosechado 22,183 hectáreas con una producción de 1, 397,515 ton con un rendimiento promedio de 63 toneladas por hectárea (INEGI, 2019). La baja en cuanto a la producción es debido al cultivo a cielo abierto, ya que con las nuevas técnicas se ha optado más por el cultivo en invernadero. No obstante, México a nivel mundial se encuentra en la posición número 10 con una participación de 87,918 ha cosechadas de tomate y con una producción de 4,271,914 toneladas (FAOSTAT, 2021).

En general el tomate es caracterizado por tener un alto contenido de humedad, que va del 90-97 %; por lo mismo es susceptible a ser invadido por microorganismos como bacterias, virus y principalmente los mohos como agentes deterioradores; tanto en el fruto como en la planta. Es por ello que se han utilizado distintos métodos de conservación; tanto físicos como químicos. Este trabajo se centra en generar un método de conservación utilizando compuestos volátiles de origen natural con distintos compuestos de origen natural a diferentes concentraciones, obteniendo la dosis para la conservación del tomate var uva. Con la finalidad de generar una técnica de método de conservación que aumente la vida de anaquel para evitar pérdidas postcosecha.

2. ANTECEDENTES

2.1 Tomate

El tomate es una hortaliza de la familia de las solanáceas junto con el tabaco, el chile y la papa; esta hortaliza está constituida por la epidermis o piel, el pericarpio, la pulpa, el tejido placentario y las semillas. Internamente los frutos están divididos en lóculos, que pueden ser bi, tri, tetra o poliloculares (Argerich et al., 2010), como se describe en la Figura 1. La superficie, tamaño, forma, color, consistencia y composición de tomate, varía de acuerdo con el tipo de cultivo del que se trate (Gómez Martínez et al., 2018).

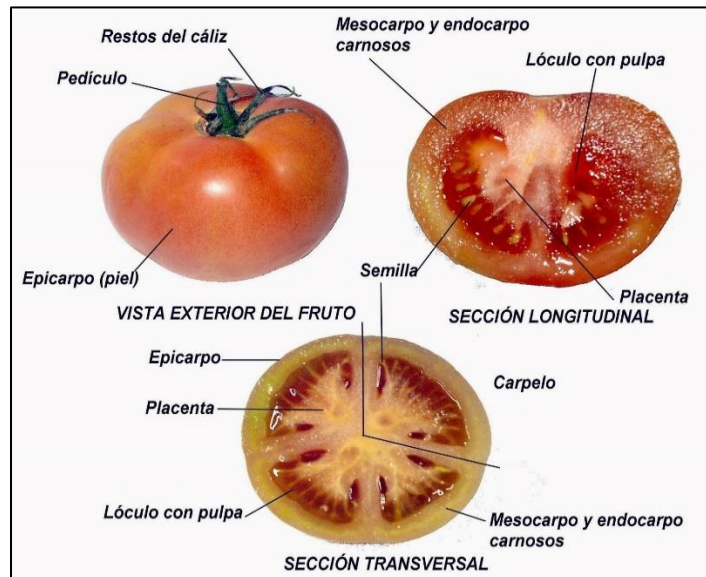












Figura 1. Estructura y constitución de tomate (Agro Krebs, 2020).


2.2 Variedades


Las Solanaceas es un género megadiverso y agrupa a 1,234 especies (Solanaceae Source, 2019). En México crecen 134 especies, que representan el 10.85 % de la riqueza del grupo (Murillo-Pérez & Rodríguez, 2021); y dentro de este grupo de especies se encuentra *Solanum lycopersicum* que contiene una gran variedad de tomates de las cuales de se han diferenciado de alrededor de 71 variedades. Cada año se van describiendo nuevas variedades; de las cuales algunas se describen en la Tabla 1.

Tabla 1. Diferentes variedades de tomate comercial (Trade winds fruit, 2013).

Variedad	Figura	Variedad	Figura
<i>Tomate Chocolate Amazónico (Solanum lycopersicum)</i>		<i>Tomate De Pasta Amish (Solanum lycopersicum)</i>	
<i>Tomate Ananas Noire (Solanum lycopersicum)</i>		<i>Tomate morado de la tía Ginny (Solanum lycopersicum)</i>	
<i>Tomate Patas De Plátano (Solanum lycopersicum)</i>		<i>Tomate (Solanum lycopersicum)</i>	
<i>Tomate teñido anudado Berkeley (Solanum lycopersicum)</i>		<i>Tomate Cherry Bicolor (Solanum lycopersicum)</i>	
<i>Tomate De Carne Grande (Solanum lycopersicum)</i>		<i>Tomate Sungold grande (Solanum lycopersicum)</i>	
<i>Tomate Cebra Amarillo Grande (Solanum lycopersicum)</i>		<i>Tomate Jabalí Negro y Marrón (Solanum lycopersicum)</i>	

<p>(<i>Solanum lycopersicum</i>) Tomate Cherry Negro</p>		<p>(<i>Solanum lycopersicum</i>) Tomate Negro Etíope</p>	
<p>Tomate Krim Negro (<i>Solanum lycopersicum</i>)</p>		<p>(<i>Solanum lycopersicum</i>) Tomate Ciruela Negro</p>	
<p>Tomate Príncipe Negro (<i>Solanum lycopersicum</i>)</p>		<p>(<i>Solanum lycopersicum</i>) Tomate Roma Negro</p>	
<p>Tomate Hombre del Mar Negro (<i>Solanum lycopersicum</i>)</p>		<p>Tomate Cebra Negro (<i>Solanum lycopersicum</i>)</p>	
<p>(<i>Solanum lycopersicum</i>) Tomate carnicero sangriento</p>		<p>(<i>Solanum lycopersicum</i>) Tomate De Fruta Azul</p>	
<p>(<i>Solanum lycopersicum</i>) Tomate Carbone</p>		<p>Tomate chocolatado (<i>Solanum lycopersicum</i>)</p>	
<p>Tomate niña temprana (<i>Solanum lycopersicum</i>)</p>		<p>Tomate Fahrenheit Blues (<i>Solanum lycopersicum</i>)</p>	

<p><i>Tomate delicia del jardinero (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>Tomate Golden Bear de Gary (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Tomate Medalla de Oro (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>Tomate pepita de oro (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Tomate Piña Dorada (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>(Solanum lycopersicum) Tomate Uva</i></p>	
<p><i>(Solanum lycopersicum) Tomate Cebra Verde</i></p>		<p><i>Tomate Ponderosa Rosa de Henderson (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Tomate Pera Marfil (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>Tomate del diablo de Jersey (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Tomate julieta (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>Tomate Chico Limón (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>(Solanum lycopersicum) Tomate Longkeeper</i></p>		<p><i>(Solanum lycopersicum) Tomate de la paz de Marianna</i></p>	

<p><i>(Solanum lycopersicum)</i> Tomate MicroTom</p>		<p><i>(Solanum lycopersicum)</i> Momotaro Tomato</p>	
<p><i>(Solanum lycopersicum)</i> Sr. tomate rayado</p>		<p>Tomate Negro Azteca <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p>Tomate Joya Oaxaqueña <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>		<p>Tomate Opalka <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p>Tomate Plátano Naranja <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>		<p>Tomate carámbano de naranja <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p>Tomate Paul Robeson <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>		<p>Tomate Piña <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p>Tomate rosado al brandywine <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>		<p>Tomate helado rosa <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p>Tomate de colores primarios <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>		<p>Tomate morado de Pruden <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p>Tomate Cherokee Morado <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>		<p>Tomate Riesentraube <i>(Solanum lycopersicum)</i></p>	

<p><i>Tomate Rutgers (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>Siberia Tomato (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Tomate Cherry Blanco Como La Nieve (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>Tomate Sol Dorado (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Tomate de azúcar del sol (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>Tomate Súper Marzano (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Tomate Dorado Dulce (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>tomate taxi (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Thai Pink Egg Tomato (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>Tomate Tim pequeño (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Tomate Huevo Rosa Tailandés (Solanum lycopersicum)</i></p>		<p><i>Tomate Belleza Blanca (Solanum lycopersicum)</i></p>	
<p><i>Tomate Cosilla Rosa Zapoteca (Solanum lycopersicum)</i></p>			

2.3 Composición química y valor nutricional

La composición química y el valor nutricional del tomate depende de la variedad, las condiciones de cultivo, la época de producción, el grado de madurez, el tiempo y las condiciones de almacenamiento. Los principales componentes nutricionales que contiene el tomate son: agua, hidratos de carbono (como macronutrientes mayoritarios, posee azúcares libres) y ácidos orgánicos, que contribuyen a dar al fruto su textura y sabor característicos (Beckles, 2012); además contiene, algunas de las sustancias denominadas metabolitos secundarios o fitoquímicos que, aunque no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no se consideran esenciales para la salud humana, pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad (Navarro-González, Periago, 2016). Los nutrientes que posee el tomate pueden tener efectos antioxidantes generando beneficios en la salud, que actúan protegiendo a lípidos, lipoproteínas y ADN; de los radicales libres generados por el organismo. Esta función podría ser una de las posibles razones de la aparente conexión entre su consumo y la prevención de enfermedades degenerativas y crónicas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y la enfermedad de Parkinson (Navarro y Periago, 2016).

2.4 Tomate Uva

El tomate uva es una variedad de tomate, con una buena cubierta de hoja y de sabor dulce. Se puede producir tanto en campo abierto como en invernadero y la mayoría de los cultivares de tomate uva son de crecimiento indeterminado, con frutos que tienen la forma y el tamaño parecido al de una uva grande (Rodríguez-Calzada, 2015). El sabor es similar al del tomate cereza clásico (tomate Cherry), pero con sus propios matices únicos. Su tamaño aproximado es de 2.54 cm. de largo por 1.905 cm. de ancho y su peso va de los 10 hasta 30 g., así mismo el tomate uva contiene altas concentraciones de azúcares y ácidos orgánicos que contribuyen mayoritariamente a su sabor (Perin et al., 2018). El tomate uva posee un bajo nivel calórico, tiene un gran contenido de fibra; así mismo aporta nutrientes como la vitamina A, C y antioxidantes que son benéficos para la salud. Una taza de tomates uva contiene, en promedio, 16% de valor diario de fibra, 8% de valor diario de vitamina C, 4% de valor diario de vitamina, 10 g de carbohidratos, 6 g de azúcar y 1 g de proteína (Covilli, 2020).

En la cocina gourmet se utilizan tanto tomate uva como tomate cereza; sin embargo, estos dos tienen diferencias, desde su clasificación taxonómica, que el tomate uva se clasifica dentro de *Solanum lycopersicum var uva*; y el tomate cereza se encuentra clasificado como *Solanum lycopersicum var cerasiforme*. Así mismo hay diferencias en cuanto a sus características, ya que la variedad uva tiene forma oblonga, la piel es más gruesa, su sabor se asemeja a un sabor dulce/agrio (en comparación con el tomate cereza que es más dulce). Otra de las características del tomate uva es que es más resistente que el Cherry, además de que cuenta con una mayor distribución debido a su piel gruesa lo que genera su resistencia al momento de su distribución; así mismo tiene un menor contenido de agua a comparación del Cherry (August Croft, 2022)

2.5 Producción del tomate

La producción y el consumo mundial del tomate se divide en tomate fresco y procesado siendo tres cuartas partes del consumo total correspondientes al primero y una cuarta parte al segundo. De acuerdo con información de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) el 61.0 % de la producción total de tomate en 2017 se concentró en cinco países: China (32.6 %), India (11.4 %), Turquía (7.0 por %), Estados Unidos (6.0%) y Egipto (4.0%). En ese sentido México ocupó la novena posición con una participación de 2.3 %. A nivel nacional el cultivo del tomate rojo ocupa el cuarto lugar en importancia por su contribución en el valor de la producción agrícola, con una participación de 4.3 % del total, tan solo después del maíz grano (17.1%), el aguacate (6.8%) y la caña de azúcar (6.5%).

Los estados con mayor concentración en la producción del tomate son Sinaloa, San Luis Potosí, Michoacán, Jalisco y Zacatecas que en conjunto representan el 56.3 % de las 3.47 millones de toneladas producidas a nivel nacional en 2017 (FIRA, 2016). En tema de intercambio comercial de tomate, se muestra la Figura 2 con los representantes más importantes tanto en exportación como importación de este producto. El consumo per cápita se ha incrementado constantemente, de 15.4 kg en 2001 a 20.2 kg en 2011 a nivel mundial; en Estados Unidos de América se ubica en 41 kg. En México, el consumo per cápita es de 15 kg por año (Pérez et al, 2020).

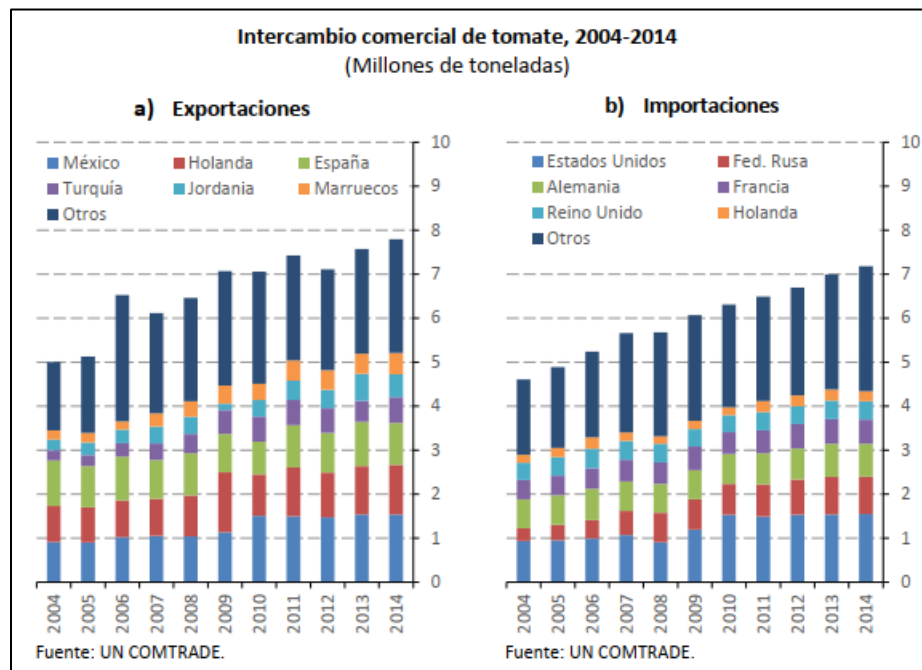


Figura 2. Intercambio comercial de tomate en el periodo 2004-2014 (FIRA,2016).

El tomate uva es un alimento muy consumido en la temporada de invierno por parte de los Estados Unidos, siendo México el principal proveedor. En este abastecimiento participan principalmente 2 regiones, en donde México se coloca como el indiscutible proveedor principal con una participación de mercado de 75%, seguido de Florida con una participación casi del 23 %. México ha tenido un auge en la producción de tomate uva, aumentando una producción de 15 597 626 Kg del 2020 al 2021 con una variabilidad del 47.45%. En la Figura 3 se muestra como ha sido el crecimiento en cuanto a la producción de tomate uva del 2015 al 2022. Así mismo se ha mostrado en el mercado la preferencia del consumo de tomate uva sobre el tomate cherry (López S., 2022).

