



**Centro de Investigación en Alimentación y  
Desarrollo, A.C.**

**EFECTO DE *Bacillus* spp. Y QUITOSANO SOBRE LA  
RESPUESTA PRODUCTIVA Y LA CALIDAD POSCOSECHA DE  
TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.)**

---

Por:

**César Eduardo Sosa Ramos**

TESIS APROBADA POR LA

COORDINACIÓN DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS PARA  
ZONAS TROPICALES Y SUBTROPICALES

Como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

## APROBACIÓN

Los miembros del comité designado para la revisión de tesis del C. César Eduardo Sosa Ramos, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Ciencias.



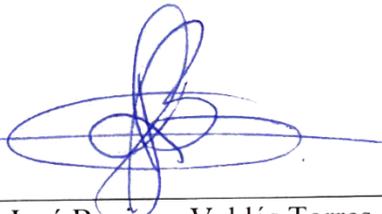
M. C. Manuel Alonzo Báez Sañudo  
Director de Tesis



M.C. José Armando Carrillo Fasio  
Integrante del comité de tesis

JOSE A. MEDRANO

Dr. José Andrés Medrano Félix  
Integrante del comité de tesis



Dr. José Benigno Valdés Torres  
Integrante del comité de tesis

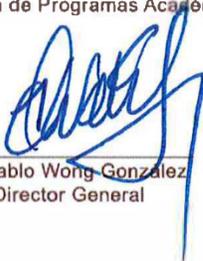
## DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en la tesis “Efecto de *Bacillus* spp. y Quitosano Sobre la Respuesta Productiva y la Calidad Poscosecha de Tomate (*Solanum lycopersicum* L.)” es propiedad intelectual del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del autor César Eduardo Sosa Ramos, siempre y cuando se dé crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de quien ocupe la titularidad de la Dirección General del CIAD.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al CIAD, previa autorización escrita del director(a) de tesis.



CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN  
ALIMENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C.  
Coordinación de Programas Académicos



Dr. Pablo Wong-Gonzalez  
Director General

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo prestado durante el posgrado.

Al Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD, A.C.), por abrirme sus puertas y apoyarme para concluir satisfactoriamente mis estudios de posgrado.

A mi director de tesis, M.C. Manuel Alonzo Báez Sañudo, por su ayuda, sus conocimientos y experiencia, que fueron necesarios para sacar adelante este proyecto, así como por haber estado al pendiente de su desarrollo y finalización. Ha sido un honor poder contar con su apoyo.

A mis asesores, M.C. Armando Carrillo, Dr. Benigno Valdez y Dr. Andrés Medrano por imprimir su conocimiento, criterio y experiencia en este proyecto.

A la M.C. Rosalba Contreras por su paciencia, atención, amabilidad y tan buena disposición para el apoyo en los procedimientos técnicos de análisis poscosecha de este proyecto.

A Dios, antes que nada, porque por su voluntad ha sido posible hacer esto, así como; tener lo que tengo, padres, hermanos, esposa e hijo y amigos.

A mi madrecita hermosa, que está en el cielo, quien con desvelo, cansancio o enfermedad hizo el sacrificio de levantarse y sacarme adelante, siempre estuviste conmigo aconsejándome y apoyándome en todo. Por todo el amor recibido, — esto es para ti—.

A mi padre por su compromiso en aras de apoyar mi formación profesional, siempre apoyándome en todo y estando ahí para cualquier consejo, y hermanos por creer en mi y preocuparse por mi avance y desarrollo de esta tesis.

A mi esposa por estar en cada momento y brindar su ayuda incondicionalmente siempre.

A mis amigos, compañeros y todas las personas que me animaron a salir adelante en toda la maestría.

## CONTENIDO

<b>APROBACIÓN</b> .....	2
<b>DECLARACIÓN INSTITUCIONAL</b> .....	3
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	4
<b>CONTENIDO</b> .....	5
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	12
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	13
<b>RESUMEN</b> .....	14
<b>ABSTRACT</b> .....	15
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	17
1.1. Planteamiento del Problema .....	19
1.2. Preguntas de Investigación .....	19
1.3. Problema de Investigación.....	19
1.4. Justificación .....	20
1.5. Objetivos.....	21
1.5.1. Objetivo General.....	21
1.5.2. Objetivo Especifico.....	21
1.6. Hipótesis .....	21
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	22
2.1. Importancia del Cultivo de Tomate.....	22
2.2. Horticultura Protegida .....	22
2.3. Composición Química y Valor Nutricional del Tomate.....	23
2.4. Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) .....	24
2.4.1. Mecanismos de Acción .....	26
2.4.1.1. Mecanismos directos. ....	26
2.4.1.2. Mecanismos indirectos. ....	28
2.5. Quitosano .....	30
2.6. Parámetros de Calidad Poscosecha del Tomate .....	33
2.7. Parámetros Físicos.....	34
2.7.1. Color .....	34
2.7.1.1. Colorímetro.....	36
2.7.2. Firmeza.....	37
2.7.3. Pérdida de Peso.....	39
2.7.4. Materia Seca .....	39
2.8. Parámetros Químicos.....	40
2.8.1. Sólidos Solubles Totales (°Brix).....	40
2.8.2. Acidez Titulable (AT).....	41
2.8.3. Relación Sólidos Solubles Totales - Acidez Titulable (SST/AT). ....	41

## CONTENIDO (continuación)

<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	43
3.1. Materiales.....	43
3.1.1. Material Vegetativo .....	43
3.1.2. Bioestimulantes .....	43
3.1.3. Etapas del Experimento .....	44
3.2. Metodos .....	45
3.2.1 Muestreo de Suelos.....	45
3.2.2. Tratamientos y Dosis .....	46
3.2.3. Preparación y Modo de Aplicación de los Bioestimulantes.....	47
3.2.4. Análisis Microbiológico del Suelo .....	48
3.2.4.1. Tinción Gram. ....	49
3.2.4.2. Tinción Shaeffer-Fulton.....	50
3.2.4.3. Pruebas Bioquímicas Api50 CHB/E. ....	51
3.2.4.4. Preparación del inóculo .....	51
3.2.4.5. Inoculación de las galerías.....	51
3.2.4.6. Incubación de las galerías.....	52
3.2.4.7. Lectura de las galerías.. ....	52
3.2.4.8. Interpretación.. ....	52
3.2.5. Rendimiento y Calidad Poscosecha.....	52
3.2.6. Parámetros Químicos .....	55
3.2.6.1. Acidez Titulable (AT) y pH.....	55
3.2.6.2. Sólidos Solubles Totales SST (°Brix).. ....	55
3.2.7. Parámetros Morfológicos de los Frutos de Tomate.....	56
3.2.8. Contenido de Materia Seca de los Frutos.....	56
3.2.9. Parámetros Físicos de Calidad del Tomate .....	57
3.2.9.1. Color.....	57
3.2.9.2. Firmeza.....	57
3.2.9.3. Pérdida de Peso Acumulado (%). ....	57
3.2.10. Análisis Estadístico.....	57
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	59
4.1. Índice de Diversidad Biológica (IDB) .....	59
4.2. Producción .....	61
4.2.1. Rendimiento .....	61
4.2.2. Número de Frutos .....	62
4.2.3. Número de Frutos por Tamaño.....	64
4.3. Análisis Poscosecha .....	67
4.3.1 Firmeza de la Pulpa .....	67
4.3.2. Color Externo e Interno.....	69
4.3.3. Acidez Titulable .....	72
4.3.4. Solidos Solubles Totales SST (°Brix).....	73
4.3.5. Índice de Madurez (°Brix/Acidez Titulable).....	75

## CONTENIDO (continuación)

4.3.6. Pérdida de Peso Acumulado (%PPA).....	76
4.3.7. Porcentaje de Materia Seca .....	77
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>80</b>
<b>6. REFERENCIAS.....</b>	<b>81</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Página</b>
1. Representación del Color CIELab, sistema de notación de color L*, a*, b*, cromaticidad y ángulo matiz (°Hue). ....	37
2. Muestreo de suelo en el cultivo de tomate para evaluar población microbiana. ....	46
3. Contenedores para la preparación de los tratamientos (A) y sistema de conexión de la bomba de aplicación hacia el sistema de riego en cada cama (B, C, D y E). ....	47
4. Síntomas de la enfermedad Virus Rugoso Café del Tomate en fruto y planta. ....	54
5. Muestreo (A), Clasificación de tamaños (B), Lavado de frutos con agua clorada a 300 ppm (C) y cámara de almacenamiento poscosecha de los frutos. ....	54
6. Escala y medidas de los tamaños de frutos de tomate tipo bola. ....	55
7. Rendimiento de tomate (kg.ha <sup>-1</sup> ) en 5 cortes tratados con diferentes bioestimulantes. Tratamiento que no comparte letra es significativamente diferente (Tukey, P<0.05). ...	62
8. Efectos principales de bioestimulantes (Tukey, P<0.05) sobre el número de frutos cosechados. ....	64
9. Efectos principales de tamaños (Tukey, P<0.05) sobre el número de frutos cosechados. ....	66
10. Interacción entre bioestimulantes y tamaños en el número de frutos cosechados. las diferencias entre bioestimulantes se presentan por tamaño, Tukey (P<0.05). ....	66
11. Interacción entre productos bioestimulantes y los días de análisis de los frutos en los valores de firmeza. Tukey (P<0.05). ....	69
12. Interacción entre productos bioestimulantes y los días de análisis de los frutos en el color externo (°Hue). Tukey (P<0.05). ....	71
13. Interacción entre productos bioestimulantes y los días de análisis de los frutos en el color interno (°Hue). Tukey (P<0.05). ....	71
14. Interacción Acidez Vs. Día*Bioestimulante Tukey (P<0.05). Porcentaje de ácido citríco por bioestimulante ....	73
15. Interacción °Brix Vs. Día*Bioestimulante Tukey (P<0.05). ....	74
16. Interacción °Brix/Acidez Vs. Día*Bioestimulante Tukey (P<0.05). ....	76
17. Efectos principales del (%PPA) Tukey (P<0,05). sobre el los diferentes bioestimulantes. Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas. ....	77
18. Efectos principales del % de materia seca de frutos de tomate cultivados con diferentes bioestimulantes. El sustrato que no comparte letra con el control es significativamente diferente, Tukey (P<0.05). ....	79

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1. Productos comerciales utilizados en los tratamientos de bioestimulantes. ....	44
2. Tratamiento y dosificación de los productos bioestimulantes comerciales. ....	47
3. Clasificación del suelo de acuerdo a su diversidad biológica. ....	49
4. Determinación de la carga microbiana fitobenéfica (diversidad de especies) en suelo .....	49
5. Clasificación de suelo por su diversidad biológica. ....	60
6. Evaluación previa de la población de microorganismos fitobenéficos por gr de suelo.....	60
7. Evaluación final de la población de microorganismos fitobenéficos por gr de suelo.....	61
8. Análisis de varianza: Peso $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ Vs. Bioestimulante.....	61
9. Análisis de varianza. Número de frutos Vs. Bioestimulante*Tamaño .....	63
10. Análisis de varianza para tratamientos bioestimulantes en tamaño de frutos .....	65
11. Análisis de varianza: Firmeza Vs. Bioestimulante*Día .....	67
12. Análisis de varianza: Color externo Vs. Bioestimulante*Día .....	69
13. Análisis de varianza: Color interno Vs. Bioestimulante*Día.....	70
14. Análisis de varianza: AT Vs. Bioestimulante*Día .....	72
15. Análisis de varianza: SST ( $^{\circ}$ Brix) Vs. Bioestimulante*Día .....	74
16. Análisis de varianza $^{\circ}$ Brix/Acidez Vs. Bioestimulante*Día .....	75
17. Análisis de varianza: Porcentaje de pérdida de peso Vs. Bioestimulante .....	76
18. Análisis de varianza: Porcentaje de materia seca Vs. Bioestimulante .....	78

## RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L; *Solanaceae*) es el segundo cultivo hortícola más importante a nivel mundial después de la papa, con un 30% de la producción mundial, esto, debido a su alta remuneración económica y calidad nutricional. Su producción intensiva requiere el uso de fertilizantes químicos, así como fungicidas y bactericidas agroquímicos, lo cual puede llegar a ser excesivo; afectando el pH del suelo y la microbiota nativa. Una alternativa al uso de estos agro insumos, son los bioestimulantes a base de rizobacterias y de enmiendas orgánicas promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) cuyas propiedades garantizan una efectividad económica y práctica, en comparación con los reguladores del crecimiento tradicionales.

En este trabajo se evaluó el efecto de *Bacillus* spp. y quitosano aplicado al suelo en correlación con el Índice de Diversidad Biológica (IDB), sobre el rendimiento y la calidad fisicoquímica de tomate bola híbrido Toretto injertado en Itzafort cultivado en mallasombra. La evaluación del cultivo consistió en cuatro tratamientos bioestimulantes de origen comercial a base de *Bacillus* spp. y quitosano, más un testigo (sin tratamiento). Se evaluaron los parámetros de: Diversidad poblacional de microorganismos fitobenéficos o Índice de Diversidad Biológica, rendimiento (kg/ha), número de frutos, número de frutos por tamaños, % de pérdida de peso acumulado, % de materia seca, firmeza, colores interno y externo, acidez titulable y sólidos solubles totales (°Brix). Los resultados obtenidos muestran que el Índice de Diversidad Biológica (IDB) se incrementó en un 54.36 % con la mezcla de tratamientos bioestimulantes (Productos 1,2,3, siendo este mismo tratamiento el mejor (P=0.042), con un promedio de 1,393.6 kg.ha<sup>-1</sup>, 22.84% mayor al testigo que tuvo un promedio de 953 kg.ha<sup>-1</sup>, así como en mayor número de frutos (P=0.042) con un promedio de 83.31, 17.85 % más que el testigo, el cual registró un promedio de 70.69 frutos. En el número de frutos por tamaños, el tratamiento de mezcla de los Productos 1,2,3 obtuvo los valores más altos en los tamaños XL y MXL con un 9.16% y 30.16 % respectivamente en comparación con el testigo. En cuanto a la calidad fisicoquímica de los frutos no se encontró diferencia estadística significativa entre los tratamientos bioestimulantes. Por tanto, el bioestimulante (Productos 1,2,3) constituye una alternativa para aumentar el rendimiento de tomate bola var. Toretto. al aumentar el IDB y elevar los rendimientos de tomate cultivado en condiciones protegidas de mallasombra.

**Palabras clave:** bioestimulante, tomate, rizobacterias, rendimiento, calidad poscosecha.

## ABSTRACT

The tomato (*Solanum lycopersicum* L; *Solanaceae*) is the second most important horticultural crop in the world after the potato, with 30% of world production, due mainly to its high economic remuneration and nutritional properties. Its intensive production under protected environment conditions requires the use of chemical fertilizers, as well as agrochemical fungicides and bactericides, which can become excessive affecting negatively both soil pH and native microbiota. An alternative to the use of these agro supplies are biostimulants based on plant-growth promoting rhizobacteria (RPCV) and organic amendments as plant growth promoters whose properties guarantee economic and practical effectiveness, compared to traditional growth regulators. In this work, the effect of *Bacillus* spp and Chitosan applied to the soil in correlation with the Biological Diversity Index (BDI), yield and physicochemical quality of tomato fruit cv Toretto grafted in Itzafortgrown in greenhouse evaluated. Effect of four biostimulant treatments of commercial products based on *Bacillus* spp. and chitosan, plus a control (without treatment) were evaluated in crop development.

As response variables, yield (kg/ha) and number and size of fruits were evaluated at harvest. Weight loss, fruit dry matter, firmness, internal and external colors, titratable acidity and total soluble solids ( $^{\circ}$ Brix) were evaluated during postharvest period. Results showed that the Diversity Index (DI) increased 54.36%. Biostimulant that presented the highest level of DI was the biostimulant treatment (mix of products 1,2,3). Treatment 1. (*Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* strain D747) + Treatment 2. (*B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *P. fluorescens* and *Azotobacter* sp.) + Treatment 3. (Chitosan: Poly-D-glucosamine), with an DI of 11.1. Also, biostimulant (mix of products 1,2,3) was statistical the best treatment ( $P=0.042$ ) according to yield, with an average of 1,393.6 kg. ha<sup>-1</sup>, 22.84% higher than the control that had an average of 953 kg. ha<sup>-1</sup>, That mix of treatments showed higher number of fruits ( $P=0.042$ ) with an average of 83.31 with mean 17.85 % more fruits than the control treatment (70.69 fruits). The number of fruits by size, the treatment mixture of products 1,2,3 obtained highest values in size XL (extra-large) and MXL (maximum extra-large) with 9.16% and 30.16% respectively compared with control treatment. Not statistical differences were observed in physicochemical fruit quality among biostimulant treatments. Therefore, biostimulant (mix of products 1,2,3) constitutes an

alternative to increase yield of round tomato var. Toretto by increasing the DI and raising the yields of tomato grown under greenhouse.

**Keywords:** bioestimulant, tomato, rhizobacteria, yield, postharvest quality.

## 1. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una hortaliza de la familia *Solanaceae* que después de la papa, representa el 30% de la producción mundial (FAOSTAT, 2015; El Nagar & Mekawi, 2015). En México es uno de cultivos más importantes debido a su volumen de consumo en fresco y sus derivados industriales, ya que constituye uno de los principales componentes de la alimentación diaria de la población de muchos países por ser fuente importante de minerales, vitaminas A y C, y compuestos antioxidantes como licopeno, es por lo que la demanda se ha incrementado a nivel mundial de forma permanente aunado a una mayor producción y comercio (Dávila *et al.*, 2015; Espinosa *et al.*, 2017).

En México, el 70% de la superficie total cultivada bajo condiciones de agricultura protegida está dedicada al cultivo de tomate (Espinosa *et al.*, 2017). Actualmente los productores están interesados en la búsqueda de nuevos sistemas de producción que incrementen los rendimientos y generen productos de excelente calidad (Dávila *et al.*, 2015). Sin embargo, la mayor parte de la producción se obtiene bajo un sistema de producción intensiva, con un alto uso de agroquímicos que pueden dañar la salud humana y el medio ambiente (Reyes-Pérez, 2018). En atención a esta demanda, un método promisorio para reducir el uso de agroquímicos es la aplicación de microorganismos fitobenéficos tales como las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV); debido a su capacidad de colonizar activamente el sistema radicular para estimular y favorecer el crecimiento de las plantas, trayendo consigo un mejor rendimiento y calidad de fruta mediante diferentes mecanismos como la fijación de N<sub>2</sub>, solubilización de fósforo, producción de sideróforos y fitohormonas, disminución de la concentración de etileno, producción de metabolitos antifúngicos y la inducción de resistencia sistémica (Moreno-Reséndez *et al.*, 2018; Ahemad-Saghir 2012).