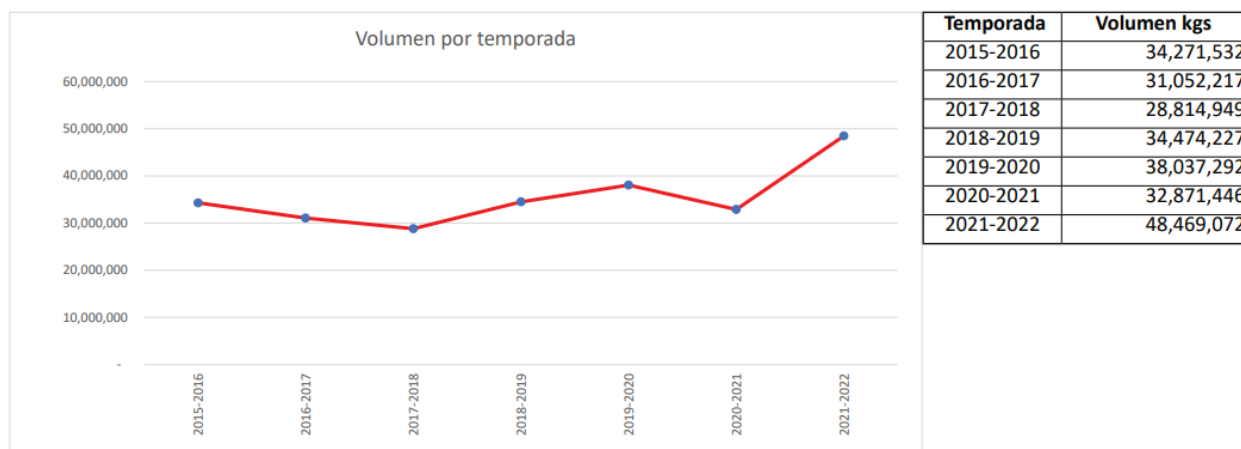


Figura 3. Comparativo de 7 años de volumen exportado por México de tomate uva del 1 de noviembre al 9 de marzo de cada año (López S., 2022).

El tomate en la industria alimentaria; es fundamental por su sabor y alto valor nutricional. En México, la generación de empleos directos e indirectos es de gran importancia económica. Por lo tanto, es fundamental asegurar una buena calidad postcosecha para evitar la propagación de patógenos que puedan dañar la calidad y dificultar la comercialización del producto, lo que resultaría en pérdidas económicas. Aunque los fungicidas sintéticos son la principal estrategia de control, es importante tener en cuenta que, a pesar de su eficacia, también tienen un impacto negativo en el medio ambiente y en los seres humanos debido al desarrollo de cepas resistentes. Motivo por el que, los consumidores demandan constantemente productos seguros y sin residuos (Rodríguez Gusman, et al., 2021).

2.6 Agentes patógenos para tomate

El tomate tiene como una característica importante el % de humedad, esto lo hace susceptible a la acción de diferentes microorganismos; tales pueden ser bacterias, mohos o virus, afectando tanto el fruto como la planta. Algunos agentes patógenos importantes que generan pérdidas postcosecha se encuentran en la Tabla 2, explicando los principales enfermedades y microorganismos que atacan al tomate.

Tabla 2. Principales enfermedades del tomate por cada grupo microbiano (PDH, 2006).

Bacterias	Mohos	Virus
<ul style="list-style-type: none"> ➤ Cáncer bacteriano ➤ Mancha bacteriana ➤ Mancha negra del tomate ➤ Marchitez bacteriana 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Antracnosis ➤ Cáncer de tallo/Alternariosis ➤ Cenicilla ➤ <i>Fusarium</i> ➤ Mancha gris de la hoja ➤ Moho gris ➤ Moho blanco ➤ Tizón temprano ➤ Tizón tardío ➤ <i>Verticilium</i> 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Virus del mosaico del tabaco (TMV)</i> ➤ <i>Virus del mosaico del tomate (ToMV)</i> ➤ <i>Virus del rizado amarillo del tomate (TYLCV)</i> ➤ <i>Virus del bronceado del tomate (TSWV)</i> ➤ <i>Citomegalovirus CMV</i> ➤ <i>Virus Y de la papa (PVY)</i> ➤ <i>Virus del enanismo arbustivo del tomate (TBSV)</i>

2.7 Mohos patógenos para el tomate

Una vez que se cosecha, la calidad y duración postcosecha del fruto se ve afectada por la temperatura, la humedad relativa y otros factores que disminuyen su calidad y valor en el mercado. Además, las condiciones de almacenamiento son un factor que favorece la proliferación de mohos fitopatógenos como: *Alternaria alternata*, *Alternaria solani*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Colletotrichum lycopersici*, *Colletotrichum sp.*, *Rhizopus sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Cladosporium sp.*, entre otros; que atacan a los frutos durante su manejo postcosecha y ocasionan pérdidas económicas significativas (Arah, Amaglo, Kumah & Ofori, 2015; Rodríguez Guzmán, 2021). Por consiguiente, es fundamental contar con un conocimiento preciso y un diagnóstico adecuado de las enfermedades que afectan al

tomate en la etapa postcosecha, con el fin de aplicar tratamientos de control eficaces y alternativos al uso de fungicidas (Xie, Tan & Yu, 2012; Martínez-Ruiz et al., 2016;).

2.7.1 *Botrytis cinerea*

Es un moho conocido habitualmente como moho gris o podredumbre gris que afecta a varias frutas y hortalizas; es un ascomiceto de la familia *Sclerotiniaceae* como se describe su taxonomía en la Tabla 3. Esta clase de mohos afecta desde el fruto, hasta la misma planta. Tiene una gran importancia ya que, al ser conocido su impacto en la agricultura, genera grandes pérdidas económicas que van del 30% total de la producción; aumentando entre el 40-50% en condiciones de humedad (Alejandrez, 2017).

Tabla 3. Clasificación taxonómica de *Botrytis cinerea* (EPPO, 2023).

Reino	Fungi
Filo	<i>Ascomicota</i>
Subfilo	<i>Pezizomicotina</i>
Clase	<i>Leotiomicetos</i>
Orden	<i>Helotiales</i>
Familia	<i>Esclerotiniáceas</i>
Género	<i>Botritis</i>
Especie	<i>Botrytis spp</i>

Sus características de infección van a depender de la parte que sea infectada, así mismo del estado fisiológico en el que se encuentre la planta; se puede observar en las flores que causa atizonamiento y muerte como se muestra en la Figura 4A Y 4B. En hojas se caracteriza por presentar manchas café en V desde el borde de la hoja. También puede secar completamente las hojas donde se observa el crecimiento del micelio sobre el tejido afectado. En los tallos y brotes, se observa la presencia de necrosis, ennegrecimiento y muerte del tejido. En los frutos, pueden aparecer áreas acuosas en los frutos verdes, así como pudrición en los frutos maduros, lo que causa pérdidas significativas en la producción (INIA, 2018).



Figura 4. A) Ataque de *Botrytis cinerea* en tomate. B) Daño en fruto y tallo. (INEA, 2018)

2.7.1.1 Descripción microscópica y macroscópica de *Botrytis cinerea*.

B. cinérea se caracteriza macroscópicamente por la presencia de un crecimiento mohoso y algodonoso en la superficie de las plantas infectadas. Esta colonia inicialmente es de color blanco, pero con el tiempo, se torna grisácea o amarillenta. Posee un micelio tabicado, con hifas de aspecto algodonoso de 11-23 μm de diámetro como se muestra en la Figura 5. La mayoría de las especies de *B. cinérea* generan abundantes conidias (macroconidias) que son asexuales, hialinas, unicelulares, de forma ovalada y se encuentran en los extremos redondeados. Estas conidias tienen una vida breve y su supervivencia depende de las condiciones climáticas (Fillinger & Walker, 2016). Su forma de reproducción es a través de conidios o esporas asexuales las cuales se transmiten fácilmente a través del viento o agua.

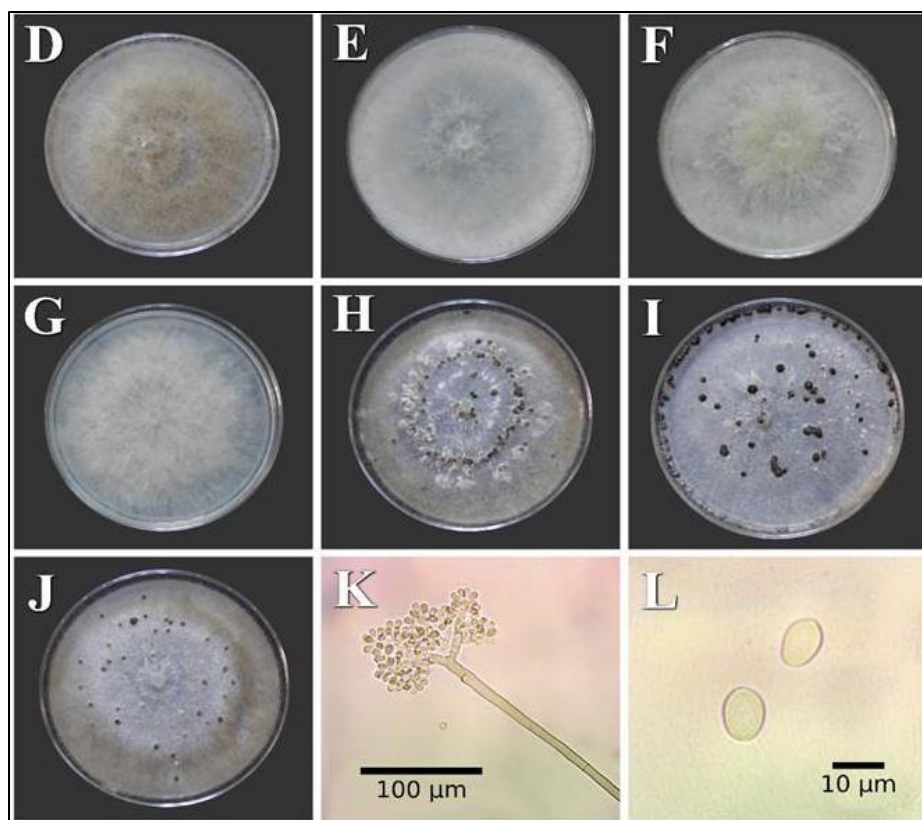


Figura 5. D, E, F y G. Diferentes formas de crecimiento y coloración de micelio. H, I y J. Forma, color, número y disposición en el medio de cultivo PDA de esclerocios. K. Conidióforo con conidios. L. Conidios (Terrones Salgado et al., 2019).

2.7.2 *Fusarium spp*

El género *Fusarium* pertenece a la Familia *Nectriaceae* como se muestra en la Tabla 4 y tiene una gran variedad de especies, las cuales tiene una distribución Cosmopolita; estas especies tiene una gran capacidad patógena en cultivos, generando grandes pérdidas. Algunos de los productos de gran importancia comercial que pueden ser infectados por algunas especies de *Fusarium* son maíz (*Zea mays L.*) trigo (*Triticum spp.*), avena (*Avena sativa L.*), cebada (*Hordeum vulgare L.*), el tomate como se muestra en la figura 6 y 7, entre otros (Santos-Gerardo et al., 2017).

Tabla 4. Clasificación taxonomía de *Fusarium spp.* (EPPO, 2023)

Reino	Fungi
Phylum	<i>Ascomycota</i>
Clase	<i>Sordariomycetes</i>
Orden	<i>Hypocreales</i>
Familia	<i>Nectriaceae</i>
Género	<i>Fusarium</i>
Especie	<i>Fusarium spp.</i>

Este moho es un patógeno de una gran variedad de *Solanaceas*; en la bibliografía se encuentra que puede afectar tanto a la planta como al tomate como se muestra en la Figura 6A y 6B. Sobrevive en residuos vegetales o en forma de clamidosporas en el suelo, las cuales pueden perdurar durante varios años. La transmisión a larga distancia ocurre principalmente a través de semillas, plántulas infectadas y maquinaria. A nivel local, se propaga mediante el agua de riego, el aire y el trasplante de material afectado (González, 2006).



Figura 6. A) Plantas marchitas por *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (González, 2006). B) Tomate infectado con *Fusarium sp.*

Las especies de *Fusarium* son saprófitas en algunas de sus fases de crecimiento y pueden o no desarrollar una fase de reproducción sexual según la especie. Se han registrado estados sexuales (teleomorfos) para ciertas especies de *Fusarium*. Todos los teleomorfos conocidos de *Fusarium spp.* están clasificados en el orden *Hypocreales de Ascomycota*, pero se han asignado a varios géneros distintos (como *Gibberella* y *Nectria*) (SENASICA, 2020).

2.7.2.1 Descripción microscópica y macroscópica de *Fusarium spp.*

Los mohos del género *Fusarium* pueden presentar características microscópicas variables, dependiendo de la especie y del medio de cultivo en el que se desarrollen. Por lo general, los hifas son septados y ramificados, con una apariencia característica de cuerda o cordón debido a una disposición característica de los septos. Los conidios, presentes en algunos especímenes de *Fusarium*, son generalmente unicelulares y se producen en diferentes tipos de conidióforos, como en "fascículos" que se asemejan a una horquilla o en crestas a lo largo de los conidióforos. En algunos casos, como en *Fusarium solani*, se pueden presentar clamidosporas, unas esporas aéreas que permanecen latentes durante mucho tiempo, y que son capaces de resistir condiciones ambientales hostiles.

De acuerdo con varias investigaciones (Arah, Amaglo, Kumah & Ofori, 2015; Rodriguez Gusman, 2021), *Fusarium oxysporum*, es la principal especie del género *Fusarium spp.* que atacan a los frutos durante su manejo postcosecha y ocasionan pérdidas económicas significativas. Esta especie se caracteriza microscópicamente porque sus células conidiógenas son monofilales, pero más cortas que *Fusarium solani*, los microconidios se disponen en cabezas húmedas. (John F. Leslie and Brett A. Summerell 2006; a INEI ANLIS 2019).

Las características macroscópicas de *Fusarium oxysporum* incluyen la presencia de un micelio blanco o rosado de aspecto algodonoso o lanudo observado en la Figura 7. Esta especie también puede producir colonias pigmentadas de color rosa o púrpura.

Se caracteriza por un crecimiento rápido. El reverso puede ser hialino, azul oscuro o púrpura. (John F. Leslie and Brett A. Summerell 2006; a INEI ANLIS 2019).

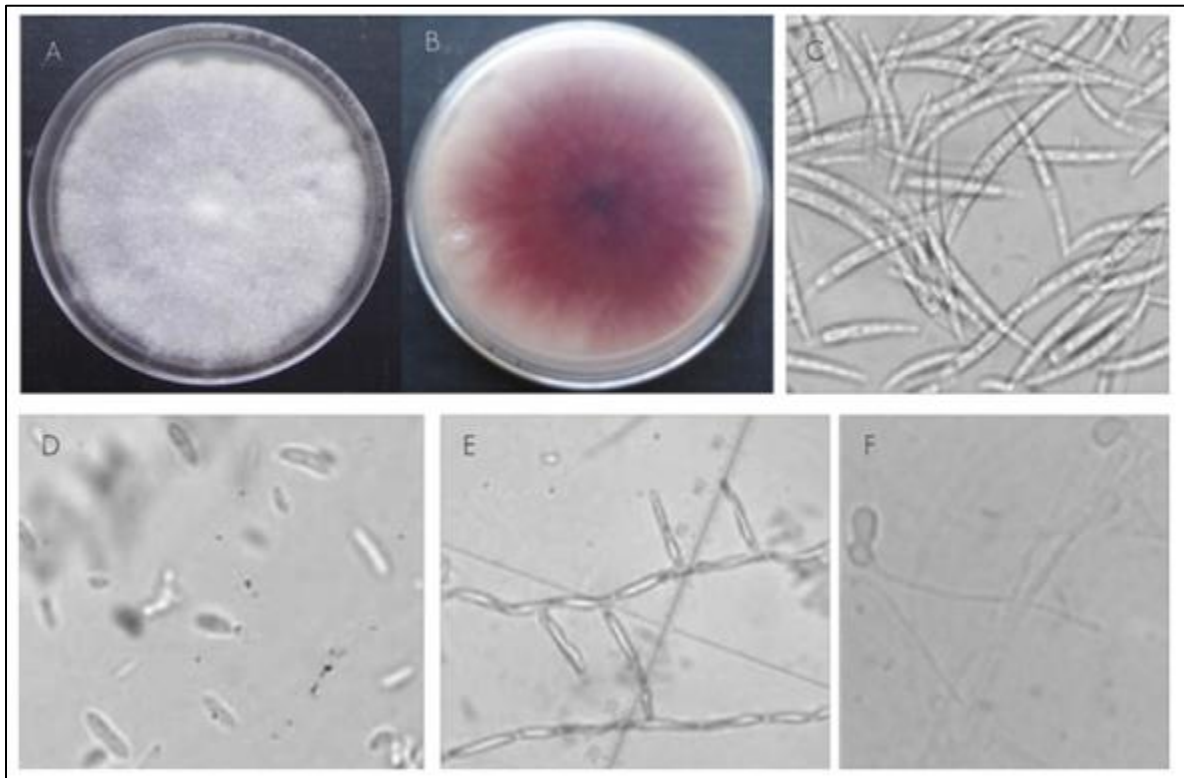


Figura 7. Morfología de colonias y estructuras de reproducción asexual de *Fusarium oxysporum* Schltld. obtenido de raíces de *Pinus spp.* con síntomas de pudrición de raíz. A) Colonia de 8 días de edad; B) Reverso de colonia con coloración roja-púrpura; C) Macroconidios; D) Microconidios; E) Fiálides; F) Clamidosporas. (Robles Yerena, et al. 2016)

2.7.3 *Rhizopus spp*

Rhizopus es un género de mohos saprófitos muy adaptable, capaz de crecer y desarrollarse en diversas temperaturas y niveles de humedad relativa. Se encuentran en una amplia variedad de sustancias orgánicas, incluyendo frutas y hortalizas (Velásquez del Valle et al., 2008) Algunas especies de *Rhizopus* son patógenos humanos oportunistas que a menudo causan enfermedades mortales llamadas zygomicosis.

Tabla 5. Clasificación taxonómica de *Rhizopus spp.* (EPPO, 2023)

Reino	<i>Fungi</i>
Filo	<i>Zygomycota</i>
Clase	<i>Mucoromycotina</i>
Orden	<i>Mucorales</i>
Familia	<i>Mucoráceas</i>
Género	<i>Rhizopus</i>

Las especies de *Rhizopus* crecen como cuerpos filamentosos y ramificados que generalmente carecen de paredes transversales (es decir, son cenocíticos). Se reproduce a través de la producción de esporas tanto asexuales como sexuales. *Rhizopus spp.* es un Zigomiceto, comúnmente encontrado en el polvo de las casas, suelo, frutas, nueces y semillas, también se presenta en alimentos en proceso de descomposición. La exposición prolongada a las esporas ha provocado reportes de problemas respiratorios (principalmente en personas inmunocomprometidas), (Rodríguez, 2016).

2.7.3.1 Morfología microscópica y macroscópica

Presenta un micelio macrosifonado (5 – 10µm), hialino, cenocítico, en los puntos en donde se conectan los esporangióforos y los estolones que presentan, se forman rizoides (esta es una diferencia del género *Absidia*, en el cual se desarrollan internodales). Los esporangióforos son largos y no se ramifican (a diferencia de *Mucor spp.*), y culminan en esporangios de gran tamaño (40 – 275µm), con esporangiosporas hialinas o ligeramente cafés como se observa en la Figura 8A (Bonifaz, 2012. Larone, 2011). Son colonias de rápido crecimiento, las especies patógenas tienden a crecer mejor a 37°C; se caracterizan porque son de tamaño ilimitado (llegan a cubrir todo el medio de cultivo). Son colonias blancas, al alcanzar la madurez (cuarto día) comienzan a adquirir una tonalidad gris oscura (la tonalidad se debe al desarrollo de las estructuras

de reproducción asexual las Endosporas), son vellosas algodonosas y secas como se muestra en la Figura 8B (Bonifaz, 2012).

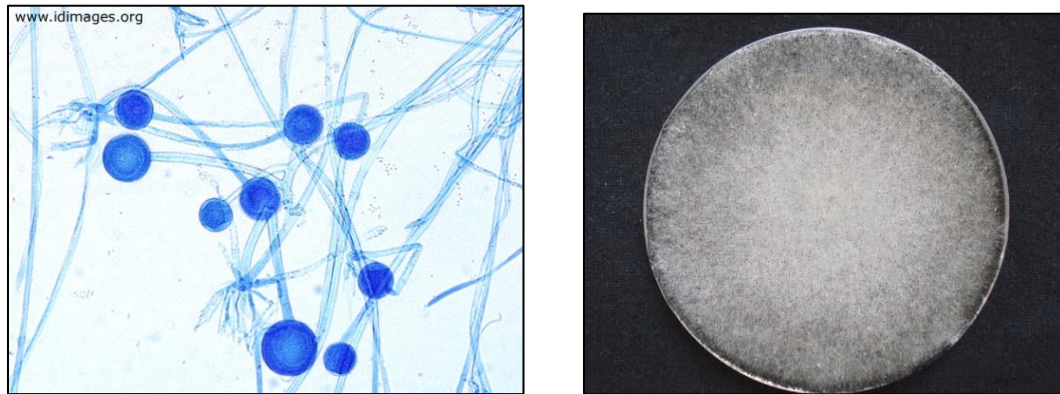


Figura 8. A) Tincion de Rhizopus spp. (azul de algodón lactofenol), observada a 10x. (Bonifaz, 2012). B) Colonia madura de Rhizopus spp., cultivada en agar dextrosa sabourad (Rodríguez, 2016).

2.8 Control químico

Los fungicidas sintéticos continúan siendo la estrategia dominante en el control de algunos mohos patógenos de frutas y hortalizas. En el caso de los frutos de tomate, esto no es una excepción. Durante varias décadas, se ha informado su uso tanto en pre como en postcosecha (Matyjaszczyk, 2015; Shamurailatpam & Kumar, 2020). Los fungicidas como Mancozeb y Azoxistrobina aplicados en frutos de tomate, a nivel *in vivo* se puede observar que genera una reducción del 50% de la lesión de la enfermedad ocasionada por *Alternaria* y *Colletotrichum* (Patel, Dange & Patel, 2005; Chapin et al., 2006).

Existen tratamientos físicos tales son los tratamientos térmicos que utilizan el calor o el frío; que ha demostrado efectos benéficos en la conservación de la calidad postcosecha; el control del daño por frío y el control de la presencia de patógenos, son seguros para el ser humano y no generan daños al ambiente. Los métodos con alta temperatura pueden utilizar agua caliente, aire caliente, vapor húmedo o uso de cepillos con agua caliente. Generalmente, las temperaturas empleadas para los tratamientos con agua caliente oscilan entre 40-60 °C y se manejan tiempos de 1 a 5 min, dependiendo del fruto a tratar (Sivakumar & Fallik, 2013).

Uno de los tratamientos utilizados para la conservación postcosecha de frutas y hortalizas es el tratamiento UV-C el cual, en un estudio realizado con frutos de tomate, se aplicó tratamiento UV-C y se observaron resultados después de 8 minutos a una dosis de 4,2 kJ/m² y almacenado a 18°C durante 35 días. Los datos obtenidos mostraron una menor producción de etileno el día 25 en comparación con los controles. Además, la actividad reducida de varias enzimas involucradas en la degradación de la pared celular (pectina metilesterasa, poligalacturonasa, celulasa), prolongó la vida útil (Bu, Yu, Aisikaer & Ying, 2013).

Las sales orgánicas e inorgánicas son sustancias químicas consideradas como aditivos y reconocidas como seguras, por sus siglas en inglés "Generally Recognized As Safe" (GRAS). Estos aditivos son ampliamente disponibles, fáciles de manejar y de bajo costo. Actualmente, se utilizan en la industria alimentaria debido a su baja toxicidad, y pueden combinarse con otros sistemas para controlar enfermedades en frutas y hortalizas como el tomate durante la etapa postcosecha (Palou, Ali, Fallik & Romanazzi, 2016). El quitosano, que es un polímero natural no tóxico y biodegradable, se ha utilizado en el control postcosecha de una amplia variedad de frutas y hortalizas (Duan et al., 2019). Su efectividad se debe a sus propiedades antifúngicas, su capacidad para inducir mecanismos de defensa en los frutos tratados y su capacidad para formar películas protectoras (Romanazzi, Feliziani & Sivakumar, 2018).

Según Rodríguez Guzmán et al. (2021), los aceites esenciales son compuestos producidos como metabolitos secundarios por las plantas y se pueden obtener de diferentes partes de su estructura, como raíces, corteza, hojas, flores, frutos, cáscaras y exudados. Estos aceites esenciales son ampliamente utilizados en la industria alimentaria y han despertado un gran interés debido a sus propiedades antimicrobianas, especialmente en la etapa postcosecha de frutas y hortalizas (Romanazzi, Feliziani & Sivakumar, 2018; Aguilar-Veloz et al., 2020).

2.9 Antimicrobianos de origen natural

Los sistemas antimicrobianos naturales como los aceites esenciales (Aes) o compuestos de origen natural son compuestos bioquímicos de plantas, animales y microorganismos se han ganado adeptos en el ámbito de la conservación alimentaria por su efecto de “Defensa natural”. Por ejemplo, en Nigeria, los productos vegetales naturales se utilizan más que los antimicrobianos convencionales. En la mayoría de los casos, los antimicrobianos se usan para prevenir el crecimiento de hongos y levaduras, y su efecto depende en gran medida del pH. Se ha demostrado que los alimentos con un pH ácido generan una mayor efecto antimicrobiano cuando se utilizan compuestos de aceites esenciales (Ismail, Pierson, 1990).

Un estudio realizado en los frutos de tomate de la variedad Río Grande demostró que al rociarlos con una concentración de 1 mg/mL de Ciprés (*Cupressus sempervirens*), se logró una reducción del 54% en la infección causada por *B. cinerea* (Rguez et al., 2018). También, cuando fue probado el compuesto citral a una concentración de 1 µl/L y se observó una reducción en la incidencia de la enfermedad del 37.4 % causada por *B. cinerea*, así como, un aumento de la actividad enzimática de la peroxidasa y fenilalanina amonio liasa (POD y PAL), relacionadas con la defensa de los frutos ante los patógenos. También se han realizado pruebas con aceites esenciales en combinación con otras sustancias antifúngicas, como el timol con ácido salicílico, y se ha observado una sinergia en su efecto preventivo, lo que ha llevado a una reducción del diámetro de la lesión del fruto de aproximadamente el 50%, causado por hongos como *Fusarium solani* y *R. stolonifera*. Las ventajas que presenta frente a otros conservadores es que son de baja toxicidad y se encuentran en abundancia en la naturaleza (Rodríguez Guzmán et al, 2021).

Rodríguez Saucedo (2011) menciona que hay ocasiones en las que los antimicrobianos no tienen ningún efecto; hasta sobrepasar su concentración crítica, esto nos lo demostró en su experimento en donde utilizaron extractos de tomillo a diferentes concentraciones para tratar de inhibir *Salmonella typhimurium*, en donde observaron que había un punto de concentración crítica el cual mostraba su efecto inhibitorio, mientras

en una concentración menor no se mostraba el efecto. Con este experimento Raibaudi, et al. (2006), interpretaron que los compuestos fenólicos “sensibilizan la membrana celular, y al saturarse los sitios de acción, la célula sufre un daño grave, provocando que se colapse la membrana”.

2.10 Compuestos puros

Los compuestos más comunes con propiedades antimicrobianas son los fenoles que son complejos volátiles que se encuentran en las especias aromáticas y los aceites esenciales. Estos compuestos, como el carvacrol, el timol y el eugenol, tienen una potente actividad antimicrobiana frente a bacterias y hongos. También hay otros compuestos con propiedades antimicrobianas; como lo es la alicina que se encuentra en el ajo y capsaicina que se encuentra en los chiles picantes. Estos compuestos pueden ser aislados y purificados para utilizarlos como agentes antimicrobianos en diversas aplicaciones, como en la industria alimentaria y farmacéutica. Es importante tener en cuenta que el uso de compuestos puros como agentes antimicrobianos debe ser evaluado cuidadosamente para garantizar su eficacia y seguridad (Rodríguez Saucedo, 2011).

2.10.1 Eugenol

El Eugenol (ácido cariofílico, ácido eugénico, 2-metoxi-4-alilfenol) es un compuesto natural que pertenece a la clase de los alilbencenos. A nivel químico es un líquido incoloro o amarillo pálido, oscurece al aire, con fuerte olor a clavo. Prácticamente insoluble en agua. Densidad: 1,066 g/ml (20 °C) e índice de refracción: 1,5410 (20 °C); su estructura molecular presenta un anillo benzénico con un grupo metoxi y una cadena alil como se muestra en la Figura 9. El eugenol se encuentra presente en varios aceites esenciales, como el aceite de clavo de olor y el aceite de canela, entre otros (ROTH, 2019).