Entre los géneros más representativos de las RPCV están los miembros del genero *Bacillus*, los cuales han sido el grupo más estudiado dentro del control biológico y como bioestimulante Corrales-Ramírez *et al.*, (2016). Las especies de este género se consideran candidatos ideales para el control de enfermedades, debido a su potencial antagónico a través de mecanismos de estimulación indirecta, tal como la producción de antibióticos, enzimas líticas, interferencia física o química, competencia, inducción de resistencia al hospedero contra hongos, bacterias, virus y en algunos casos, nematodos (Gül A. *et al.*, 2008). Varios productos basados en RPCV están

disponibles comercialmente en diferentes países, la mayoría de los cuales contienen cepas de *Bacillus* spp (Gül A. *et al.*, 2008) y muchas de ellas como *B. amyloliquefaciens* producen una variedad de lipopéptidos cíclicos antifúngicos (CLP), incluyendo miembros de las familias surfactina, iturina y fengicina como los compuestos más importantes en la actividad de biocontrol de cepas de *Bacillus* contra hongos fitopatógenos de diferentes especies de plantas Debois *et al.*, (2014). Por lo tanto, el control de las enfermedades fúngicas por medio de *Bacillus* representaría una oportunidad relevante para la biotecnología agrícola (Villarreal-Delgado *et al.*, 2017).

Adicionalmente, se ha demostrado que la aplicación de otros bioestimulantes como el quitosano son una alternativa viable por su gran potencial de aplicación en la agricultura ya que podría utilizarse con mayor extensión principalmente (Cheah *et al.*, 1997) como sustituto de algunos de los actuales plaguicidas como el ipridione y tiabendazol, fungicidas comúnmente utilizados para reducir la pudrición acuosa, moho gris y antracnosis o como bioestimulante del crecimiento de las plantas (Mármol Z. *et al.*, 2011).

El quitosano es un derivado de la quitina, la sustancia orgánica más abundante en la naturaleza después de la celulosa. Este compuesto es obtenido a partir de exoesqueletos de crustáceos mediante tratamientos con álcalis y ácidos, proceso llamado “desacetilación”, que significa quitar de la quitina o parte de su estructura (Mármol Z. *et al.*, 2011). El quitosano posee actividad antifúngica e inductora de los mecanismos de defensa en las plantas (Rodríguez-Guzmán *et al.*, 2019). Entre sus modos de acción se incluyen la inhibición del crecimiento de hongos y bacterias *in vitro* e *in vivo* (Reyes-Pérez, 2018); así como, también activa los mecanismos de defensa cuando se aplica a los tejidos de las plantas. Estas respuestas se expresan mediante la síntesis de lignina y calosa, inducción de la fenilalanina amonio liasa (PAL), biosíntesis de fitoalexinas, producción de inhibidores de proteasas y proteínas relacionadas con la patogenicidad como son: quitinasa, glucanasa, peroxidasa (POD) y quitosanasa (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2009).

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto en la diversidad biológica de cuatro tratamientos bioestimulantes a base de *Bacillus* spp. y quitosano de origen comercial, aplicados al suelo de un cultivo de tomate bola híbrido Toretto injertado en Itzafort, bajo condiciones de mallasombra, esto con el fin de correlacionar dicha diversidad biológica con los parámetros de rendimiento (peso, número y tamaño de frutos) y calidad poscosecha mediante la evaluación de sus propiedades físicas y químicas.

## 1.1. Planteamiento del Problema

La necesidad de satisfacer la creciente demanda de alimentos en la población mundial requiere mejorar los procesos de nutrición y resistencia de los cultivos para incrementar su rendimiento. Contar con una descripción más completa de los consorcios bacterianos a nivel raíz en especies agroalimentarias como el tomate, nos dan mejor capacidad para el biocontrol de fitopatógenos de manera indirecta, incrementando la producción agrícola, dando así, una alternativa a los productos de origen ecológico que mitiguen el deterioro de los agroecosistemas por el uso irracional de agroquímicos. Por lo tanto, es fundamental identificar y caracterizar las potencialidades de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) para el mejoramiento de los procesos de nutrición mineral, resistencia a enfermedades, rendimiento y calidad del fruto en el cultivo de tomate, dada la necesidad de una creciente población mundial.

## 1.2. Preguntas de Investigación

1. ¿Cuáles son los grupos funcionales de bacterias y hongos fitobenéficos con mayor presencia en la rizósfera del tomate después de los tratamientos con bioestimulantes?
2. ¿Cuál será el tratamiento bioestimulante que incremente más el Índice de Diversidad Biológica del suelo en el cultivo de tomate?
3. ¿Cuál será el rendimiento del tomate (kg/ha) cultivado con tratamientos bioestimulantes en comparación con los no tratados?
4. ¿Cuáles son las variables de respuesta más afectadas en la calidad poscosecha con los tratamientos bioestimulantes en el cultivo de tomate?

## 1.3. Problema de Investigación

La presente investigación consistió en un estudio experimental, el cual se realizó en un campo

agrícola cooperante de la sindicatura de La Palma, Navolato, el establecimiento y ciclo del cultivo se llevó a cabo de octubre de 2020 a abril de 2021.

En su primera etapa se evaluó la diversidad biológica del suelo antes de iniciar con las aplicaciones de los tratamientos bioestimulantes y posteriormente se aplicaron los tratamientos bioestimulantes con productos de origen comercial, finalizando la aplicación de los tratamientos bioestimulantes, se realizó una segunda evaluación de la diversidad biológica del suelo, posteriormente a los 3 meses se dio inicio a las evaluaciones de rendimiento y la calidad poscosecha de tomate bola, híbrido Toretto injertado en Itzafort, cultivado en mallasombra.

#### 1.4. Justificación

En México, el cultivo del tomate tiene importancia no sólo como generador de divisas, sino también por la elevada derrama económica que genera; además, proporciona mano de obra a una gran cantidad de trabajadores y fomenta el empleo de otras ramas de la actividad económica como el transporte y las empresas que se dedican a la venta de insumos agrícolas.

La necesidad de satisfacer la creciente demanda de alimentos en la población mundial requiere mejorar los procesos de nutrición y de resistencia de los cultivos a las plagas y enfermedades para incrementar su rendimiento. Al contar con una descripción más completa de la diversidad microbiana y los consorcios bacterianos con capacidad de control de fitopatógenos en el cultivo de tomate, permitirá mejorar la producción agrícola dando una alternativa a la promoción de productos de origen ecológico que permitan minimizar el deterioro de los agroecosistemas por el uso irracional de agroquímicos. Es por ello que los microorganismos bioestimulantes del suelo son de gran importancia para mantener la vida en la tierra, por lo tanto, es fundamental identificar especies de *Bacillus* spp con potencialidades de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV) en la rizosfera del tomate, un cultivo de gran importancia económica, social y alimenticia dada la creciente población mundial.

El uso de fungicidas sintéticos para el control de enfermedades, aunque es efectivo, daña al medio ambiente y favorece la aparición de cepas patógenas resistentes, situación que impulsa a buscar alternativas seguras al uso de fungicidas de síntesis.

## 1.5. Objetivos

### 1.5.1. Objetivo General

Evaluar el efecto de aplicaciones repetidas de un complejo de *Bacillus* spp. y quitosano en la diversidad biológica del suelo, el rendimiento y la calidad poscosecha de tomate bola (*Solanum lycopersicum* L.) cultivado bajo condiciones de mallasombra.

### 1.5.2. Objetivo Especifico

1. Comparar el Índice de Diversidad Biológica (IDB) del suelo antes y después de la aplicación de los bioestimulantes con *Bacillus* spp. y quitosano en tomate bola cultivado en mallasombra.
2. Evaluar el rendimiento (kg. ha<sup>-1</sup>), número y tamaño de frutos de plantas de tomate tratadas con los bioestimulantes de *Bacillus* spp. y quitosano.
3. Evaluar la calidad poscosecha de color, firmeza, pérdida de peso acumulado, materia seca, acidez titulable (AT), sólidos solubles totales (°Brix) y pH en tomates obtenidos de plantas tratadas con los bioestimulantes de *Bacillus* spp. y quitosano.

## 1.6. Hipótesis

1. El IDB en el suelo se incrementará en el 40% después de haber sido tratado con los bioestimulantes a base de *Bacillus* spp. y quitosano.
2. El rendimiento en kg. ha<sup>-1</sup> aumentará hasta un 30 % en contraste con el testigo con los tratamientos bioestimulantes a base de rizobacterias.
3. La calidad físicoquímica de los frutos cultivados y tratados en suelo con *Bacillus* spp. y quitosano es igual o mejor que los no tratados.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Importancia del Cultivo de Tomate

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) o su denominación anterior *Lycopersicum esculentum*, Mill., que aún es ampliamente utilizada, pertenece a la familia *Solanaceae*, es una planta herbácea anual o bianual originaria de centro y Sudamérica. Actualmente es cosmopolita, cultivada para consumo fresco e industrializado (Marjorie Allende *et al.*, 2017).

Contiene predominantemente un 93-96% de agua, es rico en carotenoides (compuestos que actúan como antioxidantes, principalmente licopeno), ácido ascórbico, minerales como potasio y hierro y vitaminas A y C, es por ello que la demanda se ha incrementado a nivel mundial de forma permanente aunado a una mayor producción y comercio (Dávila *et al.*, 2015; Espinosa *et al.*, 2017 y Basit *et al.*, 2020).

El tomate es uno de los frutos económicamente más importantes a nivel mundial, de los 194 países reconocidos por la ONU, 177 representan la producción mundial de tomate. En 2018 se produjeron 243,888,041 toneladas, de las cuales el 56.6 % fueron aportadas por los 10 mayores productores: China, EE.UU., Turquía, Italia, Egipto, India, España, Brasil, Irán y México, donde México representa la 9° posición con una aportación de 4,559,375 de toneladas, 1.86% de la producción mundial (FAOSTAT, 2018; López Valenzuela *et al.*, 2011).

### 2.2. Horticultura Protegida

Se le llama horticultura protegida al método por el cual se desarrollan los cultivos bajo el control de factores externos como luz, temperatura, agua y fertilizante. Este tipo de agricultura en hortalizas ha tenido un incremento significativo en la última década, ya que comparado con campo abierto tiene un mayor control sobre el cultivo, aumenta el rendimiento, presenta menor riesgo durante la producción y mayor control de plagas y enfermedades (Sakata, 2016).

Santiago *et al.*, (1998), describen que las ventajas principales que se tienen con el uso de invernaderos y mallasombras son la precocidad del fruto en cosechas fuera de época, mayor calidad y ahorro de agua, rendimiento máximo y la posibilidad de obtener dos o tres cosechas al año. La mallasombra fue diseñada especialmente para controlar la cantidad de luz en los cultivos; sin embargo, bien colocada, no solamente ofrece sombra sino también puede proteger contra cierto tipo de insectos, lluvia, viento, polvo, granizo, etc. Así mismo, reduce el consumo de agua y baja la temperatura, todo a favor de la Agroplasticultura que reduce los riesgos de la cosecha. (García-Mendoza, (2017). La horticultura protegida en México se lleva a cabo, casi exclusivamente bajo mallasombras e invernaderos, con un total de 25,370 hectáreas de ambas tecnologías y sólo 394 hectáreas de macro túneles, lo que suma una superficie total de 25,764 hectáreas de horticultura protegida en México al cierre del 2017, de la cual el 70% es dedicada al cultivo de tomate AMHPAC, (2008). Los invernaderos y mallasombras son de las tecnologías y economías más pujantes del sector primario, logrando alojar alrededor de 450 mil empleos directos, de los cuales se estima que 166 mil son fijos y 287 mil son temporales AMHPAC, 2008. El 56% de la superficie de la agricultura protegida se concentra principalmente en tres estados: Sinaloa (20%), Jalisco (20%) y Michoacán (17%). Respecto a las exportaciones, el 78% de la producción se destina a los Estados Unidos, el 4% a Canadá y el 18% restante al mercado nacional, lo cual representa más de 3.2 millones de toneladas anuales. Dicho volumen genera una derrama económica superior a los 3,000 millones de dólares (INEGI, 2017; Espinosa *et al.*, 2017).

### 2.3. Composición Química y Valor Nutricional del Tomate

El tomate contiene cerca del 94% de agua; sin embargo, como en los otros componentes, depende de la variedad, nutrición, condiciones de cultivo, entre otros factores Su sabor se atribuye principalmente al contenido de glucosa, fructosa y ácido cítrico (Beltrán Quesney, 2016). Los azúcares reductores como fructosa y glucosa y trazas de sacarosa constituyen del 53 a 65 % de los sólidos solubles, ácido cítrico (9 %) y málico (4 %), vitamina C (ácido ascórbico) y aminoácidos (2.0-2.5 %), carotenoides, compuestos volátiles responsables del aroma y sales minerales (8 %), sustancias pépticas de la pared celular y minerales; San Martín-Hernández *et al.*, 2012).

Esta composición tiene una aportación energética de 100 KJ (20 Kcal) y puede variar ligeramente debido a la variedad del tomate, el clima y las prácticas de cultivo que se apliquen. De los minerales y oligoelementos tales como Na, K, Ca, Mg, Cu, Mn y Zn, algunos son cofactores de antioxidantes enzimáticos y otros poseen funciones biológicas. Los microelementos contenidos en el tomate, al igual que otros compuestos, están influenciados por las prácticas agronómicas y por la variedad, por tanto, la ingesta de tomate es una buena manera de proporcionar minerales al organismo humano. En cuanto a su valor nutrimental, el fruto de tomate es una buena fuente de carotenoides, principalmente licopeno, precursor de la vitamina A, cuyo poder antioxidante ayuda en la prevención de enfermedades degenerativas como cáncer y arterosclerosis (Rivera-Castro, 2011). Una porción promedio de tomate (148 g) es suficiente para proveer aproximadamente el 40 % de ácido ascórbico y el 20 % de vitamina A recomendados en la ingesta diaria (IDR) de los Estados Unidos de Norteamérica (López Valenzuela *et al.*, 2011).

#### 2.4. Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV)

La rizósfera (área contigua a la raíz), es la región donde se da la mayor interacción de los microorganismos fitobeneficos como las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (RPCV) que suele extenderse a pocos milímetros de la superficie de las raíces donde se encuentran diversas comunidades microbianas que se ven influenciadas por la liberación de productos fotosintéticos de la planta llamados exudados radicales secretados por la planta. Esta región de suelo es más rica en bacterias que todo el resto, pero incluye hongos, levaduras y protozoos (Hinsinger *et al.*; 2005).

Estos varían en cada especie vegetal y están constituidos de diferentes compuestos como ácidos orgánicos, carbohidratos, vitaminas, aminoácidos y ácidos dicarboxílicos, entre otros; que actúan como atrayentes nutritivos; así como, pequeños péptidos, metabolitos secundarios o compuestos fenólicos. Estos exudados conforman el primer paso en el establecimiento de la simbiosis entre las RPCV y la planta (Benjumeda-Muñoz, 2017; Calvo-García, 2011).

Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) son bacterias habitantes del suelo que pueden colonizar la rizósfera y mejorar la disponibilidad de los nutrientes a través de los

mecanismos de fijación biológica de nitrógeno, reducción de N<sub>2</sub> a NH<sub>3</sub>, por el complejo enzimático nitrogenasa y solubilización de P y K mediante la liberación de ácidos orgánicos e inorgánicos a través de acidólisis, quelación y complexólisis, (Pii et al., 2015).

Pacheco-Hernández *et al.*, (2015), reportan que la estimulación del crecimiento vegetal por rizobacterias a través de la producción de metabolitos secundarios, se puede interpretar como un efecto benéfico lateral alelopático seguido de la competencia por un nicho entre las comunidades microbianas de las que las plantas se benefician, aunque pasen inadvertidas. Se ha encontrado que las densidades bacterianas y fúngicas presentes en esta zona de directo intercambio con la planta, pueden llegar a ser entre 10 y 50 veces más grandes que en el suelo no rizosférico, esto, debido a que los exudados radicales pueden llegar a contener entre 10 y 44% del carbono asimilado y otros compuestos que contribuyen generalmente a un incremento de las densidades poblacionales de los microorganismos (Reyes & Valery, 2007). Entre la microbiota heterotrófica de distribución diversa, las poblaciones bacterianas pertenecientes a diferentes especies forman aproximadamente el 15% de las poblaciones microbianas totales. A pesar de ser un grupo tan variado, sólo del 2–5% de las bacterias rizosféricas se han clasificado como RPCV potenciales para la agricultura (Ahmed *et al.*, 2018). Los géneros de bacterias que han sido reportados como RPCV son: *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Azoarcus*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Caulobacter*, *Chromobacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* y *Serratia* (Ahemad & Kibret. 2013). Estos microorganismos rizosféricos benéficos podrían considerarse como un factor biótico pre-cosecha que afecta la calidad de frutas y hortalizas (Moreno-Reséndez *et al.*, 2018). En este sentido, para el caso del tomate, se han reportado efectos positivos sobre la calidad del fruto con la aplicación de la cepa promotora de crecimiento vegetal *Bacillus subtilis* BEB13bs, la cual aumentó; peso fresco (19 %) y la longitud del fruto (20 %) comparado con el tratamiento CTL. En el rendimiento aumentó 28 % más que el testigo, 22 % más firmes. (Mena-Violante *et al.*, 2009). Otras especies rizobacterianas como *Azotobacter* sp., *Pseudomonas* sp. y *Bacillus* sp., han sido reportadas como productoras de ácido indol-3-acético AIA, una auxina que ejerce acción en la formación de dominios apicales, diferenciación vascular y en el desarrollo de órganos vegetales (Carmelo *et al.*, 2011).

### 2.4.1. Mecanismos de Acción

Los mecanismos de acción de las Rizobacterias Promotoras de Crecimiento Vegetal (RPCV) en el desarrollo de las plantas son variados y se pueden clasificar principalmente como directos e indirectos. La diferencia principal es que los mecanismos indirectos ocurren fuera de la planta, mientras que los directos ocurren dentro de ésta y afectan directamente su metabolismo a través de la modificación de la expresión de genes (Benjumeda-Muñoz, 2017).

2.4.1.1. Mecanismos directos. De acuerdo con Rojas-Solís *et al.*, (2013), entre los mecanismos de acción directo de las RPCV destacan:

1. La fijación de nitrógeno (N).
2. Síntesis de fitohormonas, vitaminas y enzimas.
3. Solubilización de fósforo (P) y potasio (K).
4. Oxidación de sulfuros
5. Incremento en la permeabilidad de la raíz.
6. Producción de nitritos y acumulación de nitratos.
7. Reducción de la toxicidad por metales pesados y de la actividad de la enzima ACC desaminasa, secreción de sideróforos y reducción de los niveles de etileno en los suelos y el incremento de la permeabilidad de las raíces

En cuanto a la fijación de  $N_2$ , además de las cepas de *Azotobacter* y *Azospirillum* que tienen capacidad de fijar nitrógeno, destacan las cepas de *Bacillus* y *Paenibacillus*, ya que se ha reportado que poseen un grupo de genes *nif* responsables de codificar la enzima nitrogenasa, una enzima clave en la fijación de nitrógeno; también *Bacillus azotofixans*, *Bacillus macerans* y *Bacillus polymyxa* se han identificado como fijadores de nitrógeno, en función de su actividad nitrogenasa (Benjumeda-Muñoz, 2017; Goswami *et al.*, 2016).

En el caso de las bacterias solubilizadoras de fosfato, estas utilizan diferentes mecanismos para convertir las formas insolubles de fósforo en formas solubles. El primero de ellos está basado en la secreción de ácidos orgánicos originados del metabolismo de los azúcares. Estos azúcares son tomados de los exudados de las raíces de las plantas, las cuales metabolizan y liberan ácidos

orgánicos como el ácido butírico, oxálico, succínico, málico, glucónico, acético, láctico, cítrico, entre otros; que actúan como quelantes de los cationes de calcio ( $\text{Ca}^{2+}$  principalmente, aunque también hierro (Fe), aluminio (Al) y magnesio (Mg), que acompañan a la liberación de fosfatos a partir de compuestos fosfáticos insolubles (Goswami *et al.*, 2014).

Otro método de obtención de fosfatos a partir de fósforo orgánico procedente de materia orgánica es mediante la excreción de enzimas extracelulares conocidas como fosfatasas, fosfatasas como las fitasas, son capaces de hidrolizar el hexafosfato de inositol o fitato, que constituye alrededor de un 80% del total de formas en que se encuentra el fósforo orgánico Moreno-Reséndez *et al.* (2018)

Por otro lado, uno de los géneros de bacterias rizosféricas de más interés comercial es *Bacillus*, reconocido por su capacidad para mejorar la disponibilidad de nutrientes y su habilidad para colonizar la rizosfera; así como, tolerar condiciones ambientales extremas en diferentes cultivos agrícolas, características deseables para la producción comercial de biofertilizantes (Villarreal-Delgado *et al.*, 2017).

Estudios de diversidad microbiana identifican a *B. subtilis* y *B. megaterium* dentro de las poblaciones cultivables de suelos agrícolas, cuya abundancia oscila entre  $10^3$  a  $10^6$  ufc  $\text{g}^{-1}$  de suelo (Luna-Martínez *et al.*, 2013).

Estudios realizados sobre microorganismos modelo como la cepa UMCV1 de *B. megaterium*, le atribuyen la capacidad de reducir Fe (III) a Fe (II), haciendo a este micronutriente biodisponible para la planta, lo cual promueve el crecimiento vegetal. Adicionalmente, bacterias del género *Bacillus* han mostrado capacidad en la síntesis de fitohormonas produciendo y excretando citocininas en la rizósfera, las cuales se asocian a un incremento del 30% en el peso de plantas de lechuga lo que influye positivamente en el crecimiento vegetal (Rojas-Solís *et al.*, (2013). Por otro lado, Moreno-Reséndez *et al.* (2018) reportan que las cepas de *Bacillus* promueven el crecimiento de las plantas por la acumulación de las hormonas citocininas y auxinas como el ácido indol-3-acético (IAA) y el ácido abscísico (ABA). Tal es el caso de las cepas de *Bacillus amyloliquefaciens* (FZB24, FZB42 and FZB45) y *Bacillus subtilis* FZB37 en las que se detectaron altos niveles de IAA en filtrados de cultivos celulares cuyo efecto fue positivo en la germinación de semillas de maíz (Rojas-Solís *et al.*, 2013). En cuanto a la producción de otras fitohormonas como las giberelinas por las RPCV, actualmente se han reportado diversas especies de PGPR productoras de giberelinas, como: *Azotobacter* spp., *Bacillus pumilus*, *B. licheniformis*, *Herbaspirillum seropedicea*, *Leifsonia xyli*, *Pseudomonas* spp., *Rhizobium meliloti* y *R. phaseoli* las cuales han

sido utilizadas para inducir la germinación en semillas (Molina-Romero *et al.*, 2015). Estas fitohormonas regulan parámetros como el crecimiento, división celular o la extensión de la raíz, los cuales representan aspectos de mayor importancia para la función de las RPCV (Gutiérrez-Mañero *et al.*, 2001).

De acuerdo con Mena-Violante *et al.* (2009), otra fitohormona llamada etileno influencia el crecimiento y el desarrollo de las plantas, en los frutos, y regula la maduración mediante una serie de cambios bioquímicos y fisiológicos coordinados que conducen al desarrollo de un fruto suave y comestible. Estos mecanismos de acción se encuentran en algunas RPCV que producen 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) deaminasa, una enzima que actúa sobre el ACC, precursor inmediato del etileno en la ruta biosintética de esta hormona en las plantas, este mecanismo también lo utilizan algunas PGPR para promover el crecimiento de plantas influenciadas por el estrés ambiental, la cual les trae dos ventajas importantes: disminuir las concentraciones de etileno en la planta e incrementar la disponibilidad de amonio en la rizosfera. (Esquivel-Cote1 *et al.*, 2013)

2.4.1.2. Mecanismos indirectos. De acuerdo con Rojas-Solís *et al.*, (2013), las RPCV se caracterizan por ocasionar la disminución o eliminación de microorganismos fitopatógenos, a través de las siguientes estrategias;

1. Producción de sustancias antimicrobianas o de antibióticos, enzimas líticas o una combinación de éstas.
2. Por competencia de nutrientes o de espacio en el nicho ecológico.
3. Por la estimulación de las defensas naturales de la planta mediante mecanismos de biocontrol; por inducción de resistencia sistémica (IRS) a un amplio espectro de organismos patógenos.
4. Por producción de sideróforos como mecanismo para secuestrar el hierro (Fe) disponible en los suelos y con esto limitar el desarrollo y la presencia de dichos fitopatógenos.
5. Producción de antibióticos y cianuros de hidrógeno que impactan sobre los fitopatógenos; hidrólisis de moléculas como el ácido fusárico generado por éstos para liberar 1-3-glucanasa, con la cual se inhibe el desarrollo de la pared celular de hongos como *Pythium ultimum* y *Rhizoctonia solani*

Uno de los mecanismos indirectos que las RPCV han desarrollado para sobrevivir y adaptarse a su

entorno y proveer de hierro a la planta, para resolver este problema, las RPCV secretan moléculas de bajo peso molecular (0.5 a 1.0 kDa) llamados sideróforos, los cuales actúan de manera específica como agentes quelantes para secuestrar hierro en presencia de otros metales y reducirlo a Fe<sup>2+</sup>, una forma mucho más soluble y aprovechable para su nutrición (Stearns *et al.*, 2012)

Diversas especies productoras de sideroforos de los géneros bacterianos *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Enterobacter*, han sido evaluadas y reportadas como agentes de biocontrol contra patógenos de plantas. Estos microorganismos bajo condiciones de estrés por hierro producen sideróforos que quelan el hierro disponible y privan de este elemento a los fitopatógenos presentes, restringiendo así su proliferación y colonización de la raíz (Moreno-Reséndez *et al.*, 2018).

Diversas poblaciones bacterianas reconocidas como antagonistas y promotoras del crecimiento de plantas, pertenecen a los géneros *Bacillus* (*B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *B. pumilus*, *B. polymyxa* y *B. cereus*) y *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis* y *P. aeruginosa*) los cuales brindan protección contra enfermedades graves en la rizosfera de las plantas de tomate mediante la producción de una amplia gama de antibióticos antibacterianos y antifúngicos como rizocitinas, clorotetina, bacilisina, difficidina, micobacilina, bacillaeno y lipopéptidos Corrales-Ramírez *et al.*, (2016). Estas bacterias también producen un compuesto químico volátil, el Cianuro de Hidrógeno - HCN, el cual controla eficazmente el desarrollo de hongos del género *Fusarium* spp causantes del marchitamiento del tomate. El principal grupo de RPCV utilizadas como agentes de control biológico es el género *Pseudomonas*, las cuales se consideran las productoras más comunes de cianuro, además de poseer una amplia aplicación en procesos biotecnológicos, de gran envergadura para las agroindustrias (Lakshmi *et al.*, 2015).

La protección de cultivos de importancia agrícola (tomate, pimiento, frijol, arroz, etc.) mediante la inducción de respuesta sistémica utilizando cepas del género *Bacillus* ha sido bien documentada por Villarreal-Delgado *et al.*, (2017). El género *Bacillus* produce una gran diversidad de moléculas elicitoras que inducen respuesta sistémica en plantas, incluyendo a lipopéptidos fitohormonas y compuestos volátiles, lo cual genera un efecto inductor de la resistencia sistémica en las plantas (Kim *et al.*, 2015). Este hecho ha sido observado en plantas de tabaco, donde estos últimos activan genes PR (patogénesis relacionada), con capacidad antimicrobiana, donde PR2 codifica por una  $\beta$ -1,3 glucanasa y PR3 codifica por una quitinasa, esta expresión génica es activada por los compuestos volátiles de *Bacillus* sp., confiriendo así, resistencia ante *Rhizocronia solani* y *Phytophthora nicotianae*. (Kim *et al.*, 2015).

## 2.5. Quitosano

El quitosano o quitosana es un compuesto inocuo y biodegradable que se obtiene en cantidades industriales mediante desacetilación básica de la quitina del exoesqueleto de los crustáceos. Este polisacárido representa el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza después de la celulosa, ya que está presente en la pared celular de hongos, levaduras y exoesqueletos de invertebrados como camarón, cangrejos e insectos en general (Badawy & Rabea, 2011).

La principal fuente de obtención proviene de los desechos de crustáceos y el método más utilizado es por N-desacetilación alcalina, cuyo proceso se realiza mediante el tratamiento directo de la quitina con una solución concentrada de hidróxido de sodio o potasio (40-50 %) a una temperatura de 100 °C o superior, lo cual genera la hidrólisis de la mayoría o todos los grupos acetilos del polímero (González-Peña *et al.*, 2014). En cuanto al grado de acetilación, se encuentra comprendido entre 60-98 %, pero se ha establecido que la quitina con más de un 60 % de desacetilación debe ser considerada quitosano. Sin embargo, también se ha reportado que, para lograr una mayor actividad biológica, el contenido de los acetilos debe encontrarse alrededor de un 40 % (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2009).

Estructuralmente, el quitosano es un copolímero lineal formado por unidades de D-glucosamina y en menor medida de N-acetil D-glucosamina unidos por enlaces  $\beta$  1-4, cuya denominación química, según la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC), es 2 amino 2 desoxi -D-glucopiranososa (D-glucosamina GlcN) y 2 acetamida- 2 desoxi- D glucopiranososa N-acetil glucosamina (Sato *et al.*, 1998). En cuanto a las propiedades del quitosano, estas son variadas, pues tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de hongos, bacterias y virus fitopatógenos, aunque se ha reportado que las bacterias son poco sensibles; sin embargo, la concentración de la quitosana es una propiedad química de gran importancia para su actividad antibacteriana. Se demostró que soluciones de quitosana hasta la concentración de 0.10 mg·mL<sup>-1</sup> inhibieron marcadamente el crecimiento de la bacteria patogénica *Xanthomonas axonopodis* pv *poinsettiiicola* aislada de *Euphorbia pulcherrima*, y que a medida que se aumentaba la concentración mayor era el efecto inhibitorio de la misma (Bin *et al.*, 2007).

Otra de sus propiedades es fungir como elicitador en la activación de los mecanismos de resistencia sistémica adquirida en la planta, ya que investigadores como Chang *et al.* (1995), trataron plántulas

de chícharos con quitosana 0-5 mg.  $\text{litro}^{-1}$  y posteriormente las infectaron con *F. solani* f sp. *pisi* y observaron una elicitación en la actividad de quitinasa a las 0, 10, 29, 57 y 72 h después de inoculadas, encontrándose la máxima actividad a las 10 h. En plantas de pepino creciendo en presencia de quitosana, se controló el daño radicular causado por *Pythium aphanidermatum* y se indujeron varias respuestas de defensa de la planta incluyendo el aumento de la actividad de quitinasa en hojas (El Ghaouth *et al.*, 1994), lo que ha generado diversas investigaciones científicas y tecnológicas en muchos países para promover su aplicación con fines diversos en la industria agrícola (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2009).

Existen evidencias que comprueban las propiedades inductoras del quitosano en órganos vegetales. Las proteínas relacionadas con la patogenicidad (PR-Proteínas), son un grupo heterogéneo de proteínas solubles inducidas en muchas especies de plantas bajo situaciones patológicas u otros tipos de estrés (Van Loon, 1999). Estas proteínas son de bajo peso molecular que van de los 14 a 23 KDa, solubles en pH ácidos y resistentes a la proteólisis. Se han reconocido hasta el presente 10 familias de PR-proteínas y de ellas, al menos tres, presentan actividad enzimática como son quitinasa, glucanasa y peroxidasa y los miembros de estas familias se encuentran presentes en muchas especies vegetales. (Van Loon, 1987)

Con relación a las respuestas de defensa que el quitosano activa se pueden citar las siguientes: síntesis de lignina y calosa, inducción de la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL), biosíntesis de fitoalexinas, producción de inhibidores de proteasas y proteínas relacionadas con la patogénesis (PR) tales como quitinasas, glucanasas, peroxidadas (POD) y quitosanasas (García-Vera, 2014). Cambios fisiológicos y bioquímicos ocurren dentro de la planta debido a la inducción por quitosano (Reyes-Pérez *et al.*, 2020). Diversos estudios han reportado que la aplicación de diversas dosis de quitosano, estimulan los procesos fisiológicos en la planta e incrementan el tamaño de las células, lo cual incrementa la asimilación de los nutrientes, aumenta el crecimiento y desarrollo de la planta, trayendo consigo un aumento de los rendimientos. Esta respuesta se ha atribuido a que el quitosano, estimula la producción de clorofila y la fotosíntesis en las plantas (Reyes-Pérez *et al.*, 2020). Productos comerciales como QuitoMax en dosis entre 300 y 600 mg/ha aplicadas en cultivo de tomate, mostraron un incremento significativo en comparación con el cultivo no tratado o control, en diversas variables como el número de racimos por planta, número de frutos por racimo, diámetros polar y ecuatorial del fruto, masa de la fruta y rendimiento (Reyes-Pérez *et al.*, 2018).

El quitosano logra su efecto antifúngico por diferentes vías, en las que el grado de polimerización

parece desempeñar un papel importante; así como, el grado de acetilación y cierto requerimiento mínimo de tamaño molecular, incluso el tipo y concentración para poder mostrar actividad antifúngica *in vitro* ya que puede ir desde un 25 hasta un 90.5 % de inhibición del crecimiento de diferentes hongos comprobando que con un aumento de la concentración, se aumentaba la inhibición sobre los microorganismos (Chien & Chou (2006). Si el grado de polimerización disminuye en la molécula de quitosano, esto provocaría una disminución en el número de especies de hongos inhibidos, por lo tanto, existe cierto requerimiento mínimo de tamaño molecular para poder mostrar actividad antifúngica *in vitro* (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2009). Quitosano al 1 % de grado de acetilación y de elevado carácter policatiónico mostró mayor efecto inhibitorio respecto del quitosano con 36 % de grado de acetilación sobre el hongo *Phytophthora parasítica*. En cuanto a las concentraciones aplicadas, Rodríguez-Guzmán *et al.*, (2019), reportaron que en plantas de tomate tratadas con 0.01% de quitosano, se obtuvo una reducción estadísticamente significativa en el daño foliar y en la germinación de esporas de *Alternaria* sp (hasta un 80%) en comparación con el control disminuyendo así la severidad de la enfermedad.

Un quitosano parcialmente desacetilado se estudió sobre otras dos bacterias: *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* y *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* demostrando que retarda el crecimiento de dichas bacterias en concentración de 0.5 % (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2009).

La quitosana posee una actividad antiviral por su habilidad para inducir resistencia a las enfermedades virales en plantas y para prevenir la multiplicación del bacteriófago en cultivos infectados por microorganismos. (Chirkov *et al.*, 2001, 2002). La capacidad de la quitosana para suprimir la infección viral en plantas no depende del tipo de virus, la quitosana afecta a la planta induciendo su propia resistencia a las infecciones virales. La quitosana imita el contacto de la planta con un fitopatógeno, induce un amplio espectro de reacciones protectoras en la planta, la cual delimita una propagación sistémica de los virus sobre la planta y conduce al desarrollo de la resistencia adquirida sistémica (Rabea *et al.*, 2003). capacidad de la quitosana para suprimir la infección viral en plantas no depende del tipo de virus, la quitosana afecta a la planta induciendo su propia resistencia a las infecciones virales. La quitosana imita el contacto de la planta con un fitopatógeno, induce un amplio espectro de reacciones protectoras en la planta, la cual delimita una propagación sistémica de los virus sobre la planta y conduce al desarrollo de la resistencia adquirida sistémica (Rabea *et al.*, 2003).