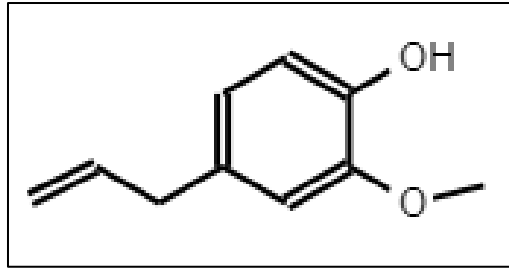


Figura 9. Estructura química de eugenol (Biomodel, 2023)

El eugenol presenta diversas propiedades farmacológicas y toxicológicas. En términos de sus propiedades farmacológicas, se ha demostrado que puede actuar como agente analgésico, anestésico y antiinflamatorio en el cuerpo humano. Además, también tiene propiedades antibacterianas, antifúngicas y antivirales. En el campo de la odontología, el eugenol se utiliza a menudo en la composición de materiales dentales, especialmente en la elaboración de cementos dentales y de relleno para cavidades. En combinación con el óxido de zinc, forma un compuesto llamado eugenolato de zinc, que se utiliza comúnmente como material de relleno dental. Por otro lado, en términos de sus propiedades toxicológicas, se ha demostrado que el eugenol puede ser tóxico en altas concentraciones. En particular, se ha encontrado que puede tener efectos negativos sobre el sistema nervioso central, el hígado y el riñón (Maldonado Ramírez et al., 2008 y González Escobar, 2002).

2.10.2 Cinamaldehído

El cinamaldehído es un compuesto orgánico que se encuentra en el aceite esencial de la canela, y es responsable de su característico aroma y sabor dulce. A nivel químico, presenta una estructura molecular con un anillo aromático y un grupo aldehído (-CHO) como se muestra en la Figura 10, y suele presentarse como un líquido aceitoso amarillo brillante (Carrizosa Balmont, 2014).

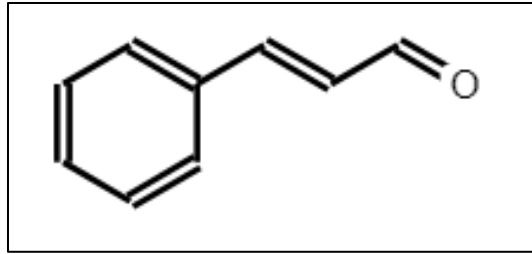


Figura 10. Estructura química de cinamaldehído (Biomodel, 2023).

Entre las propiedades físicas del cinamaldehído, destacan su densidad de 1,041 g/cm³ a 20 °C, su punto de fusión de -7.5 °C y un punto de ebullición de 252.4 °C. Es poco soluble en agua, pero se disuelve en alcohol y éter. También se presenta como un compuesto altamente reactivo, especialmente ante sustancias oxidantes y agentes reductores (ROTH, 2021). En el campo de la química, el cinamaldehído es utilizado como reactivo en diversas síntesis orgánicas, y también como materia prima para la producción de otros compuestos químicos. En el ámbito médico, tiene propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, por lo que puede ser utilizado en la elaboración de medicamentos y productos cosméticos (Casado Quesada, 2016).

2.11 Fase vapor

Los aceites esenciales que principalmente están constituidos por compuestos fenólicos (por ejemplo, carvacrol, timol o Eugenol), aldehídos y alcoholes son más efectivos en el control microbiano. Por lo contrario, los aceites esenciales ricos en linalool presentan, regularmente, menor efecto antimicrobiano (Silva Gabriela Paris, 2021)

La mayoría de los compuesto activos en los aceites son volátiles generalmente de bajo peso molecular, responsables de su bioactividad (Reyes-Jurado et al., 2015) estos compuestos pueden ser monoterpenos (80% de los aceites esenciales), sesquiterpenos y terpenoides por lo que se pueden trabajar generando una cámara para una fase en vapor.

Se han trabajado con distintos compuestos de aceites esenciales en los cuales se han visto efectos favorables, como nos refiere Silva Gabriela Paris (2021), que “En experimentos in vitro en fase gas, las esferas con AE presentaron mayor efectividad

antifúngica que el aceite libre, probablemente debido a la estabilización del AE”. Así mismo se han hecho otras investigaciones por parte del Centro de Desarrollo de Productos Bióticos del IPN (2011), en el cual han hecho estudios de la actividad antifúngica del quitosano y aceites esenciales sobre *Rhizopus stolonifer* agente causal de la pudrición blanda del tomate; en donde se muestra una inhibición por parte de los AE trabajados.

La lipofilicidad del AE es un aspecto importante para considerar cuando se aborda el tema de su actividad antimicrobiana, ya que su facilidad para traspasar la membrana celular del microorganismo es tanto mayor cuanto mayor es su lipofilicidad (Sin, C. et al., 2021). En general el modo de acción de estos compuestos fenólicos no ha sido determinado por completo; ya que se cree que puede inhibir enzimas esenciales, reacciona con las membranas celulares o el material genético para alterar la función de los lípidos, las proteínas, las concentraciones de sal, el pH y la temperatura (Rao, Chen & McClements, 2019). Los principios activos de los AE pueden variar en función de su composición; ya que puede verse afectado por ciertas variables como el genotipo de la planta, el lugar de extracción, el ambiente y los cultivos (Rodríguez Saucedo, 2011).

3. JUSTIFICACIÓN

El tomate es una hortaliza con gran demanda a nivel mundial, ya que es versátil en el consumo humano (tanto crudo o cocido); así mismo es importante en la dieta de las personas, por las vitaminas, minerales y compuestos que posee; que podría ayudar a prevenir enfermedades, tales como el cáncer o problemas de corazón. Los métodos de almacenamiento de esta hortaliza, podría generar factores favorables para el desarrollo de enfermedades que afecten a este fruto, ya sean virus, bacterias o mohos; los cuales generan pérdidas de hasta el 100%. Tan solo *Botrytis sp.* puede provocar pérdidas anuales de entre \$10 y 100 000 millones US en todo el mundo (Weiberg et al., 2013). Al tener un gran impacto en la agricultura, en la gastronomía y en la dieta humana, se busca disminuir la pérdida postcosecha del tomate; con métodos de conservación tanto físicos como químicos, los cuales pueden afectar directamente a la hortaliza cambiando sus propiedades organolépticas o fisiológicas del fruto, a la salud y al medio ambiente; es por eso por lo que se plantea evaluar la capacidad antifúngica de eugenol y cinamaldehído en fase de vapor contra *Botrytis cinérea*, *Fusarium spp.* y *Rhizopus spp.*, en tomate (*Solanum lycopersicum var uva*).

4. OBJETIVOS

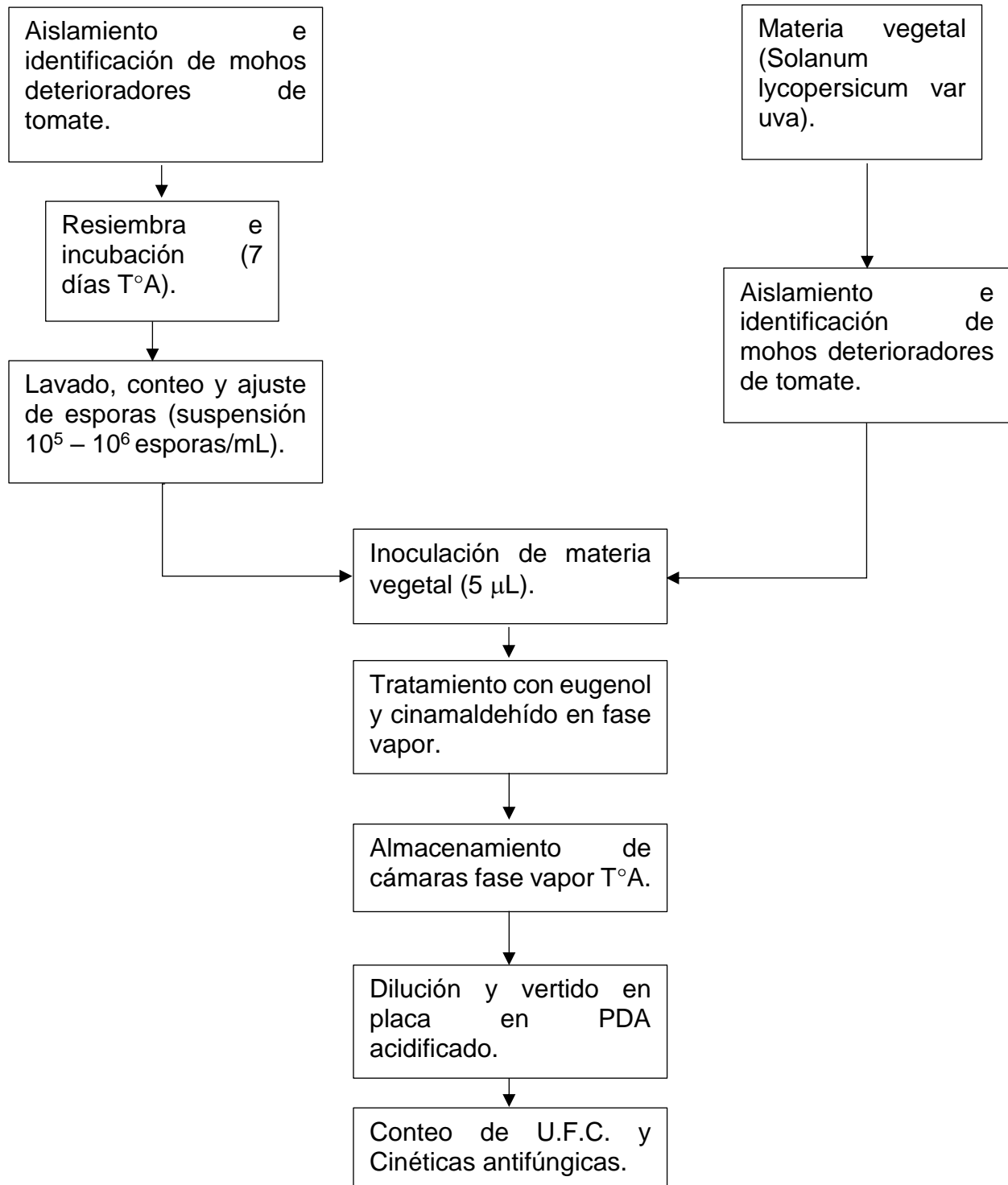
4.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad antifúngica de eugenol y cinamaldehído en fase de vapor contra *Botrytis cinérea*, *Fusarium spp.* y *Rhizopus spp.* en tomate (*Solanum lycopersicum var uva*).

4.2 Objetivos Específicos

1. Aislar e identificar a los principales mohos deterioradores presentes en el tomate (*Solanum lycopersicum var uva*).
2. Estandarizar la inoculación *in situ* de esporas de los diversos mohos deterioradores
3. Evaluar el efecto antifúngico de eugenol y cinamaldehído en fase de vapor contra *Botrytis cinérea*, *Fusarium spp.* y *Rhizopus spp.* inoculados *in situ*.

5. DIAGRAMA DE TRABAJO



6. MATERIALES Y EQUIPO

6.1 Material

El material requerido para esta tesis fue el siguiente

- Material vegetal: tomate uva (*Solanum lycopersicum var uva*) obtenidos del supermercado Walmart ubicado en la colonia Jardines de San Manuel, Puebla, Puebla; de la marca NatureSweet.
- Material de vidrio y reactivos de grado analítico: Los necesarios para cada determinación.

6.2 Equipos

Tabla 6. Descripción de equipo, marca y modelo a utilizar en esta tesis.

Equipo	Marca	Modelo
Balanza analítica	Ohuas Pionner	PA313
Autoclave	CISA	As-25
Stomacher	Seaward	400 circulator
Cuenta colonias	Solbat	Q20-2941
Vortex	FINEPCR	FINE VORTEX
Microscopio	Lomo	N980016
Cámara de Neubauer	Marienferld	0610030
Termómetro digital IR	Fluke	61

7. METODOLOGÍA

7.1 Métodos

Para la realización de esta tesis se utilizaron las siguientes técnicas mostradas en la Tabla 7

Tabla 7 Técnicas y métodos a utilizar en esta tesis con su referencia.

Método o técnica	Referencia
Aislamiento de mohos: siembra en tubo	Arias y Piñeros 2008.
Identificación de mohos deterioradores: morfología microscopía y macroscópica	INIA, 2018
Inoculación de tomate: Punción Estéril	Aguilar et al., 2015
Tratamiento fase vapor: tratamiento con compuestos puros en fase vapor	López-Malo, 2015
Realización de cinéticas microbianas a partir de dilución y vertido en placa	NOM-111-SSA1-1994, Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos

7.2 Aislamiento e identificación de mohos deterioradores de tomate

Se obtuvieron los mohos del cepario de la Facultad de Ciencias Químicas, BUAP; los cuales se aislaron en PDA acidificado con ácido tartárico al 10%, realizando hasta 3 resiembras con la finalidad de obtener cepas puras.

Los mohos encontrados en el cepario fueron los siguientes.

- *Alternaria sp.*
- *Botrytis cinerea.*
- *Colletotrichum sp.*
- *Fusarium sp.*
- *Rhizopus sp*

Se crearon cámaras como pruebas preliminares, para determinar cuáles mohos causaban un rápido deterioro del tomate. Los tomates fueron inoculados con 5 μL de esporas de una suspensión de cada moho del cepario. Una vez realizadas estas cámaras se almacenaron durante 20 días a temperatura ambiente; y se buscaron los mohos que generan un mayor efecto de pudrición en el tomate y en el menor tiempo en que tarda en hacer ese efecto, siendo evaluados de manera cualitativa, para así hacer la selección de los mohos a utilizar. Una vez seleccionados los mohos se realizó la identificación microscópica y macroscópica.

Identificación microscópica: se realizó mediante tinción de azul de metileno al 0.1% y microscopia directa de las esporas y micelios para su observación y comparación bibliográfica.

Identificación macroscópica: Se realizó mediante la comparación bibliográfica, tomando en cuenta la morfología colonial, el tamaño, forma, coloración o pigmento característico del moho y su textura.

7.3 Conteo y ajuste de esporas

Una vez identificadas las cepas, se seleccionaron los mohos a utilizar y se prosiguió a cultivarlos en picos de flauta en PDA acidificado con ácido tartárico al 10% por 7 días; una vez pasado ese tiempo se realizó un lavado de esporas agregando 10 mL de agua estéril a temperatura ambiente con el fin de generar una suspensión madre de las esporas. Posteriormente se realizó un conteo de las esporas con la cámara de Neubauer con el fin de saber cuántas esporas hay por mL. Una vez teniendo el conteo se ajustó el número de esporas; en el cual se hicieron diluciones dependiendo del resultado del conteo previo. El resultado final de la suspensión de esporas fue de 10^5 – 10^6 esporas/mL. De cada uno de los mohos seleccionados.

7.4 Obtención y limpieza de Materia vegetal

Se seleccionaron los tomates con características visibles de maduración óptima, los cuales tienen que ser lo más parecido en tamaño, maduración y sin defectos en la piel (sin fisuras o mallugados).

Una vez seleccionados los tomates necesarios para el experimento, se prosiguió a sanitizarlos en una solución de hipoclorito de sodio a 200 ppm durante 10 min. Posteriormente se enjuagaron con agua destilada y se secaron con toallas de papel. Después de que se encontraron limpios y secos, se prosiguió a pesar cada uno de los tomates a utilizar en la balanza analítica, cada uno de los pesos se registraron y se identificó el orden en que se utilizaron, con el fin de después de procesarlos de acuerdo con la NOM-111-SSA1-1994.

7.5 Inoculación de materia prima

Una vez sanitizados los tomates se prosiguió realizar una perforación a una profundidad de entre 2-3 mm en el área del pedúnculo, para inocular 5 μ L la solución de esporas hecha anteriormente, esto se realizó con la micropipeta de 10 μ L con sus puntillas respectivas y su ajuste correspondiente.

7.6 Compuestos de origen natural.

Para el tratamiento fase vapor se utilizaron eugenol y cinamaldehído a distintas concentraciones como se muestran en la Tabla 8 los cuales se colocaron en pedazos de papel filtro de un tamaño de 5x5 cm.

Tabla 8. Concentraciones utilizadas de eugenol y cinamaldehído, colocados en fase vapor

Concentración / Compuesto	Eugenol	Cinamaldehído
Baja	31 μ L/L	43 μ L/L
Media	62 μ L/L	74 μ L/L
Alta	92 μ L/L	105 μ L/L

7.7 Cámara fase vapor

Para realizar la cámara de fase vapor se utilizaron charolas plásticas, como se muestra en la Figura 11; en donde la base de la charola (parte inferior) se colocaron los tomates en moldes, con el fin de garantizar que el pedúnculo del tomate donde fue inoculado quede hacia arriba; en cada cámara se colocó 3 tomates con su respectivo moho inoculado; y en la parte superior de la cámara se colocó el papel filtro con su concentración asignada como se muestran en la Tabla 8 y se prosiguió a sellar la cámara. Los controles que se utilizaron fueron controles positivos, a los cuales no se les asignó ningún tratamiento, solo el moho inoculado y su almacenamiento correspondiente.

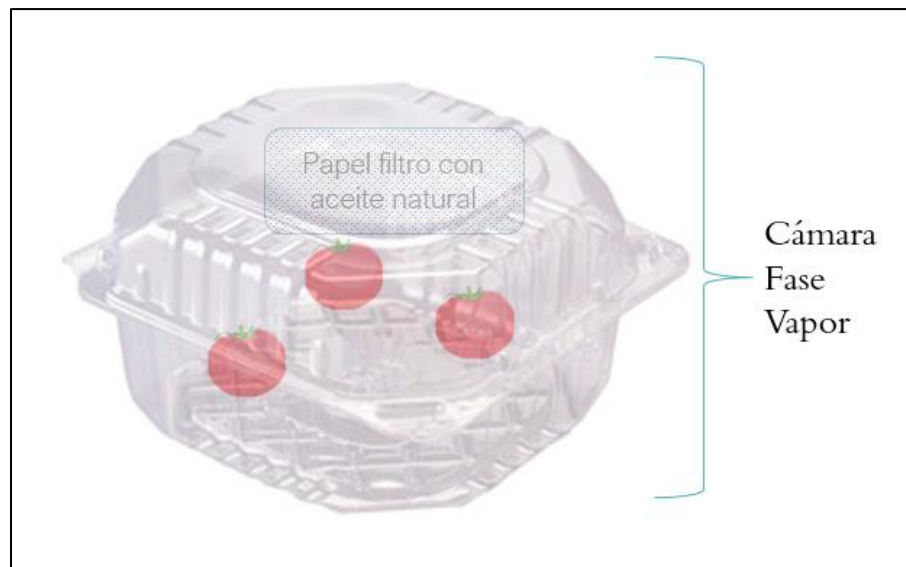


Figura 11. Esquema de cámara fase vapor terminada (Bahena Montoya, 2022).

7.8 Almacenamiento de materia prima

El almacenamiento de las cámaras se realizó a temperatura ambiente ($T^{\circ}A$); que en la ciudad de Puebla de Zaragoza que es aproximadamente de $20^{\circ}C$; durante diferentes días como se muestra en la Tabla 9; y las cámaras se almacenaron en cajas plásticas, en donde se utilizó una caja por cada moho.

Tabla 9. Días de almacenamiento de los tomates inoculados con los mohos deterioradores contra eugenol y cinamaldehído.

Tiempo en días	<i>Botrytis cinérea, Fusarium sp y Rhizopus sp</i>	
	Eugenol	Cinamaldehído
0 días	✓	✓
5 días	✓	✓
10 días	✓	-
15 días	-	✓
20 días	✓	✓

7.9 Dilución, vertido en placa y conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

Una vez transcurrido el tiempo de almacenamiento de cada cámara, los tomates se tomaron para la determinación de la UFC; esto se realizó de acuerdo con las normas oficiales mexicanas: NOM-110-SSA1-1994, y la NOM-111-SSA1-1994.

Después de que se realizaron las diluciones, se escogieron $\frac{1}{1000}$ y $\frac{1}{100000}$ para hacer el vertido como lo maneja la norma. Se prosiguió a almacenar la placas en una caja de cartón a T°A, para posteriormente hacer el conteo de las colonias obtenidas a los 5 días que menciona la NOM-111-SSA1-1994 en el cuenta colonias Solbat Q20-2941.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Aislamiento e identificación de mohos deterioradores en tomate

La primera parte de la investigación se fundamentó en determinar *in situ*, a los mohos capaces de causar el deterioro o pudrición del tomate en menor tiempo de almacenamiento. Para los cuales los mohos utilizados fueron *Alternaria sp.*, *Botrytis cinerea*, *Colletotrichum sp.*, *Fusarium sp.* y *Rhizopus sp.* Mostrando cualitativamente que *B. cinerea*, *Fusarium sp* y *Rhizopus sp* fueron los mohos que causaron una pudrición generada en menor tiempo en los tomates inoculados; siendo seleccionados para las siguientes etapas de la investigación. En la investigación hecha por la Dra. Silva Gabriela Paris (2021), menciona que realizó inoculación de *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Penicillium expansum* y *Colletotrichum gloeosporioides*, en frutos de frambuesa y zarzamora, las cuales constaron de un almacenamiento de 21 días, en donde se observó el crecimiento y efecto por la inoculación de mohos en las frutas.

8.2. Morfología microscópica y macroscópica de los mohos de rápida pudrición previamente seleccionados

8.2.1 Identificación microscópica y macroscópica de *Botrytis cinerea*.

➤ Identificación microscópica

B. cinerea, es un moho que deteriora rápidamente al tomate, en la Figura 12^a se ve la morfología microscópica obtenida en esta investigación, donde se observa un micelio alargado, con conidios ramificados y formación de esclerocios negros. Esta morfología es concordante con diversas investigaciones (Barnett & hunter,1998; Ellis,1971; Terrones Salgado, 2019), cuyos autores añaden a la morfología micelio septado, conidios sin una forma ovoide definida (Figura 12B) y conidióforos (2 mm o más) largos y ramificados, con presencia de conidios elipsoidales u ovoides, a menudo con un hilio ligeramente protuberante, incoloro a marrón pálido, liso. Por otra parte, Tauma (2023) refiere que el 79.3% de los cultivos de muestras aisladas presentaron esclerocios. Esto es importante ya que estos son peculiares de *B. cinerea* como lo menciona Beaver y Weeds (2004) quienes apoyan que el tamaño de los esclerocios, la forma y el método

de unión de las conidias a los conidióforos son útiles para delimitar algunas especies de *Botrytis*.

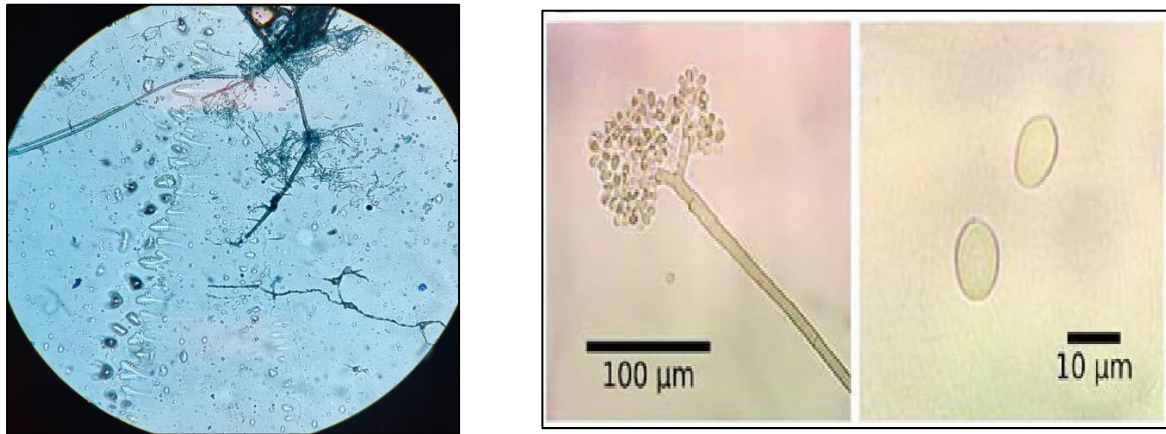


Figura 12. Morfología microscópica de *Botrytis cinerea*. 12^a) Microscopia realizada en el laboratorio (tinción con azul de metileno 0.1 % visto a 10x). 12^B) microscopia directa hecha por Terrones Salgado Et al., (2019).

➤ Morfología macroscópica

Tauma nos refiere que las colonias de *B. cinerea* en PDA se pueden clasificar en ocho tipos morfológicos y de acuerdo con Martínez *et al.* (2003) las colonias se agrupan en 2 tipos: micelial (M) y esclerocial (S). La clasificación de 8 tipos morfológicos de colonias de *B. cinerea* se agrupan en M1, M2, M3, M4, S1, S2, S3 y S4, en el cual para S toman en consideración el tamaño, forma y ubicación de los esclerocios en la placa (radial concéntrica o en el borde de la placa) y para M se considera un micelio grueso, suelto, lanudo, en masa o corto.

En la Figura 13^a se observa una colonia joven (5 días) de color blanco amarillento con un aspecto pulverulenta que de acuerdo con la clasificación de Tauma (2023) y Martínez *et al.* (2003) es una colonia S: en la microscopia se observa la formación de esclerocios y la formación de estos puede deberse a las condiciones de almacenamiento; así mismo Jarvis (1977) menciona que la luz promueve la esporulación e inhibe la formación de esclerocios en *B. cinerea*. Tomando en consideración este factor y el hecho de que es una colonia joven; no se observa la formación de esclerocios en la placa. Las

colonias de *B. cinerea* por lo general inician con un color blanquecino y con el tiempo van tomando coloraciones gris-amarillenta hasta llegar a formar colonias color gris (Ellis, 1971; y Barnett y Hunter, 1998), como se muestra en la Figura 13B.

Tauma aisló a *B. cinerea* en arándanos, encontrando que el 79.3% de las colonias aisladas se clasificaron de tipo S; mientras que el 20.7% restante fueron M. Estos hallazgos coinciden con otras investigaciones con diferentes hospedadores (Martínez *et al.*, 2003 y Gaber *et al.*, 2019).

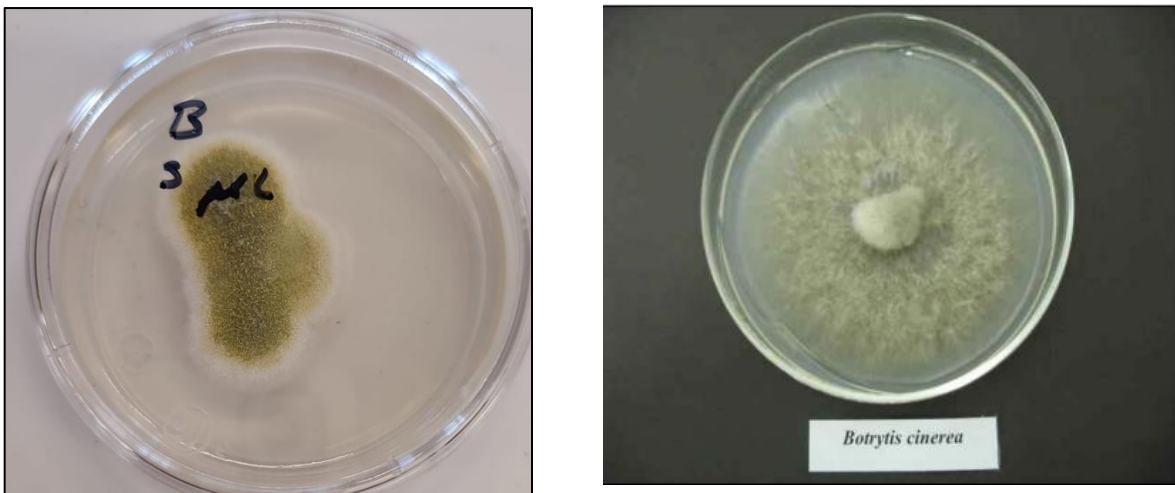


Figura 13. Morfología macroscópica de *Botrytis cinerea*. En la Figura 13^a) se muestra la colonia realizada en PDA acidificado con ácido tartárico al 10%. Figura 13B) la colonia de *Botrytis cinerea* hecha por Memenza Miriam (2009).

8.2.2 Identificación microscópica y macroscópica de *Fusarium sp.*

➤ Identificación microscópica.

En la Figura 14^a se puede observar hifas alargadas, ramificadas y septadas, así mismo se ven macroconidias que tiene de 2 a 3 septos con forma curveada o de horquillas; de acuerdo con Macias *et al.* (2015) *Fusarium spp.* se caracteriza por tener macroconidias con septos que van de 2 a 5. Así mismo se ve la presencia de monofiálides y la presencia de unas pocas clamidosporas que se encuentran individuales y en las partes terminales de los monofiálides. De acuerdo con John F. Leslie and Brett

A. Summerell (2006); a INEI ANLIS (2019) *F. Oxysporum* se diferencia porque sus células conidiógenas son monofilales, pero más cortas que *F. solani*; por su parte Macias Camacho et al. (2015) describen microscópicamente de una forma general a *Fusarium spp.* como macroconidias septadas, alargadas y ligeramente curvas; y que produce microconidios en abundancia.

De acuerdo con Bohórquez y Díaz (2010) describen a *F. oxysporum* como macroconidias que tiene de 1 a 5 septos y las microconidios de forma ovoide o de riñón y ocasionalmente de 1 a 2 septos, que nacen de estructura monofiálides, tal como se muestra en la Figura 14B de Robles Yerena et al (2016); en donde se muestra abundantes microconidios y monofiálides. Otra de las características del género *Fusarium* es la presencia de clamidosporas en algunas especies como son *F. oxysporum* y *F. solani* (Bohórquez y Díaz, 2010), las cuales se describen en abundancia, de gran tamaño, hialinas, de pared lisa o rugosa y que se pueden encontrar aisladas o en parejas, intercalares o terminales. Macias Camacho et al. (2015) menciona en su trabajo que, en *F oxysporum* se forman clamidosporas individuales o en pares.