Los derivados quitinosos presentan actividad antiviral. En ese sentido se destaca que los derivados catiónicos de quitosana son muy potentes en la inhibición de las lesiones locales producidas por los virus, lo cual se ha atribuido a la dependencia de la infección viral con la carga superficial Pospieszny *et al.*, (1991). Sin embargo, no se ha verificado una correlación entre el grado de acetilación y el peso molecular, con respecto a la actividad antiviral, pues también se ha comprobado que oligómeros de quitina totalmente acetilados a una concentración de 0,01% inhiben el virus del mosaico de la alfalfa en el frijol Pospieszny *et al.*, (1991).

El quitosano induce la resistencia a la planta contra las infecciones virales imitando el contacto de la planta con un fitopatógeno, induciendo así un amplio espectro de reacciones protectoras como la expresión de proteínas relacionadas con la patogenicidad (PR-Proteínas) con actividad enzimática como son quitinasa, glucanasa y peroxidasa, en la planta la supresión infecciones del fago por quitosana son inactivación de la partícula del fago e inhibición d, las cual delimitan una propagación sistémica de los virus y conduce al desarrollo de la resistencia sistémica adquirida. Su aplicación por aspersión o inoculación protege a las hojas de infecciones locales y sistémicas causadas por el virus mosaico de alfalfa (ALMV), virus necrosis del tabaco (TNV), virus mosaico del tabaco (TMV), virus malformación del maní (PSV), virus mosaico del pepino (CMC) y virus X de la papa (PVX). La eficiencia del quitosano como antiviral en las plantas depende de la combinación hospedero-virus, la concentración de quitosano y el método de aplicación (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2009).

## 2.6. Parámetros de Calidad Poscosecha del Tomate

Para clasificar los frutos de acuerdo con su calidad, es necesario tomar en cuenta una serie de características: 1) firmeza, la cual puede ser consistente, esponjosa y flácida, 2) limpieza, los frutos deben estar libres de polvo y residuos de plaguicidas, 3) uniformidad en madurez y tamaño, sólo se permite limitado porcentaje de defectos físicos, 4) forma de los frutos, las hendiduras y deformaciones influyen en la calidad, y 5) sanidad. De acuerdo a esta clasificación, el grado de madurez del fruto va a determinar el grado y calidad a la que pertenezca (Van, 1982).

Los atributos de calidad del fruto como color, sólidos solubles totales (°Brix), acidez, pH, firmeza,

entre otros, son afectados por variaciones genotípicas, pero también por las condiciones de crecimiento, irradiación, estación de cultivo, nutrición, riego, temperatura, enfermedades y condiciones postcosecha. La maduración influencia los atributos sensoriales de la calidad del fruto, incluida la textura ya que el ablandamiento excesivo es el principal factor que disminuye su calidad, influenciando el transporte, el almacenamiento y el valor en el mercado (San Martín-Hernández *et al.*, 2012).

## 2.7. Parámetros Físicos

### 2.7.1. Color

El color en el tomate es la característica física más importante en la determinación del estado de madurez de su vida poscosecha ya que es una propiedad física que determina la aceptación por el consumidor, aunque no necesariamente refleje valores nutricionales de sabor o funcionalidad. (Rivera-Castro, 2011).

El color rojo profundo de los tomates es proporcionado por una molécula química denominada licopeno, la cual constituye aproximadamente el 80-90% del contenido total de los carotenoides presentes en el tomate. Otro carotenoide presente en el tomate es el  $\beta$ -caroteno, que representa el 10.7% del contenido total de carotenoides. En la literatura, la concentración de  $\beta$ -caroteno en el tomate varía de 0.79 a 14.6 mg.kg<sup>-1</sup> (Navarro-González y Periagoa, 2016).

El color está relacionado con la maduración del fruto y puede ser determinado mediante el empleo de una carta de colores y/o mediante el uso de un colorímetro como una función de la cantidad de luz reflejada o transmitida por el fruto. Este último emplea un sistema de medida expresado como valores CIELab, el cual pretende acercarse a la percepción humana del color. Aporta una tripleta de coordenadas que permiten situarse colorimétricamente en un lugar del espacio. Estas coordenadas están correlacionadas con tres conceptos básicos que se pueden distinguir en toda apreciación del color, los denominados: °Hue, tono o color base, Luminosidad y Cromo o saturación del color (Domínguez-Pérez *et al.*, 2012).

El color en el tomate es una característica de calidad extremadamente importante, ya que determina la madurez y vida poscosecha, así como la aceptabilidad por parte del consumidor. El cambio de color que acompaña a la madurez fisiológica es utilizado ampliamente como índice de madurez para muchas frutas. La medida objetiva del color requiere de equipamiento analítico y aunque el ojo humano no es capaz de dar lugar una buena evaluación de color, es extremadamente sensible a las diferencias entre colores, por lo que comúnmente se utilizan técnicas de comparación de color para evaluar la madurez de las frutas (Zapata *et al.*, 2007). La "United States Standards for Grades of Fresh Tomatoes" ha subdividido dicho cambio en seis estados de madurez según Genta H. *et al.*, (1992).

1. "Green". Verde maduro.
2. "Breaker". Comenzando a virar de color. No supera el 10% de la superficie de la fruta con coloración amarilla, rosada o roja.
3. "Turning". Virando o pintón. Los colores del punto 2 se encuentran entre el 10 y 30% de la superficie de la fruta.
4. "Pink". Rosado. Entre el 30 y 60% de la fruta es rosada o roja.
5. "Light red". Rojo pálido. Más del 60% y menos del 90% de la fruta presenta coloración rosada a roja.
6. "Red". Rojo. Más del 90% de la superficie es roja.

Para una determinación objetiva del color, se utilizan equipos espectrofotométricos, en los frutos de tomate se realiza estableciendo las coordenadas con °Hue, Cromo y L con equipos portátiles o de laboratorio como el colorímetro.

El tono o color verdadero (°Hue), dentro del eje de color (Figura 1), indica si el fruto es verde, amarillo o rojo, o el grado que representa dicha coloración. El tono se define como el  $\text{Arc Tan}^{-1} b/a$ , un ángulo de  $0^\circ$  es un color rojo, un ángulo de  $90^\circ$  un color amarillo,  $180^\circ$  o  $(-90^\circ)$  representa un color verde y  $270^\circ$  ( $-180^\circ$ ) indica un color azul.

Los valores de °Hue de la cáscara de frutos de tomate disminuyen a medida que avanza la maduración (Beltrán-Quesney, S. A., 2016).

La cromaticidad (croma), es indicada por los valores  $a^*$  y  $b^*$  conjuntamente,  $a^*$  representa el eje horizontal que va desde colores verdes ( $-a^*$ ) hasta colores rojos ( $+a^*$ ) y  $b^*$  representa el eje vertical que evoluciona desde azul ( $-b^*$ ) hasta amarillo ( $+b^*$ ). Cada color viene dado por tres valores de estas coordenadas, que representan un punto en el espacio tridimensional (Figura 1).

La determinación de Croma (saturación) y Hue (h, tono) se lleva a cabo a partir de los valores de  $a^*$  y  $b^*$  obtenidos en cada caso (Domínguez-Pérez *et al.*, 2012).

La Luminosidad (valor L), indica la claridad del color. La luminosidad muestra valores de 100=blanco y 0=negro. Este parámetro se representa dentro de una esfera de color en el eje vertical, cuyos valores van de 0 a 100. Los valores altos indican colores luminosos o claros, mientras que los valores cercanos a cero indican los colores más oscuros o negros (Beltrán-Quesney, S. A., 2016).

Siller y Báez (2009) establecieron una relación de los valores objetivos de color en diferentes estados de madurez, asignándole al color rojo: 45.8 °Hue, 36.27 croma, 40.74 de luminosidad, 23.90 de valor “a” y 27.29 de valor “b”.

2.7.1.1. Colorímetro. Los colorímetros miden el color a través de tres filtros de banda ancha correspondientes a las curvas espectrales de sensibilidad, estos tres componentes son; 1. Fuente de iluminación. 2. Combinación de filtros utilizados para modificar la distribución de energía de la luz incidente/ reflejada. 3. Detector fotoeléctrico que convierte la luz reflejada en salida eléctrica. Estas medidas conocidas como triestímulos normalmente son comparativas, cada color tiene sus valores que lo distingue de cualquier otro color. Estos valores pueden ser medidos y así determinar si la comparación del color es precisa (Rivera-Castro, 2011).

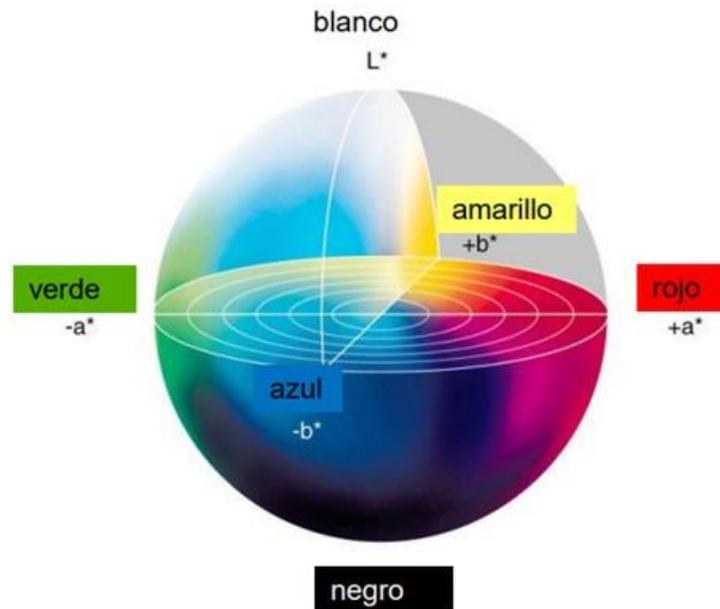


Figura 1. Representación del Color CIELab, sistema de notación de color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ , cromaticidad y ángulo matiz ( $^{\circ}$ Hue).

Los valores del ángulo de matiz ( $^{\circ}$ Hue) de la cáscara de frutos de tomate disminuyen a medida que avanza la maduración y cuando los frutos alcanzan una coloración roja, presentan diferencias marcadas entre variedades en sus tonalidades o colores verdaderos. Las variedades que sobresalen por su alto color rojo tienen valores por debajo de  $40^{\circ}$ Hue y las variedades con menor tono (tonalidades rojizo-naranja) presentan valores por encima de  $45^{\circ}$ Hue (Báez *et al.*, 2001).

### 2.7.2. Firmeza

El fruto de tomate se consume a su máxima calidad organoléptica pero antes de estar demasiado suave, lo cual ocurre cuando alcanza la madures fisiológica o estado 6 (color rojo en más del 90% de la superficie). En los productos agrícolas como frutas y hortalizas, la firmeza es un atributo de calidad de vital importancia. Sin embargo, muchas cuestiones no están todavía resueltas. Las células de los vegetales no son una estructura estática, sino que son de naturaleza dinámica y los cambios en la composición y estructura ocurren continuamente durante el desarrollo de las plantas (Zapata *et al.*, 2007).

En términos generales, la calidad de los frutos depende de que éstos mantengan su firmeza, la cual indica una madurez aceptable, fresca, y que están libres de magulladuras o daño interno. La firmeza del fruto en poscosecha también se ve afectada por factores fisiológicos como la transpiración, la cual ocasiona que éste pierda agua y, al no tener una fuente de suministro (planta madre), pierde turgencia y firmeza (Navarro-López *et al.*, 2012). No obstante, otros factores que afectan la firmeza, es la salinidad y el aumento del pH (>8), causando el bloqueo del calcio disponible para las plantas, lo cual incide en este atributo debido a cambios físicos y químicos asociados a una mayor actividad de las enzimas encargadas de la degradación de la pared celular y la solubilización de las pectinas por las enzimas pectinmetilesterasa (PME), poligalacturonasa (PG) y pectato liasa (PL) (San Martín-Hernández *et al.*, 2012). Este ablandamiento puede valorarse subjetivamente mediante la presión ejercida por los dedos, pero también puede medirse cuantitativamente obteniendo una expresión numérica de fuerza (Newton, kg, lb, etc.) de su firmeza con el implemento de un penetrómetro o medidor de presión, a medida que se reduce la fuerza, la fruta está más blanda y es penetrada más fácilmente (Beltrán-Quesney, 2016). En los procesos de medición, este parámetro se ve significativamente influenciado por la temperatura, por lo que los frutos han de ser analizados una vez éstos han alcanzado la temperatura ambiente, por otro lado, Kader (1993) indica que el valor mínimo permisible para que el fruto de tomate sea aceptado a nivel comercial es de 8.0 N mientras que Ojeda *et al.*, (1995), reportan que los frutos de tomate con valores de firmeza inferiores a 5 N son comercialmente inaceptables.

La textura es el principal atributo de medición para la calidad en frutas y hortalizas, lo que repercute en la firmeza del fruto. El cambio de textura es el principal evento de ablandamiento del fruto y es parte integral de la maduración, resulta de la degradación enzimática de la estructura; así como, del almacenamiento de polisacáridos. Este evento está influenciado por varios factores que integran la estructura de la pared celular primaria y la lámina media; como, la acumulación de polisacáridos almacenados; la presión de turgencia, generada dentro de las células por osmosis; los cambios en la presión de turgencia y la degradación de polisacáridos de la pared celular, por lo tanto, los contenidos de almidón determinan el grado del ablandamiento de las frutas. Las frutas que son conocidas por ablandamiento excesivo presentan su pared celular modificada por solubilización, desterificación y depolimerización, lo cual es acompañado de una gran pérdida de azúcares neutros y ácidos galaturónicos seguido de los restantes de azúcar y oligosacáridos. La pulpa del fruto o mesocarpio es la parte que puede ser comestible y está caracterizada por la prominente pared celular, polisacáridos y proteínas (Rivera-Castro, 2011).

### **2.7.3. Pérdida de Peso**

La pérdida de peso está relacionada con el proceso metabólico de la respiración del fruto, ya que es un producto final de este proceso metabólico. A nivel comercial se considera que las frutas y hortalizas que pierden 5 % de su peso durante el almacenamiento son de mala calidad debido a su apariencia marchita (Wills *et al.*, 2007; Rivera-Castro, 2011). Para el tomate la pérdida de peso para su comercialización no debe exceder del 7 % de su peso original (Navarro-López *et al.*, 2012).

### **2.7.4. Materia Seca**

En el contenido de materia seca del tomate, tanto el contenido de sólidos solubles (CSS) como el contenido de sólidos totales (SST), constituye uno de los componentes de calidad más importantes en el procesamiento de tomates Poysa V. (1992). Los frutos de tomate contienen: azúcares reductores como fructosa y glucosa y trazas de sacarosa que constituyen 53 a 65 % de los sólidos solubles, ácidos, cítrico (9 %) y málico (4 %) principalmente, la vitamina C (ácido ascórbico), aminoácidos (2-2.5 %), carotenoides, compuestos volátiles responsables del aroma, sales minerales (8 %) y sustancias pécticas de la pared celular Hernández *et al.*, (2012), lo cual está directamente relacionado con el rendimiento de producto por tonelada de tomate, mientras que el nivel y la calidad de los sólidos insolubles están relacionados con la consistencia de los productos de tomate Poysa V. (1992).

La mayoría de la materia seca de los frutos del tomate proviene de los fotoasimilados producidos en las hojas y transportados a los frutos, siendo estos son los principales órganos sumideros y compiten entre ellos y con los órganos vegetativos por los asimilados disponibles. Factores como las labores agrícolas, fertilización foliar, riego y un mayor suministro de luz tienden a mejorar la acumulación de materia seca en los frutos, esto, iniciando estas actividades a los 43 días después de la floración, (Casierra, F.P & Cardozo, M.C, 2009).

## 2.8. Parámetros Químicos

### 2.8.1. Sólidos Solubles Totales (°Brix)

Los sólidos solubles totales (SST) son una medida de la densidad del jugo del fruto y se miden en °Brix con un refractómetro, el cual mide el índice de refracción o la disminución de la velocidad de un rayo de luz cuando pasa a través del jugo de una fruta. El refractómetro posee dos escalas, una indica el índice de refracción y otra los °Brix equivalentes o SST, y ambas pueden leerse directamente. Para muestras de fruta fresca se debe hacer uso del término ‘sólidos solubles’, porque el término ‘Brix’ hace mención únicamente al contenido de azúcar puro (Kader, 1993).

Un °Brix se define como la densidad que tiene una solución de sacarosa al 1%, lo que corresponderá a un determinado índice de refracción. Los sólidos solubles totales (SST) incluyen azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, compuestos fenólicos y pectinas. En general los azúcares son el principal componente de los SST del jugo de los frutos (Rivera-Castro, 2011).

Los SST (°Brix) son un parámetro de calidad del fruto que varía con la conductividad eléctrica de la solución nutritiva y el estrés hídrico del fruto durante su desarrollo, en frutos de tomate bajo este tipo de estrés se almacenan principalmente iones y moléculas orgánicas (incremento en la concentración de fructosa y glucosa) (Navarro-López *et al.*, 2012; De la Rosa-Rodríguez *et al.*, 2016).

Cuando existe una conductividad eléctrica de  $4.5 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$  en la solución nutritiva del riego, se produce la reducción del flujo de agua hacia el fruto, lo que ocasiona un estrés por sales (osmótico) que producen una acumulación activa de solutos. En frutos de tomate de plantas bajo este tipo de estrés se almacenan principalmente iones y moléculas orgánicas (incremento en la concentración de fructosa y glucosa). Asimismo, conductividades eléctricas mayores ( $6.5$ ,  $10.0$  ó  $13.5 \text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ ) también favorecen el incremento en fenoles y vitamina E (Navarro-López *et al.*, 2012).

### **2.8.2. Acidez Titulable (AT)**

La acidez titulable (AT) es un parámetro que disminuye con el estado de la maduración del fruto (verde-inmaduro a rojo maduro) y con el tiempo de almacenamiento, ya que los ácidos orgánicos son usados como sustrato en el proceso de respiración por lo que durante la maduración supone un descenso de la acidez (Navarro-López *et al.*, 2012; Durán-Acevedo *et al.*, 2014; González-Céspedes *et al.* 2004).