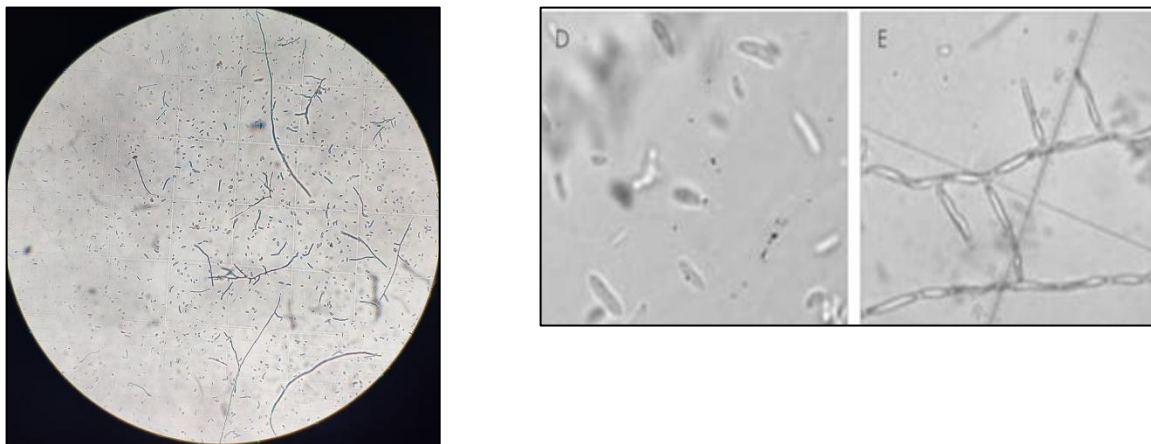


Figura 14. Morfología microscópica de *Fusarium spp.* En la figura 14^a) la microscopia realizada por en el laboratorio (muestra directa a 10x). Figura 14B) microscopía directa hecha por Robles Yerena et al., (2016).

- Identificación macroscópica.

La morfología macroscópica se muestra en la Figura 15^a, como una cepa joven de 5 días notado por su poco crecimiento en la placa, caracterizada por la presencia de un color blanco y algodonoso característico de las cepas de *Fusarium spp.* En la Figura 15B de Robles Yerena et al., (2016) se puede observar una colonia joven de 8 días de edad, la cual presenta un crecimiento rápido y de color blanco, característico de una cepa joven.

Retana et al. (2017), describieron los primeros estados de desarrollo de *Fusarium sp.* aislado de arándano y cultivado en PDA con un crecimiento algodonoso de color blanquecino-rosa, en sus primeros estados de desarrollo, posteriormente con forme el micelio se fue desarrollando se tornó en el centro un color levemente a purpura. Bohórquez y Díaz (2010) dicen que el crecimiento en PDA es rápido iniciando con colonias es lisas y algodonosas; y que con el tiempo obtiene un aspecto como el fieltro, de color blanco o salmón pálido, tiñéndose de purpura su zona central. Las esporodoquia, presente en algunas cepas, da una coloración crema anaranjada al cultivo; así mismo Macias Camacho et al, (2015) describen que las cepas de *Fusarium spp.* presentan micelio blanco, algodonoso con producción de un pigmento difusible a rosa.

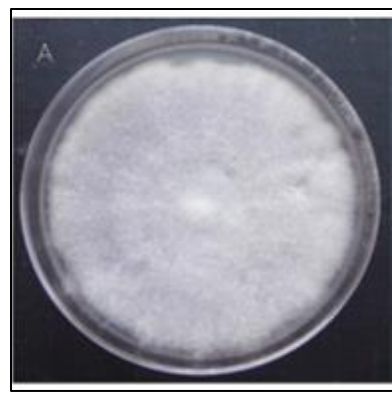


Figura 15. Morfología macroscópica de *Fusarium spp.* en PDA acidificado con ácido tartárico al 10%. En la figura 15^a se muestra el cultivo realizado en esta investigación. Figura 15B colonia realizada por Robles Yerena et al., (2016).

8.2.3 Identificación microscópica y macroscópica de *Rhizopus sp.*

➤ Identificación microscópica.

En la Figura 16A muestra la microscopia de *Rhizopus* donde se aprecia la estructura de un esporangióforo con micelio no septado con una tonalidad oscura (color puede ser atribuido a la tinción). En la parte superior de la microscopia se encuentra un esporangio con forma subglobosa y color más oscuro, característico de *Rhizopus spp.* Además, en todo el campo se observan pequeñas estructuras que pertenecen a las esporangiosporas. Esta última información no es concordante con lo mostrado por Lezcano et al (2010), Figura 16B ya que en la imagen no se apreciar la forma de las esporangiosporas, pero si se observan algunos rizoides. De igual forma no se aprecian las estructuras de estolón característico de la unión de esporangióforos de *Rhizopus spp.* Lezcano et al. (2010) realizaron una descripción más amplia de *Rhizopus spp.* como un saprofito con esporangióforos con un tamaño de 900 a 3100 μm de largo de paredes lisas, no septado de color pardo claro, que surgen en grupos de 3 o más (dependiendo la especie), a partir de rizoides y estolones opuestos, los cuales son hialinos. Los esporangios tienen forma globoso o subglobosa, con una coloración inicial blanca y después negra.

Las esporangiosporas presentan diversas formas: alargadas, ovaladas y redondas, pero casi siempre son irregulares de tamaño variable; esta descripción concuerda con Malone y Muskett (1964) para hacer referencia a la especie de *R. stolonifer*. Por otro lado, Farrera et al. (2007) señala que en los primeros estadios del micelio es blanco o hialino y después torna a una leve coloración marrón y que las esporangiosporas son oscuras, redondeadas de superficie rugosa. En una investigación realizada por Cruz Lachica et al. (2017) sobre la pudrición blanda en frutos de papaya describen a *R. oryzae*, con micelio aéreo de color blanco en un inicio y posteriormente grisáceo con esporangios de color café oscuro a negro, que contiene esporangiosporas de apariencia estriada. En este caso en la Figura 17B se muestra la microscopia de

Rhizopus sp. observando los esporangios del zigomiceto, así como algunos rizoides, en la base de los esporangióforos que no se ramifican.

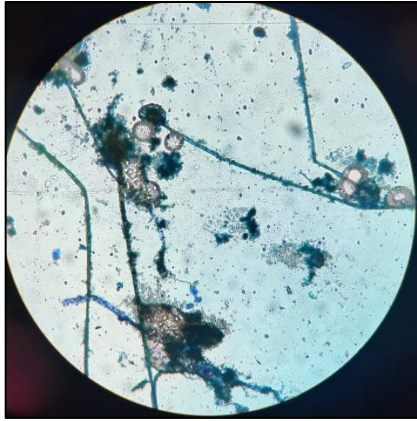


Figura 16. Morfología microscópica de *Rhizopus sp.* Figura 16A) microscopia realizada en el laboratorio (tinción con azul de metileno 0.1 % visto a 10x). Figura 16B microscopia de *Rhizopus sp.* realizada por Bonifaz (2012).

➤ Identificación macroscópica.

La Figura 17B muestra la morfología de referencia de Rodríguez (2016), con la imagen de una colonia madura de *Rhizopus spp.* de morfología vellosa, algodonosa, blanca grisácea por la madurez del cultivo. Estos datos son parcialmente comparables con la Figura 17A, ya que muestra una colonia micelial de blanco a gris, algodonosa, con la aparición de tonalidades café a marrón y unos puntos de coloración negra indicando la presencia de esporangios característica de las cepas de *Rhizopus spp.*

En la investigación de Farrera et al. (2007), en el cual aislaron a *R. stolonifer* en PDA mencionan que muestran un micelio blanco en los primeros estadios y luego cambian a marrón en donde se destacan puntuaciones negras. En comparación de los aislamientos hechos por Lezcano et al. (2010) en PDA, describen que obtuvieron cepas color blanca algodonosas cuando son jóvenes y se tornaron a color parduzco con la madurez, y una característica importante de *Rhizopus spp.* es que es un rápido crecimiento; ellos describen que las colonias cubrieron la placa Petri a las 24 a 48 h. en

cuanto a *R. oryzae* descrito por Cruz Lachica et al., menciona que tiene un micelio aéreo color blanco en un inicio y posteriormente grisáceo.



Figura 17. Morfología macroscópica de *Rhizopus spp.* en PDA acidificado con ácido tartárico al 10%. Figura 17A) se muestra el cultivo realizado en esta investigación. Figura 17B) colonia de *Rhizopus sp* hecha por Rodríguez, (2016).

8.3. Evaluación antifúngica del eugenol y cinamaldehído en fase vapor

La evaluación antifúngica de los compuestos volátiles se obtuvo a partir de los datos obtenidos del vertido en placa (NOM-111-SSA1-1994). Estos valores permitieron realizar las cinéticas de cada moho deteriorador a 20 días de almacenamiento. Las cinéticas de crecimiento de los mohos deterioradores contrastan con el efecto de inhibición de crecimiento (ciclos logarítmicos) que se produce, cuando se utilizan las diferentes concentraciones de compuestos puros. En la Figura 19A y 19B se muestra el efecto que ocasionó el eugenol y cinamaldehído vs *B. cinerea* respectivamente.

En la Figura 19A se observa el efecto de eugenol a los 5 días de almacenamiento mostrando que no existe diferencia (≤ 1 ciclo log) entre ninguna de las concentraciones utilizadas (concentración baja: 30.8 $\mu\text{l/L}$, media: 61.6 $\mu\text{l/L}$ y alta: 92.4 $\mu\text{l/L}$) y el control. No obstante, después de los 10 días de almacenamiento se logró un efecto significativo en todas las concentraciones (≥ 1 ciclo log), siendo la concentración de 30.8 $\mu\text{l/L}$ la que mostro menor inhibición; esta tendencia siguió durante los siguientes días mostrando la mayor inhibición a los 20 días de almacenamiento en donde se logró disminuir hasta 3

ciclos log en todas concentraciones utilizadas sin que exista una diferencia significativa entre ellas (alta, media y/o baja).

Un efecto contrastante se observó con el cinamaldehído vs Botritis (Figura 19B), ya que al día 5 de almacenamiento no se mostró ningún efecto entre los jitomates con y sin las diversas concentraciones del compuesto puro (concentración baja: 43.1 $\mu\text{l/L}$, media: 73.9 $\mu\text{l/L}$ y alta: 104.7 $\mu\text{l/L}$) en fase vapor. Sin embargo, al aumentar los días de almacenamiento se puede observar el efecto inhibitorio de todas las concentraciones de cinamaldehído con respecto al control. Al día 15 de almacenamiento la concentración de 104.7 $\mu\text{l/L}$ alcanza la mayor diferencia con 2 ciclos log respecto al control. Finalmente, a los 20 días de almacenamiento se muestra que el efecto inhibitorio de la concentración de 43.1 $\mu\text{l/L}$ disminuye (≤ 1 ciclo log), con una tendencia a igualar al crecimiento del control. Pero las concentraciones de 73.9 $\mu\text{l/L}$ y 104.7 $\mu\text{l/L}$ siguen con la tendencia inhibitoria ≥ 1 ciclo log. El efecto que tiene la concentración baja puede deberse a 3 factores: 1) que la concentración de cinamaldehído se haya saturado, 2) que por su naturaleza el efecto inhibitorio se termine, 3) *B. cinerea* genere una resistencia después de días de almacenamiento con cinamaldehído.

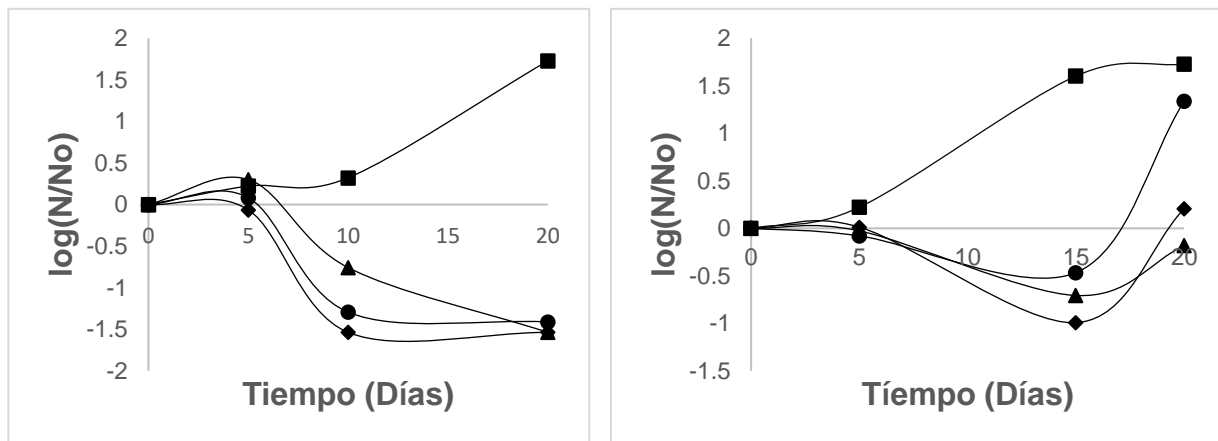


Figura 19. Cinética de *B. cinerea* inoculado en tomate uva con diferentes concentraciones de eugenol 18A y cinamaldehído 18B colocado en fase de vapor (mL/L de aire), almacenado por 20 días (25° C). ■: sin compuesto puro, ▲: concentración baja, ●: concentración media y ◆: concentración alta. (Eugenol. Baja: 31 mL/L, Media: 62 mL/L, Alta: 92 mL/L. Cinamaldehído. Baja: 43 mL/L, Media: 74 mL/L, Alta: 105 mL/L).

Fusarium sp. fue otro moho deteriorador evaluado en tomate uva, quien mostró mayor resistencia a las concentraciones de eugenol en comparación con *B. cinerea*. En la Figura 20A se muestra este efecto ya que el mayor efecto inhibitorio (1 ciclo log), lo logró a la concentración más alta de eugenol (92.4 $\mu\text{l/L}$). Esta tendencia sigue a los 10 días de almacenamiento, ya que es la única concentración capaz de aumentar el efecto inhibitorio a 1.5 ciclos log. Es decir, las concentraciones $\leq 92.4 \mu\text{l/L}$ no tienen efecto significativo en comparación con el control. Sin embargo, a los 20 días de almacenamiento el efecto aumento, la concentración alta alcanzó una inhibición de 2.5 ciclos log y la concentraciones baja y media obtuvieron un efecto ≤ 1.5 ciclos log en comparación con el control.

El comportamiento de cinética es diferente en la Figura 20B de cinamaldehído; este no presenta ninguna diferencia significativa en los primeros días de almacenamiento en las concentraciones baja y media en comparación del control; pero a los 15 y 20 días se nota como se inhibe el crecimiento de *F sp.* siendo como máximo efecto a los 20 días por la concentración alta, alcanzando su efecto inhibitorio de hasta 1.5 ciclos log; que es menor al efecto alcanzado por eugenol.

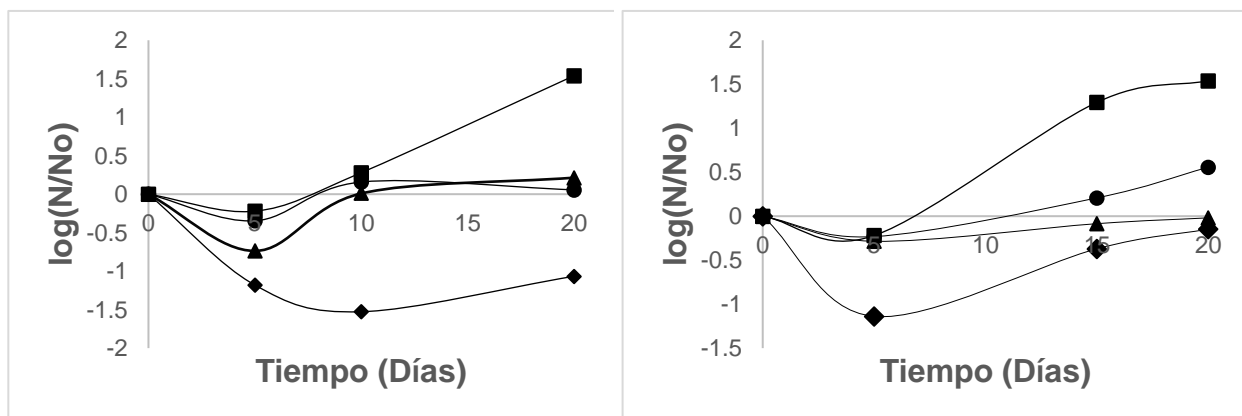


Figura 20. Cinética de *Fusarium sp.* inoculado en tomate uva con diferentes concentraciones de eugenol 19A y cinamaldehído 19B colocado en fase de vapor (mL/L de aire); almacenado por 20 días (25° C). ■: sin compuesto puro, ▲: concentración baja, ●: concentración

media y ♦: concentración alta. (Eugenol. Baja: 31 mL/L, Media: 62 mL/L, Alta: 92 mL/L. Cinamaldehído. Baja: 43 mL/L, Media: 74 mL/L, Alta: 105 mL/L).

En el caso de *Rhizopus sp.* es muy particular, tal y como se observa en la Figura 21A y 21B hay un mayor efecto de resistencia en ambos casos. La tendencia del control a lo largo de los 20 días fue de un crecimiento lento pero exponencial y en el caso de las concentraciones de eugenol, se observa que la concentración baja tiene un efecto de 1 ciclo log hasta los 20 días y la concentración más alta alcanza un efecto de 2 ciclos log. En el caso de cinamaldehído la concentración baja tiende a tener un efecto nulo frente a *Rhizopus sp.*, mientras que las concentraciones medias y altas a los 20 días de almacenamiento demostraron el mejor efecto generando; un efecto de inhibición de 2 ciclos log.

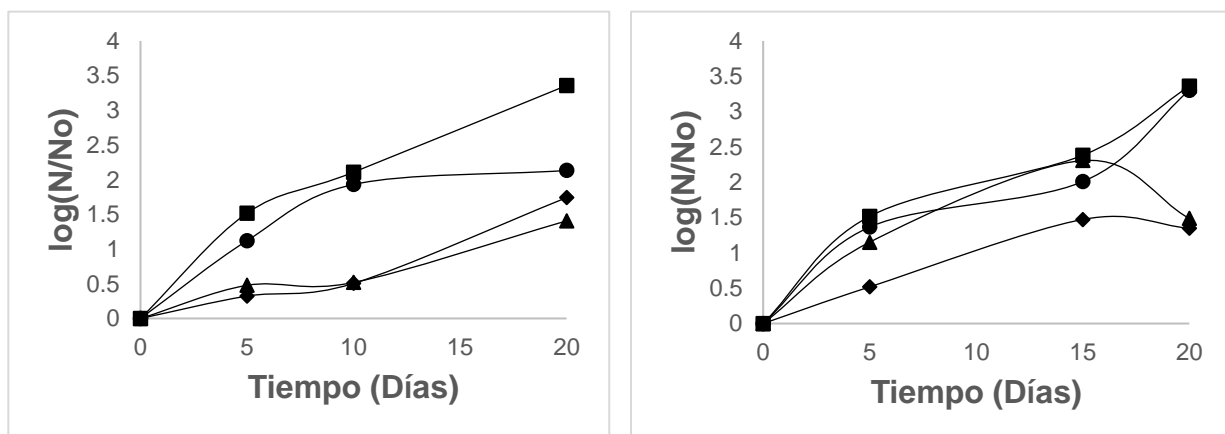


Figura 21. Cinética de *Rhizopus sp.* inoculado en tomate uva con diferentes concentraciones de eugenol 20A y cinamaldehído 20B colocado en fase de vapor (mL/L de aire), almacenado por 20 días (25° C). ■: sin compuesto puro, ▲: concentración baja, ●: concentración media y ◆: concentración alta. (Eugenol. Baja: 31 mL/L, Media: 62 mL/L, Alta: 93mL/L. Cinamaldehído. Baja: 43 mL/L, Media: 74 mL/L, Alta: 105 mL/L).

El efecto inhibitorio fungistático que generó eugenol y cinamaldehído puede deberse a distintos factores como se describen en la literatura; en donde los compuestos puros como el eugenol tienen actividad bacteriana y fungicida como lo explica Gill et al. (2006) en su trabajo "Inhibición de ATPasas unidas a membrana de *Escherichia coli* y

Listeria monocytogenes"; explicando el mecanismo por el cual afecta las ATPasa unidas a la membrana; teniendo efectos en la producción de ATP y en la regulación del pH.

Así mismo se han descrito en varias investigaciones los efectos que tiene eugenol como agente conservante en alimentos; Jahanshiri et al.(2015), en su investigación "Efecto inhibitor del eugenol sobre la producción de aflatoxina B1 en *Aspergillus parasiticus* al regular negativamente la expresión de genes importantes en la vía biosintética de la toxina" demuestran el efecto que tiene eugenol a distintas concentraciones; ellos encontraron que de acuerdo a la concentración que se aplicaba de eugenol, era el efecto de inhibición ante *A. parasiticus*, teniendo en cuenta que igual logró disminuir la expresiones de genes *ver-1*, *nor-1*, *pksA*, *omtA* y *aflR*, disminuyendo así mismo las aflatoxinas.

En la trabajo realizado por Casado Quesada (2016) en el cual nos muestra "Propiedades antimicrobianas y liberación de cinamaldehído en films de PLA" demuestra que todo los films fueron efectivos en el control antimicrobiano para *E coli* y *L. innocua*, así mismo muestra en su cinética de crecimiento el efecto bacteriostático que posee cinamaldehído; en su investigación se observa la cinética de liberación de cinamaldehído en el cual utilizaron 2 tipos de alimentos, uno con pH neutro y uno de pH ácido, en donde se puede observar que desde el día 1 hay efecto de liberación y los valores de equilibrio se alcanzan a tiempos largos de contacto (del orden de 8-16 días), dependiendo del simulante y del film.

En cada una de las cinéticas de *B cinerea*, *Fusarium sp.* y *Rhizopus sp.*, puede observar un efecto fungistático, esto dependiendo de cada una de las concentraciones aplicadas, teniendo en cuenta que el mayor efecto lo obtuvo la concentración alta en todos los casos y siendo la excepción de un efecto fungistático la concentración menor de cinamaldehído vs *Rhizopus sp.* por lo que puede deberse a distintos factores como:

- 1) La concentraciones utilizadas de cinamaldehído fueron muy bajas para poder alcanzar un efecto de inhibición notorio en las cinéticas de *Rhizopus sp.*
- 2) Pudo haber un escape de la fase gaseosa de cinamaldehído en la cámara realizada.
- 3) Otro de los factores

puede ser que *Rhizopus sp.* pudo generar resistencia a las concentraciones bajas de cinamaldehído.

9. CONCLUSIONES

- Se logró aislar los principales mohos que causan un mayor efecto de deterioro en tomate (*Solanum lycopersicum var uva*).
- Se logró identificar de manera micro y macroscópicamente a *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp* y *Rhizopus sp*. principales mohos que causan un efecto de podrición rápida en tomate.
- Se evaluó el efecto antifúngico de eugenol y cinamaldehído vs mohos deterioradores, concluyendo que a concentraciones altas propuestas (92 $\mu\text{L/L}$ para eugenol y 105 $\mu\text{L/L}$ para cinamaldehído) se ve el mayor efecto antifúngico.
- Eugenol presentó un mayor efecto fungistático que cinamaldehído.
- *Rhizopus sp*. fue el moho que tuvo mayor resistencia a los tratamientos de eugenol y cinamaldehído.

10. SUGERENCIAS

- Realizar cinéticas utilizando concentraciones más altas de eugenol y cinamaldehído.
- Utilizar otros tipos de compuestos naturales a diferentes concentraciones.
- Determinar análisis sensoriales a los tomates con eugenol y cinamaldehído a sus distintas concentraciones utilizadas (para determinar que los compuestos no afecten sus características organolépticas).
- Utilizar microscopia electrónica de barrido para observar el daño o efecto causado por eugenol y cinamaldehído a nivel morfológico de los mohos.
- Determinar el mecanismo de acción de eugenol y cinamaldehído sobre *Botrytis cinérea*, *Fusarium sp* y *Rhizopus sp*.

11. BIBLIOGRAFIA

Aguilar-González, A. E., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative food science & emerging technologies*, 32, 181-185.

Agro Krebs. (2020). Taxonomía y morfología del tomate. Recuperado de: https://www.facebook.com/agrokrebs/posts/961541747663611/?locale=ar_AR

Aguilar-Veloz, L. M., Calderón-Santoyo, M., Vázquez González, Y. & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2020). Application of essential oils and polyphenols as natural antimicrobial agents in postharvest treatments: Advances and challenges. *Food Science & Nutrition*, 8(6), 2555-2568. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1437>.

Alvarado Hernández, AM, Barrera Necha, LL, Hernández Lauzardo, AN, & Velázquez del Valle, MG (2011). Actividad antifúngica del quitosano y aceites esenciales sobre *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill., agente causal de la pudrición blanda del tomate. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIII (2), 127-134.

Alejandrez. (2017). Introducción al moho gris. UGTO. Recuperado de: <http://repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/374/2/273491b.pdf>

Alvarado Hernández, Alejandra María, Barrera Necha, Laura Leticia, Hernández Lauzardo, Ana Niurka, & Velázquez del Valle, Miguel Gerardo. (2011). Actividad antifúngica del quitosano y aceites esenciales sobre *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill., agente causal de la pudrición blanda del tomate. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 13 (2), 127-134. Recuperado el 31 de julio de 2023, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-34752011000200011&lng=en&tlng=es.

Arah, I. K., Amaglo, H., Kumah, E. K. & Ofori, H. (2015). Preharvest and post-harvest factors affecting the quality and shelf life of harvested tomatoes: A mini review. *International Journal of Agronomy*, (2015) 1–6. <https://doi.org/10.1155/2015/478041>

Argerich, C., Troilo, L., Rodríguez-Fazzone, M., Iquierdo, J., Strassera, M. E., Balcaza, Luis., Dal-Santo, S., Miranda, O., Rivero, M. L., González-Castro, G., Iribarren, M. J., (2010). Manual de Buenas Prácticas Agrícolas en la Cadena de Tomate.

August Groft, (2022). Grape Tomato vs Cherry Tomato: Is There a Difference?. Grape Tomato vs Cherry Tomato: Is There a Difference? - AZ Animals (a-z-animals.com)

Arias Cifuentes Edna Lorena y Piñeros Espinoza Paola Andrea. (2008). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelos de los Paramos de Guasca y Cruz Verde. Pontificia Universidad de Javeriana. Recuperado de:

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8233/tesis226.pdf?sequence=1>

Barnett, H.L., and Hunter, B.B. (1998) Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 4th Edition, APS Press, St. Paul, 218 p.

Beckles, D. M. (2012). Factors affecting the postharvest soluble solids and sugar content of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 63(1), 129-140.

Beever, R.E., Weeds, P.L. (2004). Taxonomy and genetic variation of *Botrytis* and *Botryotinia*. In: Elad, Y, Williamson, B, Tudzynski, P, and Delen, N. *Botrytis*, Biology, Pathology and Controls. Netherland, Kluwer Academic Publisher. p. 29-52

Biomodel. (2023). Estructura de eugenol y cinamaldehído. Elaborado en: <https://biomodel.uah.es/en/DIY/JSME/draw.es.htm>

Bohórquez Parra L. F. y Diaz Torres Y. K. (2010) Tesis: Evaluación de aislamiento de *Fusarium* spp. de diferentes orígenes, frente a factores de crecimiento asociados a patógenos. Facultad de ciencias, Pontificia Universidad Javeriana.

Bonifaz, A. (2012) Micología Médica Básica, Capítulo 5: Hongos Contaminantes, 4 edición, McGrawHill: México. pag 63, 600p. Recuperado de: <https://atlasdemicologia.wordpress.com/2016/03/18/rhizopus-spp/>

Bu, J., Yu, Y., Aisikaer, G. & Ying, T. (2013). Postharvest UV-C irradiation inhibits the production of ethylene and the activity of cell wall-degrading enzymes during softening of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit. *Postharvest Biology and Technology*, **86**, 337-345. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.07.026>.

Carrizosa Balmont Christian. 2014. Cinamaldehídono sólo un dulce aroma. MoleQla: revista de Ciencias de la Universidad Pablo de Olavide, ISSN-e 2173-0903, Nº. 14, 2014, 4 págs.

Carlos A. Rodríguez-Guzmán, Beatriz Montaña-Leyva, Rita M. Velázquez-Estrada, Jorge A. Sánchez-Burgos, María de Lourdes García-Magaña, Ramsés R. González-Estrada y Porfirio Gutiérrez-Martínez. (2021). Estado actual de métodos alternativos, de control de hongos y su efecto en la calidad postcosecha de frutos de jitomate (*Solanum lycopersicum*). TIP Rev.Esp.Cienc.Quím.Biol. Vol. 24. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revespciequibio/cqb-2021/cqb211al.pdf>

Casado Quesada Alba, Justine Muller, Amparo Chiralt Boix. (2016). TRABAJO FIN DE MÁSTER UNIVERSITARIO PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS Y LIBERACIÓN DE CINAMALDEHÍDO EN FILMS DE PLA. Instituto de la ingeniería de alimentos para el desarrollo (IIAD), Camino de Vera s/n, Universidad Politécnica de

Valencia (UPV), 46022 Valencia. Recuperado de: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/71707/CASADO%20-%20Propiedades%20antimicrobianas%20y%20liberaci%C3%B3n%20de%20cinamaldehido%20en%20films%20de%20PLA.pdf?sequence=1>

Chapin LJG, Wang Y, Lutton E, Gardener BBM. Distribution and Fungicide Sensitivity of Fungal Pathogens Causing Anthracnose-like Lesions on Tomatoes Grown in Ohio. *Plant Dis.* 2006 Apr;90(4):397-403. doi: 10.1094/PD-90-0397. PMID: 30786584.