Los ácidos orgánicos del tomate son los componentes más importantes del sabor, y en proporción a su contenido el más predominante es el ácido cítrico seguido por el ácido málico. De acuerdo a las secciones del fruto, la acidez del contenido locular es aproximadamente el doble del de la pared externa de la fruta. Este parámetro también es influenciado por el aporte de nutrientes como el Nitrógeno y el Potasio, los cuales incrementan la acidez de la fruta mientras que la fertilización fosfatada la disminuye; por lo tanto, los tratamientos con fertilizantes amoniacales hacen a la fruta menos ácida que los nítricos. En este contexto y en cuanto a la calidad, el mejor sabor de la fruta se logra con niveles altos en azúcares y relativamente altos en ácidos, dichos parámetros que objetivamente para la industria deben tener un pH de 4.4, mientras que para tomate en fresco éste puede variar entre 4.17 a 4.59 (Navarro-López *et al.*, 2012), ya que niveles altos en ácidos y bajos en azúcares producen una sensación ácida o picante; mientras que, a la inversa, producen un sabor dulce o suave y cuando ambos, azúcares y ácidos, son bajos, la fruta es insípida (Genta *et al.*, 1992).

### **2.8.3. Relación Sólidos Solubles Totales - Acidez Titulable (SST/AT).**

La relación SST (°Brix) y ácida titulable o también conocido como índice de madurez (IM), es un indicativo del estado de desarrollo de los frutos y de la aproximación a la calidad organoléptica de estos y se atribuye a la conversión de ácidos orgánicos en azúcares o la traslocación de carbohidratos de reserva a sacáridos simples atendiendo a la baja capacidad fotosintética del fruto. En este evento fisiológico ocurren algunos de los principales cambios fisicoquímicos que se manifiestan en el color, la tasa de respiración y la composición de carbohidratos (Wills *et al.*, 1989).

Una baja relación de sólidos solubles totales/acidez titulable (SST/AT) está asociada con una buena calidad de la fruta, la cual se relaciona con días nublados, excesos de radiación, temperatura y transpiración de los frutos, este indicador se obtiene como el cociente entre sólidos solubles (% de SS o °Brix) y acidez titulable (AT) mediante la siguiente ecuación (Ayala-Sánchez L. C. *et al.*, 2013):

$$\frac{SS}{AT} = \frac{^{\circ}Brix}{Acidez\ titulable}$$

*Donde:*

*SS/AT = relación sólidos solubles/acidez titulable*

*°Brix = grados Brix del jugo*

*Acidez titulable = expresada en porcentaje de ácido cítrico.*

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Materiales**

##### **3.1.1. Material Vegetativo**

El ensayo de campo se realizó en un cultivo de tomate bajo condiciones de mallasombra de una empresa agrícola comercial cooperante del valle de Navolato, Sinaloa, la cual proporcionó dos capillas que conformaban 5 camas de cultivo de 60 m de longitud plantadas cada una, donde se tenían 340 tallos de tomate bola de crecimiento indeterminado híbrido Toretto injertado sobre Itzafort (ambos de la compañía Enza Zaden, Seeds). 18 días antes del trasplante, el suelo fue fumigado con Metam Sodio (Mercenario™ al 42% de metil isotiocianato) en dosis de 300 L/ha.

La aplicación de los tratamientos y los muestreos de suelo iniciaron 15 días después del trasplante o establecimiento de la planta, y tuvo una duración de 2 meses.

Los análisis de laboratorio se realizaron en el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD) Unidad Culiacán. Se inició con la aplicación de cuatro tratamientos a base de bioestimulantes (productos comerciales) más un testigo sin tratamiento. Los tratamientos 1 al 3 consistieron en tres productos comerciales y el tratamiento 4 fue la mezcla de los tratamientos 1, 2 y 3. El tratamiento 5 fue la cama de cultivo sin tratamiento de bioestimulantes, solo el manejo convencional del productor.

##### **3.1.2. Bioestimulantes**

Los bioestimulantes consistieron en productos comerciales proporcionados por una empresa cooperante dedicada a la investigación y mercadeo de insumos agrícolas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Productos comerciales utilizados en los tratamientos de bioestimulantes.

Bioestimulante	Ingrediente activo	Concentración
Producto 1	<i>Bacillus subtilis</i> var. <i>amyloliquefaciens</i> cepa D747	98.85 % de i.a. ( $2 \times 10^{10}$ UFC.mL <sup>-1</sup> )
Producto 2	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus magaterium</i> , <i>Bacillus liqueniformis</i> , <i>Azotobacter</i> sp. y <i>Pseudomonas fluorescens</i>	6.0 % de i.a. ( $2.1 \times 10^9$ UFC.g <sup>-1</sup> )
Producto 3	Quitosano: Poli-D-glucosamina	2.5 % (25 g. L <sup>-1</sup> )

### 3.1.3. Etapas del Experimento

Esta investigación se realizó en cuatro etapas:

Etapa 1. Se realizó un muestreo de suelo, previo a la aplicación de los tratamientos para análisis microbiológico donde se determinó el índice de diversidad biológica (IDB) de microorganismos fitobeneficos de acuerdo con los grupos funcionales de: bacterias aeróbicas y anaeróbicas, actinomicetos, bacterias nitrificantes, *Pseudomonas fluorescens*, bacterias y hongos solubilizadores de fosforo y bacterias y hongos solubilizadores de potasio. Dichos análisis se realizaron en el laboratorio de Nematología del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD) unidad Culiacán.

Etapa 2. Se procedió a la aplicación de los tratamientos bioestimulantes, solos y la mezcla más el testigo (sin bioestimulante). Para lo cual se realizaron cuatro aplicaciones con intervalos de 15 días iniciando a los 10 días después del trasplante. A cada tratamiento se le asignó una cama de 60 m con 340 tallos de tomate.

Etapa 3. Después de realizar las cuatro aplicaciones de los tratamientos bioestimulantes, se procedió a realizar un segundo análisis para evaluar nuevamente el IDB y compararlo con el IDB previo a la aplicación de tratamientos y evaluar así la correlación entre la población microbiana antes y después de la aplicación de tratamientos y los parámetros de calidad poscosecha más importantes en el fruto de tomate.

De la población de microorganismos detectados en el suelo de cada tratamiento, se procedió a seleccionar y purificar colonias de bacterias para su caracterización e identificación mediante pruebas morfológicas como la tinción Gram y Chaeffer-Fulton para tinción de esporas de *Bacillus*

y pruebas bioquímicas de identificación para *Basillus* sp., para lo cual se utilizó el paquete Api50 CHB, con el fin de verificar la presencia de las bacterias inoculadas (tratamientos) en el suelo del cultivo tratado.

Etapa 4. Muestreo y análisis poscosecha del fruto de tomate de cada tratamiento para los siguientes parámetros: Rendimiento: ( $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), número de frutos y clasificación de tamaños de acuerdo al diámetro del fruto: [(S: chico (54-58 mm), M: mediano (57-64 mm), L: grande (63-71 mm), XL: extra grande (70-84 mm), MXL: máximo extra grande (83-90 mm)] y materia seca de los frutos (%). Análisis poscosecha después de corte y a los 3,6 y 9 días de almacenamiento bajo condiciones de simulación mercadeo a  $20^{\circ}\text{C}$  y 70% HR. Análisis físicos: pérdida de peso acumulada (%), firmeza de pulpa (N), color ( $^{\circ}\text{Hue}$ ). Análisis químicos: pH, SST ( $^{\circ}\text{Brix}$ ), acidez titulable AT (% de ácido cítrico). Análisis morfológico: peso del fruto (g), diámetro ecuatorial, polar y peduncular (mm), número de lóculos y grosor del pericarpio (mm).

## 3.2. Metodos

### 3.2.1. Muestreo de Suelos

Se realizó el primer muestreo de suelo previo a la aplicación de los tratamientos bioestimulantes a los 15 días posteriores al trasplante. Con el uso de una pala jardinera de 6", se recolectaron tres submuestras en un mismo surco, manteniendo una separación de 15 m entre submuestras, las cuales se tomaron de la parte central de la cama junto al tallo, en la parte más próxima a la rizósfera de la planta de tomate (Figura 2). las submuestras recolectadas se colocaron en bolsas de polietileno rotuladas con su respectivo tratamiento, mismo procedimiento para cada uno de los cinco tratamientos (camas) en los lotes 1 y 2 (réplicas) respectivamente, obteniendo un total de 10 muestras. En laboratorio, a partir de las tres submuestras se formó una muestra para su posterior análisis microbiológico.



Figura 2. Muestreo de suelo en el cultivo de tomate para evaluar población microbiana.

### 3.2.2. Tratamientos y Dosis

Se aplicaron cuatro tratamientos más un testigo. Los primeros tres tratamientos constaron de tres bioestimulantes de origen comercial, el cuarto tratamiento se originó de la mezcla de los tres bioestimulantes mencionados y el quinto tratamiento representó al testigo (sin tratamiento). En el ensayo se realizaron cuatro aplicaciones a intervalos de 15 días entre ellas, iniciando con la primera aplicación a los 7 días después del trasplante de tomate, cuya altura promedio era de 30 cm: Cada tratamiento se replicó en dos lotes de 5 camas (una cama para cada tratamiento). Los tratamientos de bioestimulantes consistieron en:

Tratamiento 1. *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* sepa D747.

Tratamiento 2. *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *P. fluorescens* y *Azotobacter* sp.

Tratamiento 3. Quitosano: Poli-D-glucosamina.

Tratamiento 4. Mezcla de los tratamientos 1,2 y 3

Tratamiento 5. Testigo (sin tratamiento bioestimulante), solo el manejo estándar de la agrícola.

La dosis establecida para cada tratamiento bioestimulante se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Tratamiento y dosificación de los productos bioestimulantes comerciales.

Bioestimulante	Producto comercial	Volumen de agua	Concentración
Producto 1	40 mL	200 L	$3.95 \times 10^9$ UFC.L <sup>-1</sup>
Producto 2	40 g	200 L	$2.52 \times 10^7$ UFC.L <sup>-1</sup>
Producto 3	100 mL	200 L	12.5 mg. L <sup>-1</sup>
Productos 1,2,3	(Mezcla y dosis respectiva de los productos 1, 2 y 3)		
Testigo	(Tratamiento sin bioestimulante)		

### 3.2.3. Preparación y Modo de Aplicación de los Bioestimulantes

Cada tratamiento se preparó por separado in situ para su posterior aplicación mediante inyección a través del sistema de riego con una bomba motorizada de 25 L de capacidad y con suministro constante de las mezclas preparadas. Para controlar la aplicación individual de los tratamientos, se instaló en cada cama de cultivo, una llave de paso con una conexión para la línea de inyección del producto (Figura 3). La alimentación de la bomba fue constante a partir de un contenedor de 200 L donde se preparó cada uno de los productos, el agua se abasteció a gravedad a través de una manguera desde un tinaco de 1000 L instalado en una camioneta por la parte externa de la malla.

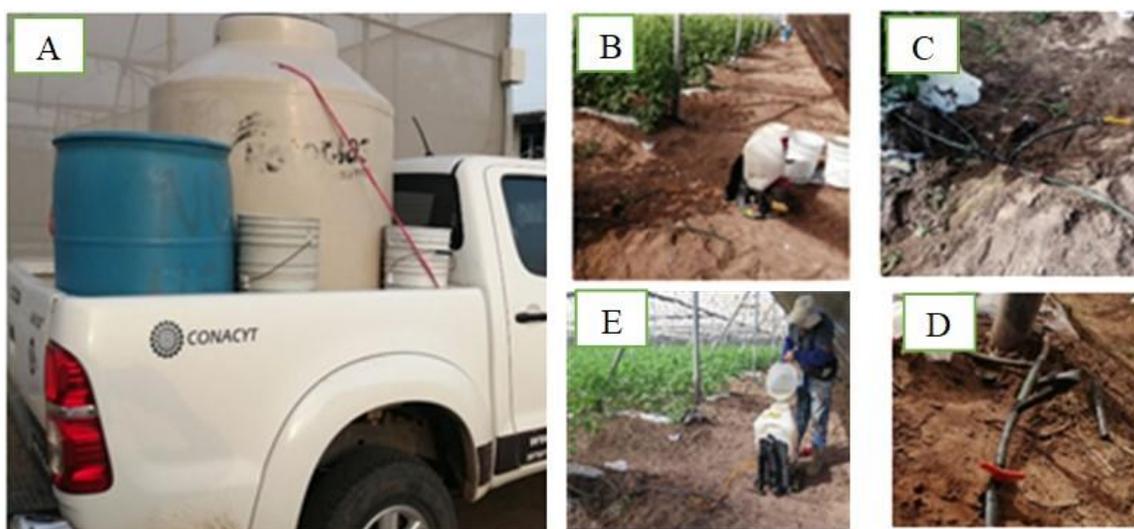


Figura 3. Contenedores para la preparación de los tratamientos (A) y sistema de conexión de la bomba de aplicación hacia el sistema de riego en cada cama (B, C, D y E).

### 3.2.4. Análisis Microbiológico del Suelo

Para obtener el Índice de Diversidad Biológica (IDB) del suelo, se siguieron los parámetros descritos por la BBC Laboratories (2003). (Cuadro 3 y 4)

Primero se tomaron las muestras de suelo previo al inicio de las aplicaciones de los tratamientos bioestimulantes (4 aplicaciones a intervalos de 15 días); así como, un periodo de quince días posterior a la última aplicación de los tratamientos. El IDB se analizó de acuerdo a los grupos funcionales de microorganismos fitobenéficos (bacterias aeróbicas y anaeróbicas, *Pseudomonas fluorescens*, bacterias nitrificantes, bacterias y hongos solubilizadores de fosforo y bacterias y hongos solubilizadores de potasio).

1. De cada tratamiento y lote de cultivo, se generó una muestra de suelo compuesta la cual fue analizada en el laboratorio de Nematología del CIAD unidad Culiacán, donde se pesaron 50 g de suelo de cada sub-muestra para posteriormente agregarlas y mezclarlas en matraces con 450 mL de agua destilada esterilizada durante 30 min de agitación.

2. Luego de obtener una mezcla homogénea, se tomó 1 mL con una micropipeta para hacer diluciones decimales seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  en tubos de ensayo con 9 mL de agua destilada y esterilizada.

3. Posteriormente se procedió a sembrar por triplicado en cada uno de los medios de cultivo, un volumen de 100  $\mu$ L de la dilución  $10^{-4}$  utilizando para ello una micropipeta ajustada a dicho volumen. Los medios de cultivo utilizados fueron: (PDA-AL) para el aislamiento de hongos, (PDA) para bacterias aeróbicas y anaeróbicas, (BK) *Pseudomonas fluorescens*, (AGAR ROJO CONGO) bacterias nitrificantes, (PIKOVSKAYA) bacterias y hongos solubilizadores de fosforo y (PIKOVSKAYA MODIFICADO) para bacterias y hongos solubilizadores de potasio, respectivamente. En cada muestreo de los cinco tratamientos y dos réplicas (lotes) se tuvieron en total 10 muestras, de las cuales se sembraron por triplicado en cada uno de los seis medios de cultivo, dando así un total de 210 placas en cada fecha de muestreo (10x3x7).

4. Después de sembrar cada muestra en sus respectivos medios de cultivo estos se incubaron a 27 °C durante 72 h, a excepción de las bacterias anaeróbicas (PDA), estas se incubaron a temperatura ambiente durante 72 h, donde se empleó el método de la vela utilizando un contenedor de cristal, en el cual se introdujeron los medios de cultivo y una vela encendida para posteriormente cerrar

con la tapadera de cristal y sellar herméticamente para evitar la entrada de oxígeno, ya que, al consumirse el oxígeno por el fuego de la vela, este se convierte en CO<sub>2</sub> creando así, una atmosfera anaeróbica.

5. Después del periodo de incubación mencionado, se cuantificaron los valores promedio del triplicado de cada muestra y respectivo medio de cultivo, obteniendo valores que se calcularon en UFC.g<sup>-1</sup> de suelo mediante la fórmula:

$$\text{UFC.g}^{-1} = (\text{promedio de UFC}) (\text{inverso de la dilución } 10^{-4}) (10).$$

6. Los resultados de cada muestra de suelo se cotejaron con los cuadros de la BBC Laboratories (2003) para obtener el Índice de Diversidad Biológica (Cuadro 3) con la sumatoria de la diversidad biológica de cada uno de los microorganismos evaluados (Cuadro 4).

Cuadro 3. Clasificación del suelo de acuerdo a su diversidad biológica.

<b>Clasificación</b>	<b>Índice de diversidad de especies</b>
Alta diversidad	≥ 12.5
Diversidad moderada	7.0 – 12.5
Baja diversidad	< 7.0

Cuadro 4. Determinación de la carga microbiana fitobenéfica (diversidad de especies) en suelo

<b>Parámetros</b>	<b>Enumeración Propágulos o UFC</b>	<b>Diversidad biológica</b>
Bacterias aeróbicas heterotróficas	100,000,000	3.0
Bacterias anaeróbicas heterotróficas	10,000,000	2.0
Hongos y levaduras	500,000	3.0
Actinomicetes	100,000	1.5
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,000,000	2.0
Bacterias fijadoras de nitrógeno	1,000,000	1.0

3.2.4.1. Tinción Gram. Para la tinción de Gram se aislaron cultivos de bacterias en PDA procedentes del segundo muestreo posterior a la aplicación de los tratamientos, dichos cultivos se seleccionaron y aislaron para este procedimiento el cual se describe a continuación:

1. Con un asa de siembra previamente esterilizada en la flama del mechero, se tomó una colonia y se extendió en mezcla con una gota de agua destilada en un portaobjeto y se dejó secar el exceso de agua para poder fijar la muestra.
2. Posteriormente se agregaron unas gotas del colorante cristal violeta, dejándose durante un minuto y posteriormente se lavó con agua nuevamente.
3. Enseguida, se añadió lugol como mordiente, dejándose actuar por otro minuto para después decolorar la muestra con etanol al 95% por 20 segundos y lavar con agua inmediatamente.
4. Se le agregaron unas gotas de safranina como colorante de contraste, dejándose actuar por medio minuto, se lavó con agua hasta quedar incolora y se dejó reposar en papel secante. Una vez secas las muestras se observaron al microscopio. Las bacterias Gram positivas se observan de color azul oscuro a morado, mientras que las Gram negativas se observan de color rosa a rojo (Schaad *et al.*, 2001; Popescu A. & Doyle RJ. 1996).

3.2.4.2. Tinción Shaeffer-Fulton. Para determinar la presencia de esporas del género *Bacillus* en los cultivos bacterianos, se utilizó la tinción Schaeffer y Fulton (1933), que utiliza verde de malaquita para la tinción de la spora y una solución de safranina como colorante de contraste. En este procedimiento se usaron cultivos de 48 horas de incubación, cuyos pasos fueron los siguientes:

1. Con un asa de siembra previamente esterilizada en la flama del mechero, se tomó una colonia a partir del cultivo bacteriano seleccionado y se extendió en mezcla con una gota de agua destilada en un portaobjeto y se dejó secar el exceso de agua para poder fijar la muestra.
2. Se cubrió la muestra en el portaobjetos con solución acuosa de verde de malaquita al 5 % y se calentó sobre la llama del mechero de alcohol hasta causar desprendimiento de vapores, se retiró de la llama y se repitió la operación durante de 5 minutos evitando que se evapore totalmente el colorante, si se evapora demasiado, se puede agregar más.
3. Se lavó enérgicamente al chorro del agua, hasta eliminar el exceso de colorante.
4. Se cubrió la preparación con solución de contraste, safranina al 0.1 %, y se dejó actuar el colorante durante 2 minutos.
5. Se lavó al chorro del agua hasta eliminar el exceso de colorante y se puso a secar sobre papel absorbente.

6. En este paso, se colocó el portaobjeto en la platina del microscopio para enfocar desde el objetivo 40 hasta el objetivo de 100x utilizando en este último aceite de inmersión para la observación de las esporas, las cuales tiñen de color verde y los bacilos de color rojo.

3.2.4.3. Pruebas Bioquímicas Api50 CHB/E. Para la identificación bioquímica se utilizaron el Kit API 50 CHB/E y el Software API WEB.

Selección de las colonias. A partir de los análisis microbiológicos, se seleccionaron los medios de cultivo en Papa Dextrosa Agar (PDA) y se realizaron pruebas morfológicas de tinción de Gram y tinción Shaeffer-Fulton (esporas) para seleccionar y aislar las UFC que presuntivas del género *Bacillus* y posteriormente cultivarlas nuevamente sobre el medio nutritivo PDA a la temperatura óptima de crecimiento de 26°C por 48-72 h.

3.2.4.4. Preparación del inóculo. Al haber aislado y cultivado las cepas presuntivas de *Bacillus* se preparó la suspensión para inocular, para lo cual se tomaron todas las UFC de bacterias del cultivo seleccionado con la ayuda de un asa bacteriológica, se suspendieron en un tubo con 2 mL de agua destilada estéril y se mezclaron en un agitador orbital Vortex.

A partir de la suspensión bacteriana de 2 mL, se preparó la suspensión para inocular, transfiriendo y anotando el número de gotas de la suspensión en un tubo con 5 mL de agua destilada y estéril hasta obtener una turbidez igual al patrón 2 de McFarland previamente mezclado en un agitador orbital Vortex.

Para la inoculación, se transfirió la suspensión bacteriana a un ampolla de API 50 CHB/E aplicando 2 veces el número de gotas anotado anteriormente (o sea 2n). La suspensión se homogenizó nuevamente en el agitador orbital Vortex.

3.2.4.5. Inoculación de las galerías. Una vez preparada la ampolla de API 50 CHB/E, se procedió a inocular las galerías API 50 CHB/E utilizando una micropipeta con la cual se tomaron aprox. 150 µL del inóculo por cada una de las 50 galerías.

3.2.4.6. Incubación de las galerías. Se procedió a programar la incubadora a  $29^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , en la cual se incubaron las galerías durante 24 horas ( $\pm 2$  horas) y 48 horas ( $\pm 6$  horas) para la posterior lectura de resultados.

3.2.4.7. Lectura de las galerías. Las lecturas se realizaron a las 24 y 48 h. Se verificó cada pozo de toda la galería buscando si hubo un cambio al color AMARILLO (+) del rojo de fenol (-) contenido en el medio, cuyo cambio se debe a la acidificación producida por las bacterias. Para el ensayo de esculina (tubo n° 25), se observa un cambio de color del rojo (-) al NEGRO (+).

NOTA: Si, durante la siguiente lectura (48 h), un ensayo inicialmente positivo se hizo negativo, sólo se tomó en cuenta el resultado positivo (se trata de una alcalinización debida a la producción de amoniaco a partir de la peptona). Los resultados positivos y negativos de cada tubo se anotaron en la hoja de resultados proporcionada por el de Kit API 50.

3.2.4.8. Interpretación. El perfil bioquímico obtenido se evaluó con el programa apiweb TM en el cual se integraron los datos de la hoja de resultados obtenidos de la lectura de las galerías API 50, cuya combinación de resultados (+ y -) se leen y analizan por el programa, dando como resultado la identificación bacteriana de la muestra analizada, expresando el porcentaje de exactitud del resultado.

### **3.2.5. Rendimiento y Calidad Poscosecha**

Las evaluaciones de rendimiento y tamaño de frutos; así como, el muestreo de frutos para la calidad poscosecha sólo se realizaron en el lote o réplica 2 ya que al inicio de la cosecha se perdió el Lote 1 debido a la presencia de la enfermedad causada por el virus rugoso café del tomate (ToBRFV) (Figura 4).

Para el rendimiento se realizaron 5 evaluaciones, una cada 15 días en los racimos (7-8), (9-10), (11-12), (13-14) y (15-16), respectivamente; esto entre los meses de marzo a mayo, es decir 5

meses después del trasplante y 3 meses después de la última aplicación de los tratamientos bioestimulantes. Se registraron los pesos de 5 cajas de frutos por tratamiento recolectados cuando mostraban al menos 10% de coloración roja, rosa o anaranjada en la superficie del fruto, utilizando una balanza marca Rhino de acero inoxidable con una capacidad máxima de 40 kg. Los frutos se clasificaron utilizando una plantilla de tamaño para registrar el número de frutos de cada tamaño basándose en los diámetros comerciales según la Norma mexicana para tomate (1998): S: chico (54-58 mm), M: mediano (57-64 mm), L: grande (63-71 mm), XL: extragrande (70-84 mm), MXL: máximo extragrande (83-90 mm) (Figura 5 y 6).

Para la calidad poscosecha se realizaron 3 muestreos a intervalos de 25-30 días, los cuales correspondieron a los racimos (7-8), (11-12) y (15-16). La recolección se llevó a cabo por la mañana coincidiendo con la cosecha comercial. Posterior a la evaluación del rendimiento, se seleccionaron alrededor de 100 frutos de tomate por cada tratamiento en estado de madurez 2 -3 (10 a 30% de coloración roja) con base en su uniformidad de color, ausencia de daños físicos y microbiológicos. Los frutos seleccionados para análisis poscosecha se trasladaron en jabas de plástico con cubierta de espuma de polietileno en su interior para evitar abrasiones y magulladuras en el traslado al laboratorio. Al llegar al Laboratorio de Calidad Poscosecha del Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD), unidad Culiacán, los frutos se lavaron y desinfectaron con agua clorada a 300 ppm de hipoclorito de sodio, posteriormente se secaron a temperatura ambiente y se tomaron 9 frutos de cada tratamiento para los análisis poscosecha del día inicial o (día 0) (Figura 5). Los frutos restantes se almacenaron a una temperatura de 20 °C y humedad relativa (HR) de 70 % para simular las condiciones de mercadeo y analizar nuevamente fruta a los 3, 6 y 9 días de almacenamiento. Los parámetros evaluados fueron: morfológicos: (peso, diámetro polar, diámetro ecuatorial, diámetro peduncular, número de lóculos y espesor del pericarpio), físicos: (firmeza de pulpa, colores externo e interno, pérdida de peso y materia seca), químicos: (pH, acidez titulable y °Brix).



Figura 4. Síntomas de la enfermedad Virus Rugoso Café del Tomate en fruto y planta.



Figura 5. Muestreo (A), Clasificación de tamaños (B), Lavado de frutos con agua clorada a 300 ppm (C) y cámara de almacenamiento poscosecha de los frutos.

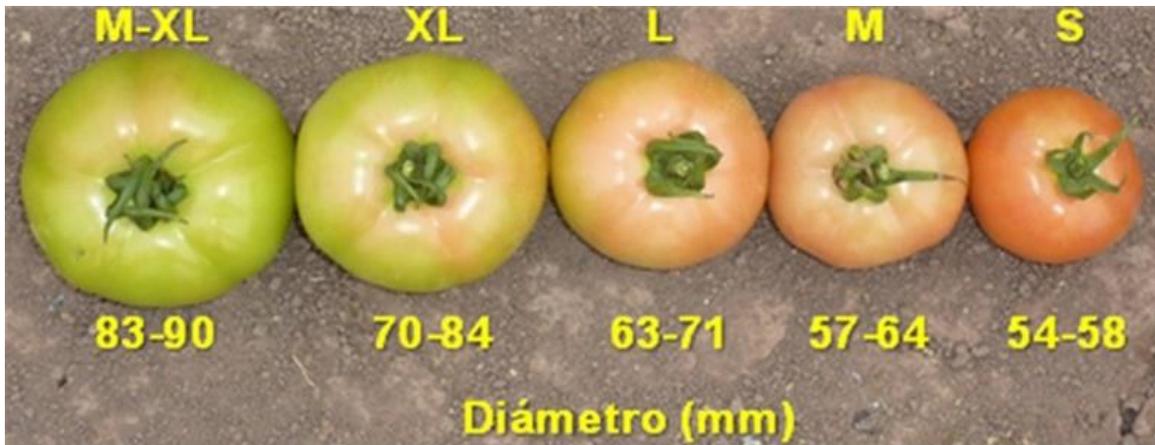


Figura 6. Escala y medidas de los tamaños de frutos de tomate tipo bola.

### 3.2.6. Parámetros Químicos

3.2.6.1. Acidez Titulable (AT) y pH. Las determinaciones de acidez titulable y pH en los frutos de tomate recolectados, se llevaron a cabo mediante metodologías oficiales AOAC, con base en el método 920.149 (A.O.A.C, 1998); los cuales consistieron en los siguientes pasos:

1. Pesar 10 g del fruto de cada muestra en una balanza digital.
2. Triturar y homogeneizar la muestra con 50 mL de agua destilada a pH neutro utilizando una licuadora comercial.
3. Filtrar el homogeneizado por medio de una tela de organza, tomar una alícuota de 50 mL y colocar en el carrusel del titulador automático (Mettler Toledo T50 equipado con un electrodo de cristal DGi 111-SC), para llevar a cabo la medición.
4. Expresar la acidez titulable como porcentaje de ácido cítrico. El pH es proporcionado automáticamente por el equipo.

3.2.6.2. Sólidos Solubles Totales SST (°Brix). Las concentraciones de SST fueron expresadas como °Brix y se determinaron colocando una gota del filtrado utilizado anteriormente, en un refractómetro con compensador de temperatura Mettler Toledo RM40, el cual fue calibrado con agua destilada hasta obtener un valor de cero. El resultado obtenido se ajustó según la dilución realizada (50 mL de agua y 10 g de muestra).

### 3.2.7. Parámetros Morfológicos de los Frutos de Tomate

Los parámetros morfológicos de los frutos se midieron con un vernier digital marca Bonachan con precisión de 0.1 mm, para lo cual se tomaron los datos de 9 frutos por muestra de cada tratamiento registrando el diámetro ecuatorial, polar y peduncular, número de lóculos y espesor del pericarpio. Para el espesor de pericarpio se realizó un corte transversal en la parte ecuatorial de cada fruto y se midió su grosor con el vernier.

### 3.2.8. Contenido de Materia Seca de los Frutos

De cada fruto utilizado para medir firmeza en cada uno de los tratamientos, se tomó una rodaja de la parte central de 4-5 mm de tratamiento (peso de la charola), donde se colocaron las rodajas de cada una de las muestras y nuevamente grosor del ápice hacia el pedúnculo. Previamente se pesaron charolas de aluminio debidamente etiquetadas de acuerdo al tratamiento (peso de la charola) donde se colocaron las rodajas de cada una de las muestras y nuevamente se pesaron (charola + peso fresco inicial). Después se colocaron las muestras dentro de una estufa de aire a 65°C durante 24 horas y se pesaron de nuevo (charola + peso seco final). Los resultados se obtienen de calcular el peso fresco de cada rodaja restando el peso de la charola del peso fresco inicial. También el peso seco de las rodajas se obtiene restando el peso de la charola del peso seco final. Por último, se calculó la materia Seca (%) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{materia seca (\%)} = \frac{\text{peso seco de las rodajas (g)}}{\text{peso fresco de las rodajas (g)}} \times 100$$

### 3.2.9. Parámetros Físicos de Calidad del Tomate

3.2.9.1. Color. Se determinó utilizando un espectrofotómetro Konika Minolta CM-700d. Las mediciones fueron realizadas en lados opuestos de la parte ecuatorial de cada fruto por fuera y por dentro y los resultados se reportaron como °Hue (color verdadero).

3.2.9.2. Firmeza. Fue determinada por punción y se reportó como la fuerza necesaria para romper la pulpa de los frutos. Se utilizó un penetrómetro digital Ametek Chatillon modelo CS225 Series, equipado con un punzón cilíndrico de 8 mm de diámetro. La medición fue realizada a lados opuestos del fruto en el eje ecuatorial, quitándole previamente la cutícula en el área de medición para evitar que las propiedades de la cutícula afectaran la firmeza del tejido. Los resultados fueron expresados en Newton (9.8 N = 1 kg fuerza). (San Martín-Hernández *et al.*, 2012).

3.2.9.3. Pérdida de Peso Acumulado (%). Para este parámetro, primero se registró el peso inicial (g) de nueve frutos por tratamiento en cada fecha de cosecha, tomándolo como el día 0 o inicial. Posteriormente, los mismos frutos fueron pesados a los 3,6 y 9 días de almacenamiento a 20°C. La pérdida de peso acumulada (%) fue calculada en relación con su peso inicial y el peso de los días posteriores mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Pérdida de peso acumulada (\%)} = \frac{\text{peso inicial (g)} - \text{peso en cada evaluación (g)}}{\text{peso inicial (g)}} \times 100$$

### 3.2.10. Análisis Estadístico.

Para las variables de respuesta de: rendimiento (kg.ha<sup>-1</sup>), número de frutos, porcentaje de pérdida de peso acumulado (%PPA) y materia seca (%), se utilizó un diseño experimental de un factor totalmente al azar (Bioestimulante) con 5 niveles (tratamientos) y 5 réplicas por tratamiento.

Para las variables de respuesta: pH, acidez titulable (% ácido cítrico), SST (°Brix), Firmeza (N) y color (°Hue), se utilizó un diseño experimental de dos factores totalmente al azar, Factor 1: (bioestimulantes), Factor 2: (días de análisis: 0, 3, 6, y 9) y 9 réplicas por tratamiento.

Para la variable de respuesta: número de frutos por tamaño, se utilizó un diseño experimental de dos factores totalmente al azar: Factor 1: (bioestimulantes), Factor 2: tamaños (M-XL, XL, L, M y S) y 5 repeticiones

Tratamiento bioestimulantes:

Producto 1 = (*Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens*).

Producto 2 = (*Bacillus subtilis*, *Bacillus magaterium*, *Bacillus liqueniformis*, *Azotobacter* y *Pseudomonas fluorescens*)

Producto 3 = Quitosano (Poli-D-Glucosamina)

Productos 1,2,3 (mezcla de los productos 1, 2 y 3)

Testigo (sin tratamiento bioestimulante)

La unidad experimental consistió en una cama de 60 m con 340 tallos de tomate ya establecidos en suelo agrícola, la unidad de medición fue un fruto de tomate.

Los datos se analizaron mediante el programa estadístico Minitab 18. Tukey ( $P < 0.05$ ).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Índice de Diversidad Biológica (IDB)

De acuerdo los resultados de la evaluación final comparados con la evaluación previa a los tratamientos en este estudio, se obtuvo un incremento general de 54.36 en el IDB cuyos niveles más altos (IDB de 11.1) (Cuadros 6 y 7), se obtuvieron con el tratamiento de la mezcla de los bioestimulantes: Tratamiento 1. (*Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* sepa D747) + Tratamiento 2. (*B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *P. fluorescens* y *Azotobacter* sp.) + Tratamiento 3. (Quitosano: Poli-D-glucosamina), así mismo estos resultados se correlacionaron con el rendimiento promedio más alto, 1,393.6 kg. ha<sup>-1</sup>, 22.84% más que el testigo, y como era de esperarse, en la variable de número de frutos obtuvo un promedio de 83.31 lo cual representa un 17.85 % más que el testigo. Por otro lado, no se obtuvieron resultados significativos en las demás variables de calidad pos-cosecha en correlación con el IDB.

Los grupos funcionales que se vieron incrementados en la evaluación final fueron las bacterias aeróbicas y anaeróbicas, principalmente con los tratamientos bioestimulantes T-3 (Producto 3), y T-4 (Productos 1,2,3), cuyo IDB fue de 11.1 y 11.35 respectivamente (Cuadro 7), dichos valores se ubican en un alto IDB de acuerdo a BBC Laboratories (2003) (Cuadro 5).

Para los demás grupos funcionales, *Pseudomonas fluorescens*, bacterias fijadoras de nitrógeno y hongos y levaduras, los IDB fueron cercanos a los índices proporcionados por BBC Laboratories (2003), tanto en las evaluaciones previas y posteriores a los tratamientos bioestimulantes (Cuadros 5, 6 y 7). Cabe destacar que, en el grupo funcional de bacterias fijadoras de nitrógeno, el T-4 obtuvo 31, 44, 13 y 45% más que los tratamientos T1, T2, T3 y T5 respectivamente.