Covilli. (2020). Tomate uva. Recuperado de: <https://www.smartfinal.com.mx/tomate-uva-covilli/>

Cruz Lachica, Isabel, Márquez-Zequera, Isidro, García-Estrada, Raymundo Saúl, Carrillo-Fasio, José Armando, León-Félix, Josefina, & Allende-Molar, Raúl. (2017). Identificación de hongos mucorales causantes de la pudrición blanda en frutos de papaya (*Carica papaya* L.) en México. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(3), 397-417. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1611-3>

Duan, C., Meng, X., Meng, J., Khan, M.I.H., Dai, L., Khan, A., An, X., Zhang J., Huq, T. & Ni, Y. (2019). Chitosan as a preservative for fruits and vegetables: A review on chemistry and antimicrobial properties. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 4(1), 11–21. <https://doi.org/10.21967/jbbv4i1.189>

Ellis, M.B. (1971). *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew, Surrey, England. Commonwealth Mycological Institute. p. 608.

EPPO. 2023. *Botrytis*. En línea: <https://gd.eppo.int/taxon/1BOTRG> Fecha de consulta Junio de 2023.

EPPO. 2023. *Fusarium*. En línea: <https://gd.eppo.int/taxon/1FUSAG> Fecha de consulta: junio de 2023.

EPPO. 2023. *Rhizopus*. En línea <https://gd.eppo.int/taxon/1RIZPG> Fecha de consulta Junio 2023.

FAOSTAT. 2021. Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. Disponible en: <https://www.fao.org/faostat/es/#data> fecha=02/04/2022.

Farrera P, R.E, Zambrano V, A.E, & Ortiz M, F.A. (2007). Identificación de hongos asociados a enfermedades del fruto de la fresa en el municipio Jáuregui del estado Táchira. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 24(2), 269-281. Recuperado de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182007000200005&lng=es&tlng=es.

Fillinger, S., & Elad, Y. (Eds.). (2016). *Botrytis: the fungus, the pathogen and its management in agricultural systems* (pp. 189-216). Switzerland: Springer International Publishing

FIRA. (2016). Panorama Agroalimentario. Tomate Rojo 2016. Dirección de Investigación y Evaluación Económicas y Sectorial.

Gaber, M.A., Wagih, E.E., Shehata, M.R., Fahmy, M.M., & Wahab, H.A. (2019). Detection and Characterization of *Botrytis cinerea* Isolates from Vegetables in Egypt. ("Detection and Characterization of *Botrytis cinerea* Isolates from ...") International Journal of Phytopathology.

GILL, A. O.; HOLLEY, R. A. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. International Journal of Food Microbiology, n. 111, p. 170–174, 2006.

Gómez Martínez, Jorge & Fernández, Vidal & Fuentes, Evert. (2018). Adaptabilidad y potencial agronómico de 12 cultivares de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en condiciones de casa malla, Managua, Nicaragua. La Calera. 16. 1. 10.5377/calera.v16i26.5990.

González Escobar, Raimara. (2002). Eugenol: propiedades farmacológicas y toxicológicas. Ventajas y desventajas de su uso. *Revista Cubana de Estomatología*, 39(2), 139-156. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072002000200005&lng=es&tlng=es.

González Pablo. 2006. ENFERMEDADES DEL TOMATE. En línea: http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tom.html. Fecha de consulta Julio 2023.

INEGI. (2019). Producción de jitomate en invernadero. Recuperado de: <https://www.gob.mx/agricultura/cdmx/articulos/produccion-de-jitomate-en-invernadero?idiom=es>

INIA. (2018). Manejo Integrado de Plagas y Enfermedades. Pudrición gris en tomate. Ficha técnica 10. Centro Regional INIA La Platina

Ismaiel, A. y Pierson, M.D. 1990. Inhibitory of growth and germination of *C. Botulinum* 33A, 40B Y 1623E by essential oil of apices. *J. Food Sci.* 55(6):1676.

Jahanshiri, Z., Shams-Ghahfarokhi, M., Allameh, A. *et al.* Efecto inhibitor del eugenol sobre la producción de aflatoxina B₁ en *Aspergillus parasiticus* al regular negativamente la expresión de genes importantes en la vía biosintética de la toxina. *Mundo J Microbiol Biotechnol* 31, 1071–1078 (2015). <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1857-7>

Leslie, J. F. Sumerell, B.A. (2006). The Fusarium Laboratory Manual. Iowa, Ames, USA: Blackwell. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9780470278376.fmatter/pdf>

Lezcano, J. C, Martínez, B, & Alonso, O. (2010). Caracterización cultural y morfológica e identificación de 12 aislamientos fungosos de semillas de *Leucaena leucocephala* cv. Perú. *Pastos y Forrajes*, 33(1), 1. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942010000100004&lng=es&tlng=es.

Lopez S. R. (2022). Reporte de mercado de Commodities. Recuperado de: https://amhpac.org/negociosymercados/socios/v2/wp-content/uploads/2022/03/article_Raul_AMHPAC_March_2022.pdf

Macías Camacho Sergio Uriel, Cuevas León Andrea, Fernández Trujillo Andrea, Huitrón Ramírez María Victoria, Cortés Valle Juan Enrique y Delgado Virgen Francisco Javier. (2015). Aislamiento e identificación de *Fusarium* sp. a partir de planta de melón injertada en el municipio de Colima, Col. Memorias del Congreso Internacional de Investigación Academia Journals en Tecnologías Estratégicas Colima 2015. Recuperado de: <https://www.researchgate.net/publication/283723801>

Maldonado, R.M.A., Barrera, G.R.A., Guzmán, J.R.M., Pantoja, G.V. Eugenol: material de uso dental con riesgo de toxicidad local y sistémica. *Oral Año* 9. Núm. 28. Primavera 2008. 446-449

Malone, J.P. & Muskett, A.E. Seed-borne fungus description of 77 fungus species. In: *Proceedings of the International Seed Testing Association*. Edité par l'Association Internationale d'Essais de Semences. Wageningen, Holand. Vol. 29, No. 2, 383 p. 1964

María Joao da Silva Gabriela Paris. (2021). Control del deterioro fúngico en frutas frescas, combinando aceites esenciales en fase vapor con envasado activo. [Tesis Doctoral, Universidad de las Américas Puebla]. http://caterina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/dcl/da_silva_gabriela_paris_mj/etd_4063035422481.pdf

Martinez, F., Blancard, D., Lecomte, P., Levis, C., Dubos, B., & Fermaud, M. (2003). Phenotypic Differences Between *vacuina* and *transposa* subpopulations of *Botrytis cinerea*. *European Journal of Plant Pathology* 109(5): 479–488. Recuperado de doi:10.1023/a:1024222206991

Martínez-Ruiz, F. E., Cervantes-Díaz, L., Aíl-Catzím, C. E., Hernández-Montiel, L. G., Sánchez, C. L. D. T. & RuedaPuente, E. O. (2016). Hongos fitopatógenos asociados al tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en la zona árida del noroeste de México: la importancia de su diagnóstico. *European Scientific Journal*, 12(18), 232. <https://doi.org/10.19044/esj.2016.v12n18p232>

Matyjaszczyk, E. (2015). Prevention methods for pest control and their use in Poland. *Pest management science*, 71(4), 485-491.

Memenza Zegarra, M. E. (2009). *Control biológico in vitro de Botrytis cinerea (Pers) mediante el uso de hongos antagonistas, en vid (Vitis vinifera)*.

Mendoza et al. (2010). "Bromatología: Composición y propiedades de los alimentos" Ed. Mc Graw Hill. Ciudad de México, México.

Murillo-Pérez, Geraldine, & Rodríguez, Aarón. (2021). Claves dicotómicas para las especies de Solanum (Solanaceae) en México. *Botanical Sciences*, 99(2), 413-446. Epub 08 de abril de 2021. <https://doi.org/10.17129/botsci.2713>

Navarro-González, Inmaculada, & Periago, María Jesús. (2016). El tomate, ¿alimento saludable y/o funcional?. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 20(4), 323-335. <https://dx.doi.org/10.14306/renhyd.20.4.208>

NORMA Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-111-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de Mohos y Levaduras en alimentos.

Palou, L., Ali, A., Fallik, E. & Romanazzi, G. (2016). GRAS, plant- and animal-derived compounds as alternatives to conventional fungicides for the control of post-harvest diseases of fresh horticultural produce. *Postharvest Biology and Technology*, 122, 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.04.017>

Patel, N. A., Dange, S. R. S. & Patel, S. I. (2005). Efficacy of chemicals in controlling fruit rot of tomato caused by *Alternaria* tomato. *Indian Journal of Agricultural Research*, 39(1), 72–75.

Perin, L., Nogueira-Peíl, R.M., Höhn, D., Kletke De Oliveira, F., Anibele-Streck, E., Radtke-Wieth, A., Frietas Da Luz, T., Grolli, P. R. (2018). Clasificación de los frutos de tomate cereza y grape bajo diferentes sistemas de cultivo e intensidades de deshojado. *Idesia Arica*. 36(2), 143-151.

Pérez-Díaz Fabiola, Arévalo-Galarza, Ma. de Lourdes, Pérez-Flores Laura J., Lobato-Ortiz Ricardo y Ramírez-Guzmán Martha E. (2020). CRECIMIENTO Y CARACTERÍSTICAS POSTCOSECHA DE FRUTOS DE GENOTIPOS NATIVOS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.). *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 43 (1): 89 – 99. Recuperado de: <https://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v43n1/0187-7380-rfm-43-01-89.pdf>

Productores de Hortalizas. PDH. (2006) "*Guía de Identificación y Manejo: Plagas y Enfermedades del Tomate*". Meister Media Worldwide. California, USA

Raibaudi, R.M., Fortuna, R.S., Belloso, O.M., 2006. Uso de agentes antimicrobianos para la conservación de frutas frescas y frescas cortadas. Universidad de Leida. Disponible en: http://www.ciad.mx/dtaov/XI_22CYTED/images/files_pdf/brasil/olga.pdf.

Retana Kenneth, Ramírez-Coché José Adolfo, Castro Oscar, Blanco-Meneses Mónica. (2018). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE *Fusarium oxysporum* F. SP. APII ASOCIADO A LA MARCHITEZ DEL APIO EN COSTA RICA. *Agronomía Costarricense* 42(1): 115-126. ISSN:0377-9424 / 2018

REYES-JURADO, F., Franco-Vega, A., Ramirez-Corona, N., Palou, E. y López-Malo, A. 2015. Essential Oils: Antimicrobial activities, extraction methods, and their modeling. *Food Engineering Reviews*. 7: 275-297.

Rao, J., Chen, B. & McClements, D. J. (2019). Improving the efficacy of essential oils as antimicrobials in foods: mechanisms of action. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10(1), 365-387. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-032818-121727>.

Robles Yerena L., Leyva Mir S., Cruz Gómez A., Camacho Tapia M., Nieto Ángel D., Tovar Pedraza J. (2016). *Fusarium oxysporum* Schltdl. y *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. causantes de la marchitez de plántulas de *Pinus* spp. en Vivero. *Revista mexicana de ciencias forestales*, vol. 7, núm. 36, 2016. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/journal/634/63449186003/html/>

Rodríguez Billy. (2016). Atlas de identificación micológica: *Rhizopus* spp. Recuperado de: <https://atlasdemicologia.wordpress.com/2016/03/18/rhizopus-spp/>

Rodríguez-Calzada, T. (2015). Evaluación del rendimiento y calidad del tomate uva variedad Sweet Hearts bajo dos sistemas de poda en condiciones de invernadero. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma de Querétaro].

Rodríguez-Guzmán, Carlos A., Montaña-Leyva, Beatriz, Velázquez-Estrada, Rita M., Sánchez-Burgos, Jorge A., García-Magaña, María de Lourdes, González-Estrada, Ramsés R., & Gutiérrez-Martínez, Porfirio. (2021). Estado actual de métodos alternativos, de control de hongos y su efecto en la calidad postcosecha de frutos de jitomate (*Solanum lycopersicum*). *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 24, e388. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2021.388>

Rodríguez Saucedo Elvia Nereyda. (2011). USO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS NATURALES EN LA CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS. *Ra Ximhai*, vol. 7, núm. 1, pp. 153-170. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/461/46116742014.pdf>

Rguez, S., Djébali, N., Slimene, I. B., Abid, G., Hammemi, M., Chenenaoui, S., Bachkouel, S., Daami-Remadi, M., Ksouri, R. & Hamrouni-Sellami, I. (2018). *Cupressus sempervirens* essential oils and their major compounds successfully control post-harvest

Sivakumar, D. & Fallik, E. (2013). Influence of heat treatments on quality retention of fresh and fresh-cut produce. *Food Reviews International*, 29(3), 294–320. <https://doi.org/10.1080/87559129.2013.790048>

Solanaceae Source. 2019. Solanaceae Source: a global taxonomic resource for the nightshade family. <http://solanaceaesource.org>

Tauma Salvador Elias. (2023). Caracterización morfológica y genética de aislamientos de *Botrytis cinerea* en arándanos. Universidad Agraria de la Molina.

Terrones-Salgado José, Nieto-Angel Daniel, Nava-Díaz Cristian, Téliz-Ortiz Daniel, García-Velasco Rómulo, Vallejo-Pérez Moisés Roberto, Sánchez-García Prometeo. (2019). Botrytis cinerea causing gray mold in blackberry fruit in Mexico. *Revista Mexicana de fisiopatología*. Vol 17, No 3 <https://rmf.smf.org.mx/ojs/index.php/RMF/issue/view/18>

Trade winds fruit. (2013). GRAPE TOMATO, Solanum lycopersicum. Recuperado de: Grape Tomato (tradewindsfruit.com)

Velázquez-del Valle, Miguel Gerardo, Bautista-Baños, Silvia, Hernández-Lauzardo, Ana Niurka, Guerra-Sánchez, María Guadalupe, & Amora-Lazcano, Enriqueta. (2008). Estrategias de Control de Rhizopus stolonifer Ehrenb. (Ex Fr.) Lind, Agente Causal de Pudriciones Postcosecha en Productos Agrícolas. *Revista mexicana de fitopatología*, 26(1), 49-55. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092008000100008&lng=es&tlng=es

Weiberg A, Wang M, Lin FM, Zhao H, Zhang Z, Kaloshian I, Huang HD, Jin H. Fungal small RNAs suppress plant immunity by hijacking host RNA interference pathways. *Science*. 2013 Oct 4;342(6154):118-23. doi: 10.1126/science.1239705. PMID: 24092744; PMCID: PMC4096153.

Xie, G., Tan, S. & Yu, L. (2012). Morphological and molecular identification of pathogenic fungal of post-harvest tomato fruit during storage. *African Journal of Microbiology Research*, 6(22), 4805-4809. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.596>