Por lo que sobresalen los valores de los tratamientos 2 y 4, donde las aplicaciones consistieron en propágulos de microorganismos rizosféricos promotores del crecimiento (PGRP), por lo que sus funciones principales son las de reducir la actividad de los marcadores de estrés oxidativo y malondialdehído en plantas después de la suplementación con rizobacterias. Además de mayores actividades enzimáticas superóxido dismutasa, guayacol peroxidasa, catalasa, glutatión peroxidasa y ascorbato peroxidasa. Así mismo, se reporta que inducen un incremento en los niveles de

compuestos fenólicos (fenoles totales, flavonoides, antocianinas), osmoprotectores (osmolitos totales, carbohidratos, azúcares reductores, trehalosa, prolina, glicina betaína, aminoácidos libres) y ácidos orgánicos (ácido fumárico, succínico, cítrico, málico). Por lo que la aplicación e incremento del índice de diversidad biológica incrementa el metabolismo de las plantas (Khanna et al., 2019).

Cuadro 5. Clasificación de suelo por su diversidad biológica.

Clasificación	Índice de diversidad de especies
Alta diversidad	$\geq 12.5$
Diversidad moderada	7.0 – 12.5
Baja diversidad	$< 7.0$

Cuadro 6. Evaluación previa de la población de microorganismos fitobenéficos por gr de suelo.

Microorganismos	UFC.g <sup>-1</sup> de suelo				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
Bacterias aeróbicas	20,250,000	9,575,000	3,850,000	8,016,667	7,925,000
Bacterias anaeróbicas	9,625,000	5,100,000	1,900,000	1,800,000	3,200,000
Hongos y levaduras	3,200,000	583,333	1,333,333	183,333	2,883,333
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	4,750,000	4,625,000	548,333	366,667	775,000
Fijadoras de nitrógeno	4,375,000	3,175,000	1,500,000	3,116,667	3,400,000
<b>Índice de diversidad Biológica (IDB)</b>	<b>8.54</b>	<b>7.31</b>	<b>5.59</b>	<b>5.33</b>	<b>6.43</b>

Cuadro 7. Evaluación final de la población de microorganismos fitobenéficos por gr de suelo.

Microorganismos	UFC.g <sup>-1</sup> de suelo				
	T-1	T-2	T-3	T-4	T-5
Bacterias aeróbicas	256,233,333	319,766,667	237,900,000	271,800,000	140,800,000
Bacterias anaeróbicas	3,366,667	216,666,667	2,633,333	8,490,000	5,500,000
Hongos y levaduras	5,738,667	8,576,667	2,693,333	7,336,667	1,960,000
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	12,666,667	1,133,333	930,000	1,166,667	733,333
Fijadoras de nitrógeno	1,866,667	1,700,000	2,166,667	2,466,667	1,000,000
<b>Índice de diversidad Biológica (IDB)</b>	<b>9.80</b>	<b>11.10</b>	<b>9.47</b>	<b>11.35</b>	<b>9.60</b>

## 4.2. Producción

### 4.2.1. Rendimiento

Los resultados de rendimiento promedio (kg.ha<sup>-1</sup>) mostraron diferencia significativa entre los bioestimulantes aplicados (P=0.042), Cuadro 8. El rendimiento promedio de 5 cortes por cada uno de los tratamientos escalados a una población comercial de 24,000 tallos.ha<sup>-1</sup>, fue de: 1,163, 1,254, 1,187, 1,394 y 1,134 kg.ha<sup>-1</sup> para los tratamientos: Producto 1, Producto 2, Producto 3, Productos 1,2,3 y Testigo respectivamente, donde la mezcla (Productos 1,2,3) dio el rendimiento más alto con 1,393.6 kg.ha<sup>-1</sup> y 22.84% más que el testigo, seguido del Producto 2 con 10.58 %, Producto 3 con 4.6 y Producto 1 con 2.5% (Figura 7).

Cuadro 8. Análisis de varianza: Peso kg.ha<sup>-1</sup> Vs. Bioestimulante

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	652749	163187	2.62	0.042
Error	76	4741779	62392		
Total	80	5394528			

De acuerdo a los resultados obtenidos con el tratamiento (Productos 1,2,3), estos, son similares a lo reportado por Ruiz-Cisneros *et al.*, (2018) y Jiménez-Chi y Oseas-Ekuc (2017), quienes indican un rendimiento de tomate bola del 25 al 33 % más que el testigo aplicando bioestimulantes a base de *B. amyloliquefaciens* y *Bacillus subtilis*. Adicionalmente, rendimientos similares a los obtenidos en el tratamiento (Productos 1,2,3), fueron reportados por Espinosa *et al.*, (2017) quienes obtuvieron un 25.06 % más que en el tratamiento testigo con la aplicación *Bacillus spp.* y 21 % obtenido por Mena-Violante y Olalde-Portugal (2007) con la cepa de *B. subtilis* BEB-13bs, por lo que se refleja la interacción de los microorganismos rizosfericos promotores del crecimiento, los que estimulan el metabolismo de la planta y con ello un mayor incremento en la producción.

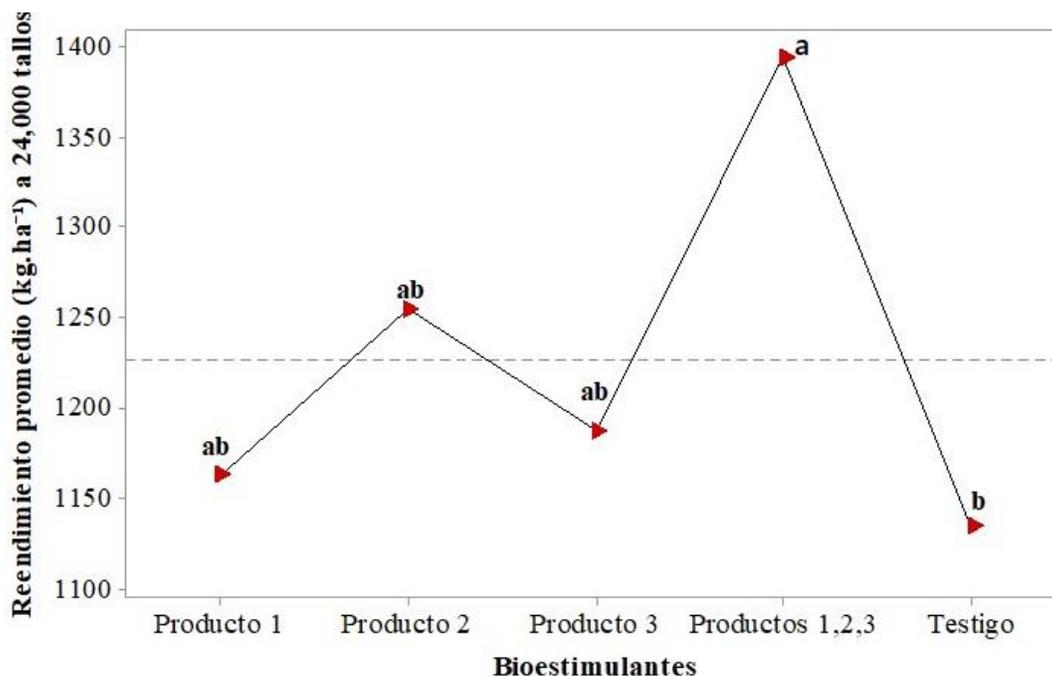


Figura 7. Rendimiento de tomate (kg.ha<sup>-1</sup>) en 5 cortes tratados con diferentes bioestimulantes. Tratamiento que no comparte letra es significativamente diferente (Tukey, P<0.05).

#### 4.2.2. Número de Frutos

En el número promedio de frutos por tratamiento o bioestimulante en 5 cortes, se encontró diferencia significativa entre los bioestimulantes (P=0.042) (Cuadro 9), donde el tratamiento

bioestimulante con la mezcla de los Productos 1,2,3 mostró la mayor cantidad de frutos con 83.31 lo cual representa un 17.85 % más que el testigo que registró un promedio de 70.69 frutos (Figura 8).

Cuadro 9. Análisis de varianza. Número de frutos Vs. Bioestimulante\*Tamaño

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	2059	514.9	2.61	0.042
Error	79	15602	197.5		
Total	83	17661			

Estos resultados son similares a los reportados por González-Rodríguez *et al.*, (2018) quienes reportan que tratamientos con *Bacillus* sp aumentaron el rendimiento de acuerdo al número de frutos en un 21 % respecto al testigo, así mismo, Balderas-Ruíz *et al.*, (2021) obtuvieron un aumento de 25.3 % en el número de frutos que el testigo con tratamientos a base de *Bacillus velezensis*. Dicho comportamiento en el rendimiento podría deberse al efecto estimulante de las RPCV, la cuales favorecen el rendimiento de los cultivos vegetales mediante diversos mecanismos como son la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento vegetal (fitohormonas), tales como el ácido indol-3-acético (AIA), ácido giberélico, etileno y ácido abscísico. En este sentido, Karakurt *et al.*, (2011) mencionan que las RPCV tienen potencial para aumentar el número de frutos por planta y la calidad de los mismos, debido a que estas bacterias son capaces de sintetizar fitohormonas como son citoquininas y AIA, además son fijadoras de nitrógeno y solubilizadoras de fosfatos, así como también inhiben el desarrollo de microorganismos fitopatógenos.

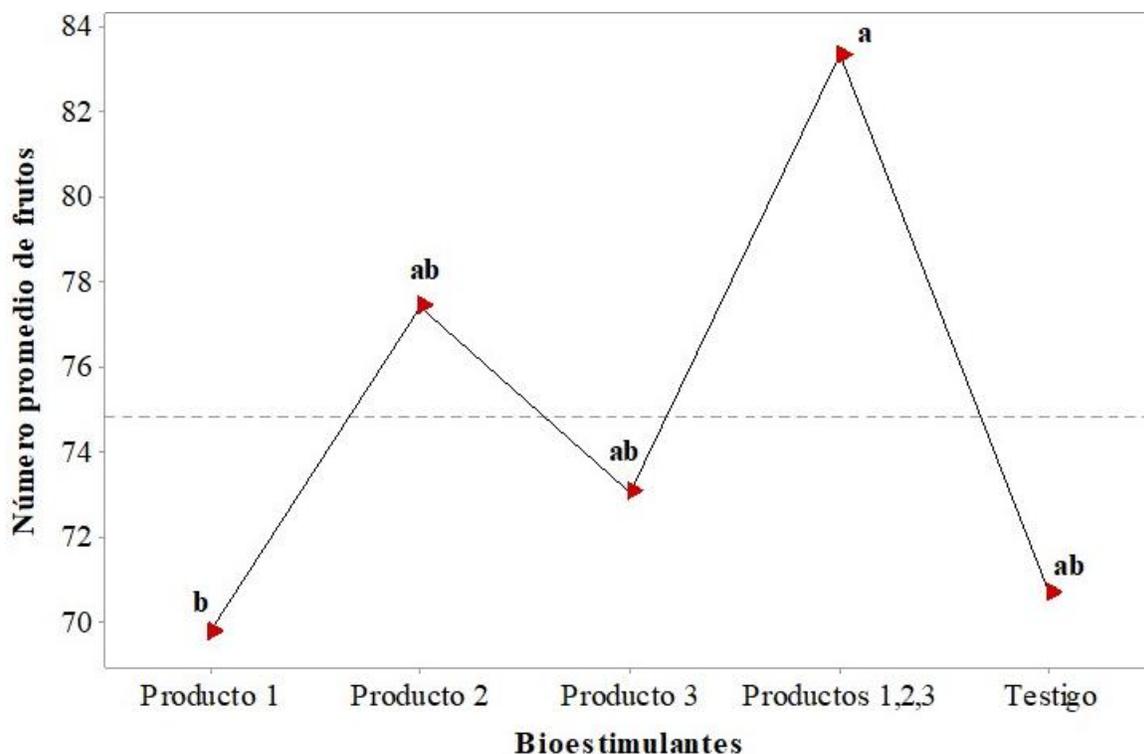


Figura 8. Efectos principales de bioestimulantes (Tukey,  $P < 0.05$ ) sobre el número de frutos cosechados.

#### 4.2.3. Número de Frutos por Tamaño

En relación al número promedio de frutos en 5 cortes por cada tratamiento y con base en los tamaños, cuya medición se hizo mediante el registro del diámetro del fruto según la Norma mexicana para tomate (1998): S: chico (54-58 mm), M: mediano (57-64 mm), L: grande (63-71 mm), XL: extragrande (70-84 mm), M-XL: máximo extragrande (83-90 mm). En cuanto a los tamaños, se encontró diferencia significativa ( $P=0.000$ ) pero no entre bioestimulantes ( $P=0.912$ ) ni en la interacción entre bioestimulante y tamaño ( $P=0.736$ ), (Cuadro 10).

Cuadro 10. Análisis de varianza para tratamientos bioestimulantes en tamaño de frutos

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	151.3	37.83	0.25	0.912
Tamaños	4	25333.8	6333.44	41.26	0.000
Bioestimulante*Tamaños	16	1853.3	115.83	0.75	0.736
Error	290	44516.7	153.51		
Total	314	73226.3			

Los tamaños más numerosos fueron XL con un promedio de 30.27 frutos (37.6 %), seguido del tamaño M-XL con 24.7 frutos (30.7%), tamaño L con 16.2 frutos (20.1%), mientras que los tamaños M y S registraron solamente 5.2 y 4.1 frutos respectivamente que corresponden a 6.5 y 5.1% (Figura 9). En relación al número de frutos en la interacción entre bioestimulante y tamaño, en el tamaño MXL, el Producto 2 fue el bioestimulante con mayor cantidad, (29.78 frutos MXL) siendo 36.16 % mayor al testigo, mientras que el tratamiento bioestimulante (Productos 1,2,3), obtuvo mayor cantidad de frutos en los tamaños XL y L, con 34.00 y 21.44 respectivamente, lo cual representa 20.35 y 42.36 % más que el tratamiento testigo (Figura 10). Estos resultados son similares a lo reportado por Mena-Violante y Olalde-Portugal (2007) quienes obtuvieron frutos 18% más grandes que el testigo mediante el uso de tratamientos a base de *B. subtilis* BEB13-bs. Esto indica la influencia positiva del uso de bioestimulantes a base de rizobacterias, ya que se obtuvo el mayor número frutos de tamaño MXL, XL y L cuyo valor comercial es mayor.

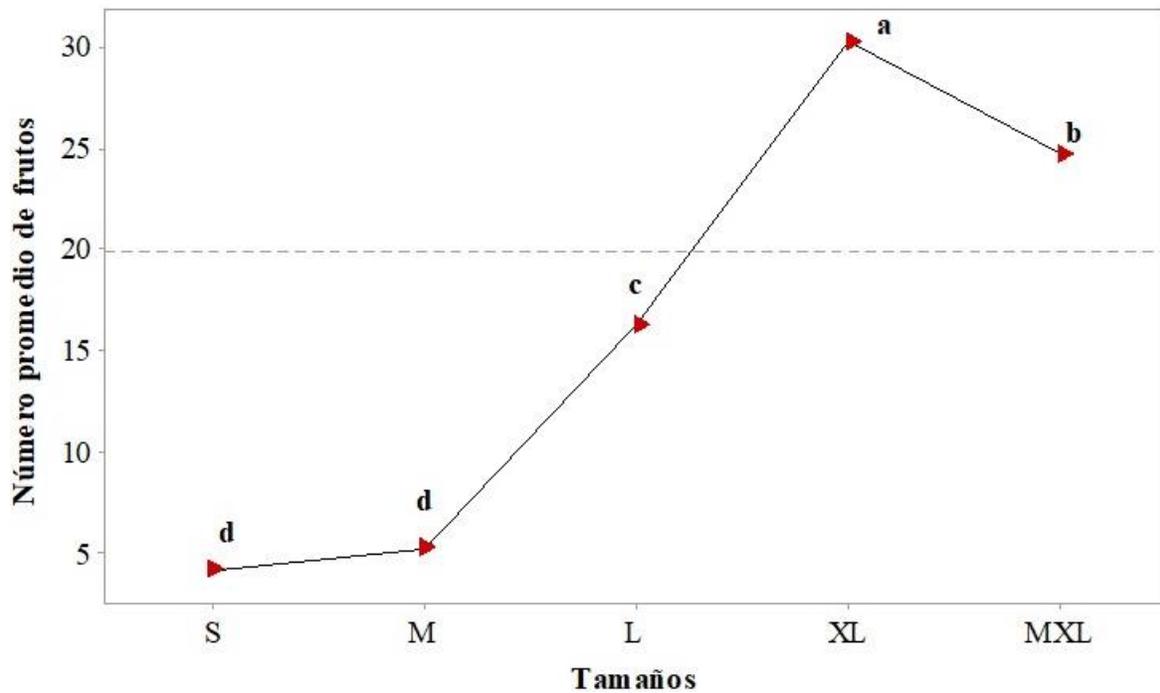


Figura 9. Efectos principales de tamaños (Tukey,  $P < 0.05$ ) sobre el número de frutos cosechados.

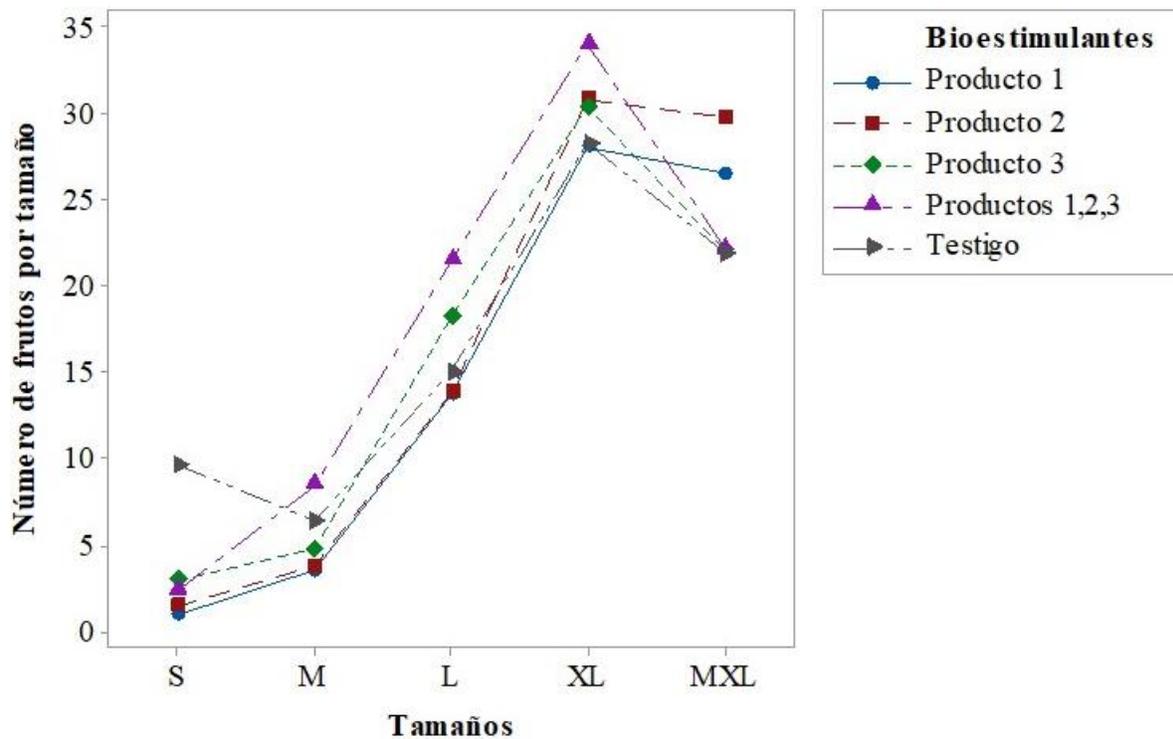


Figura 10. Interacción entre bioestimulantes y tamaños en el número de frutos cosechados. Las diferencias entre bioestimulantes se presentan por tamaño, Tukey ( $P < 0.05$ ).

### 4.3. Análisis Poscosecha

#### 4.3.1 Firmeza de la Pulpa

En la variable de firmeza (N), los resultados promedio obtenidos de 3 cortes para cada uno de los 5 tratamientos, se encontró diferencia significativa entre los días de análisis ( $P=0.000$ ) pero no entre bioestimulantes ( $P=0.248$ ) ni la interacción entre bioestimulante y días de análisis ( $P=0.654$ ) (Cuadro 11). Sin embargo, el bioestimulante Producto 3 a base de quitosano sobresalió con la mayor firmeza en los días 0 y 3, esto puede deberse a que los oligómeros de quitosano ingresan a la mayoría de las regiones de la célula y posteriormente inducen cambios en la membrana celular como la lignificación e inducción de tolerancia al estrés hídrico al reducir la pérdida de agua e incluir compuestos de cierre de tipo estomático aumentando así la reducción de la tasa de transpiración (Basit *et al.*, 2020).

Cuadro 11. Análisis de varianza: Firmeza Vs. Bioestimulante\*Día

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	82.8	20.7	1.36	0.248
Día	3	45450.5	15150.2	994.19	0.000
Bioestimulante*Día	12	145.7	12.1	0.80	0.654
Error	413	6293.6	15.2		
Total	432	52005.0			

En los días 6 y 9 sobresalió el efecto de la aplicación de los bioestimulantes: Producto 1 y mezcla de Productos 1,2,3 donde el producto 1 obtuvo la diferencia más alta en contraste con el testigo, con un 15.71% de mayor firmeza (Figura 9). Los resultados de firmeza del día 6 concuerdan con la firmeza objetiva proporcionada por Cantwell (2004), un tomate con una firmeza entre 12 y 15 N es considerado moderadamente blando, dichos resultados se esperaban debido a que los tomates se

encontraban en estado de madurez 6 o color rojo completo.

En cuanto a la firmeza al día 9 (Figura 9), se registraron mediciones menores de 10 N en todos los tratamientos bioestimulantes. Kader *et al.* (1978) establecieron que en esta etapa los frutos con valores inferiores a 10 N no son recomendables para comercialización debido a su poca calidad para soportar el manejo poscosecha ya que el fruto pierde firmeza debido a cambios físicos y químicos asociados con la degradación de la pared celular y la solubilización de las pectinas por las enzimas pectinesterasa (PE), poligalacturonasa (PG) y pectatoliasa (PL) (San Martín-Hernández *et al.*, 2012).

Por otro lado, el Producto 1 al día 6 obtuvo el valor más alto de firmeza con 12.77 N (Figura 9), estos datos fueron similares a los reportados por Espinosa *et al.*, (2017) quienes obtuvieron 12.54 N en frutos de tomate cv. Afrodita inoculados en el sustrato con la cepa *Bacillus* spp. desarrollado bajo condiciones de invernadero. Esta firmeza de 12.77 N obtenida con el producto 1 en el día 6, fue superior en casi un 20% a la firmeza reportada por Mena-Violante *et al.* (2009) en frutos de tomate cv. Río Fuego, inoculadas con la cepa *B. subtilis* BEB-13bs, en condiciones de invernadero. De acuerdo con Espinosa *et al.*, (2017), los frutos más firmes podrían ser más resistentes al ataque de microorganismos causantes del decaimiento, por lo tanto, las plantas inoculadas con RPCV no solo incrementaron la firmeza; sino que, además podrían disminuir la incidencia del deterioro del fruto, este comportamiento coincide con lo establecido por Mena-Violante *et al.* (2009) quienes reportaron que la firmeza es un atributo significativamente mayor en frutos de tomate proveniente de plantas inoculadas con RPCV.

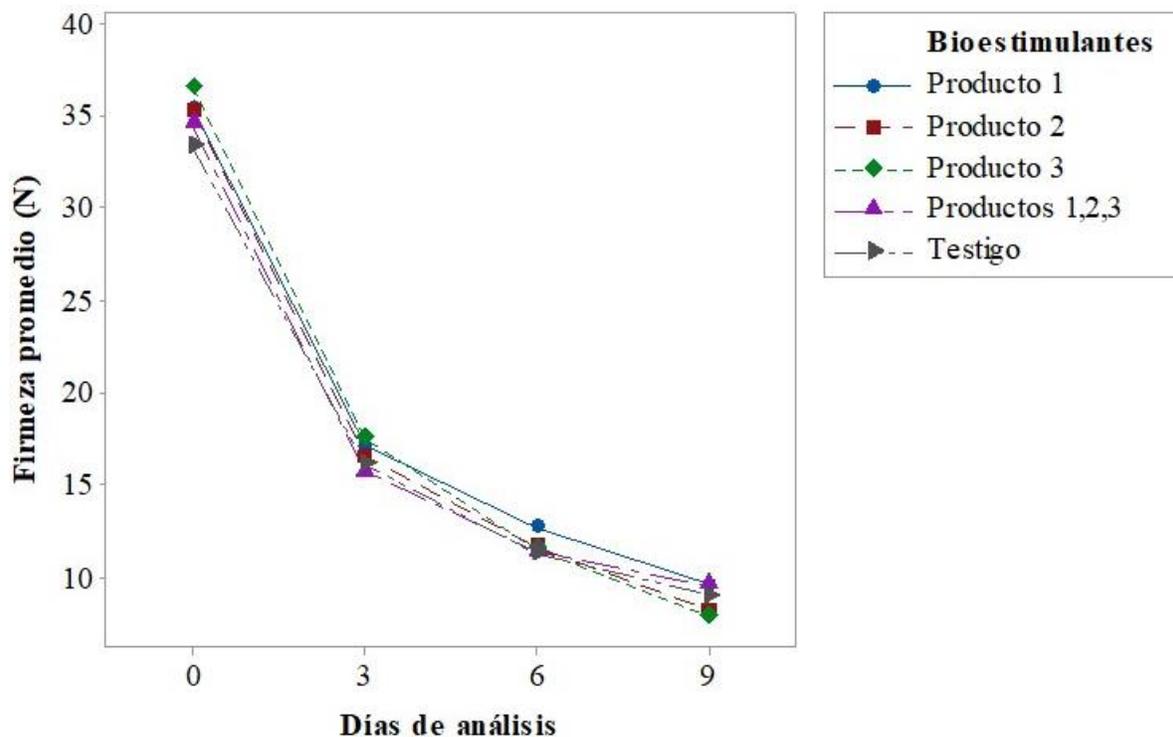


Figura 11. Interacción entre productos bioestimulantes y los días de análisis de los frutos en los valores de firmeza. Tukey ( $P < 0.05$ ).

#### 4.3.2. Color Externo e Interno

En la variable de color externo o de cáscara con promedios obtenidos de 3 cortes, se encontró diferencia significativa entre los tratamientos bioestimulantes ( $P=0.000$ ), y en los días de análisis ( $P=0.000$ ), pero no en la interacción entre bioestimulante y días de análisis ( $P=0.902$ ), (Cuadro 12).

Cuadro 12. Análisis de varianza: Color externo Vs. Bioestimulante\*Día

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	1679	419.9	7.09	0.000
Día	3	189210	63070.0	1065.23	0.000
Bioestimulante*Día	12	370	30.8	0.52	0.902
Error	434	25696	59.2		
Total	453	217014			

En la variable de color interno con promedios obtenidos de 3 cortes por cada tratamiento bioestimulante, se encontró diferencia significativa entre los días de análisis ( $P=0.000$ ), pero no entre tratamientos bioestimulantes ( $P=0.343$ ), ni en la interacción entre bioestimulante y días de análisis ( $P=0.242$ ) (Cuadro 13),

Cuadro 13. Análisis de varianza: Color interno Vs. Bioestimulante\*Día

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	244	61.0	1.13	0.343
Día	3	249183	83061.0	1536.72	0.000
Bioestimulante*Día	12	815	67.9	1.26	0.242
Error	414	22377	54.1		
Total	433	272735			

De acuerdo a la clasificación de color para tomates propuesta por Báez *et al.* (2001); Cantwell, (2004), la variedad Toretto utilizada en éste trabajo corresponde a frutos de tonalidades rojizo-naranja, ya que presenta valores arriba de 45 °Hue en todos los tratamientos del día 6 de medición (Figura 12). Cabe destacar que el bioestimulante Producto 3 se mantuvo sobre el valor de 45 °Hue con 47.45 hasta el día 9, lo cual indica que este tratamiento aumentó la vida de anaquel 3 días de acuerdo al cambio de color de la cáscara asociado con madurez, mientras que los demás tratamientos disminuyeron por debajo del valor de referencia citado, lo cual se correlaciona con frutos de madurez más avanzada o frutos más rojos que usualmente son menos firmes.

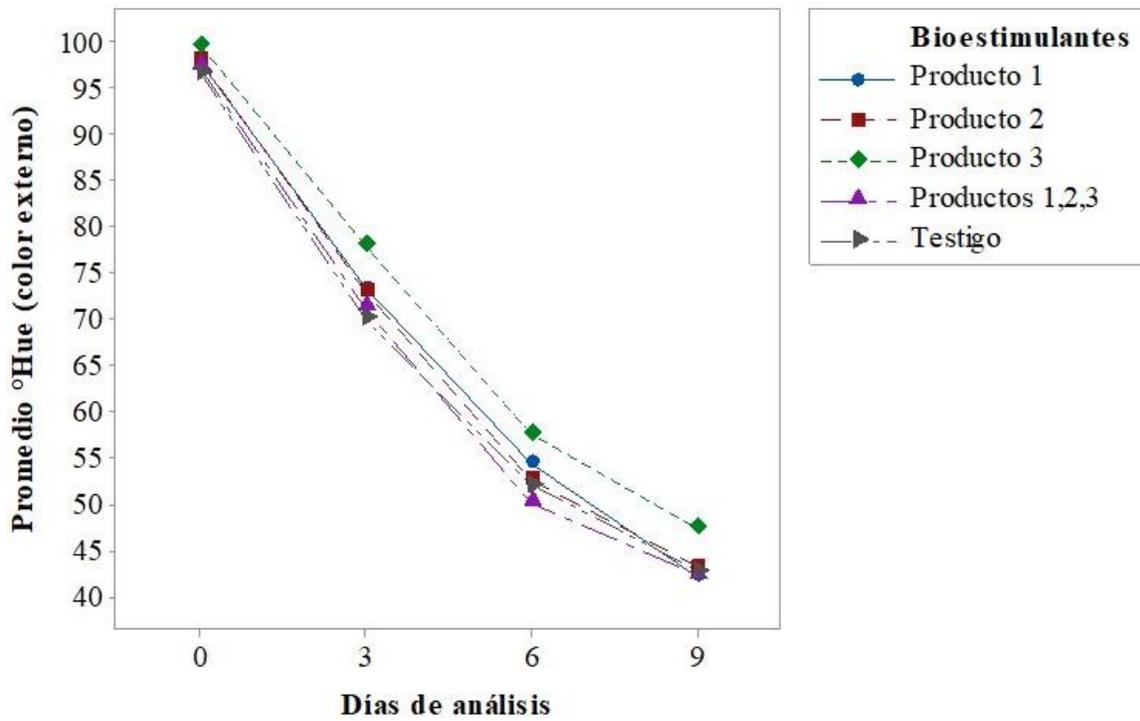


Figura 12. Interacción entre productos bioestimulantes y los días de análisis de los frutos en el color externo (°Hue). Tukey ( $P < 0.05$ ).

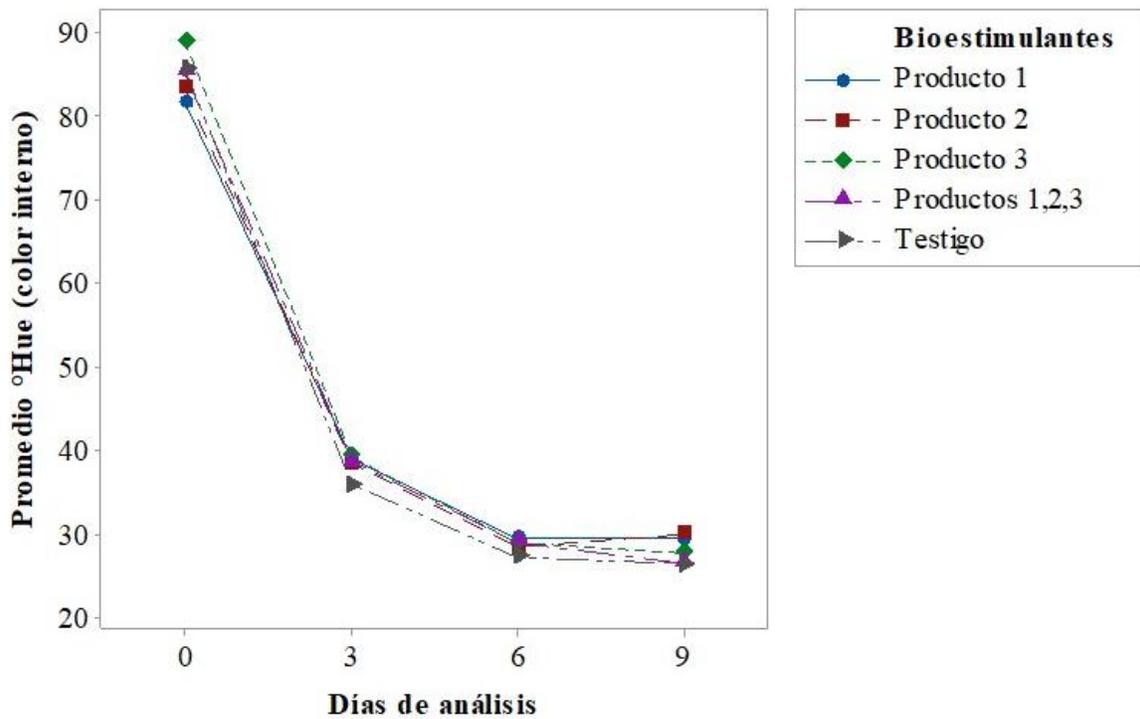


Figura 13. Interacción entre productos bioestimulantes y los días de análisis de los frutos en el color interno (°Hue). Tukey ( $P < 0.05$ ).

Del día 6 al día 9, los valores °Hue variaron entre los ángulos de color de 26 a 30 °Hue para todos los tratamientos evaluados, lo cual se correlaciona con un color rojo oscuro (Figura 13), estos valores concuerdan con los obtenidos por Carrillo-López y Yahia (2014), quienes reportan valores promedio en color interno de tomates de 31.3 °hue en un estado de madurez rojo.

Por lo tanto, en las variables de color externo e interno se exhibieron cambios significativos en las diferentes etapas de madurez de los días de análisis: 0, 3, 6, y 9. Sin embargo, el color interno en los días 6 y 9 se mantuvo alrededor de los 30°Hue. Esto puede ser debido al contenido de clorofila significativamente más alto en el exocarpio asumiendo que las células del exocarpio que están directamente expuestas a la luz solar deberían presentar mayor actividad fotosintética que las células del mesocarpio (Carrillo-López y Yahia, 2014).

### 4.3.3. Acidez Titulable

En la variable de acidez titulable con promedios obtenidos de 3 cortes para cada tratamiento bioestimulante en los días de análisis 0, 3, 6, y 9, se encontró diferencia significativa entre los días de análisis (P=0.000), pero no entre los tratamientos bioestimulantes (P=0.754), ni en la interacción entre bioestimulante y días de análisis (P=0.763) (Cuadro 14).

Cuadro 14. Análisis de varianza: AT Vs. Bioestimulante\*Día

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	0.00607	0.001518	0.48	0.754
Día	3	0.42905	0.143018	44.79	0.000
Bioestimulante*Día	12	0.02637	0.002197	0.69	0.763
Error	413	1.31863	0.003193		
Total	432	1.78342			

Los resultados obtenidos en los cuatro días de medición, muestran un descenso de AT que va de 0.345 a 0.228 % de ácido cítrico (Figura 14)., lo que indica una disminución de los ácidos orgánicos principalmente ácido cítrico durante la maduración, ya que son utilizados como fuente de reserva

alterna para llevar a cabo el proceso de respiración en la maduración, lo que significa disminución de la acidez y aumento de los sólidos solubles totales (SST) (Wills *et al.*, 1989).

Dichos valores caen dentro del rango establecido por Cantwell (2004) donde se menciona que la acidez del tomate está comprendida entre 0.2 y 0.6% de ácido cítrico, sin embargo, Villegas-Espinoza *et al.*, (2018) reportan que la acidez titulable en tomate difiere mucho dependiendo de factores como la variedad, condiciones de cultivo, temperatura o condiciones climáticas en general y para el caso de la variedad Toretto utilizada en este estudio, la acidez se mantuvo sin diferencia significativa entre los tratamientos bioestimulantes.

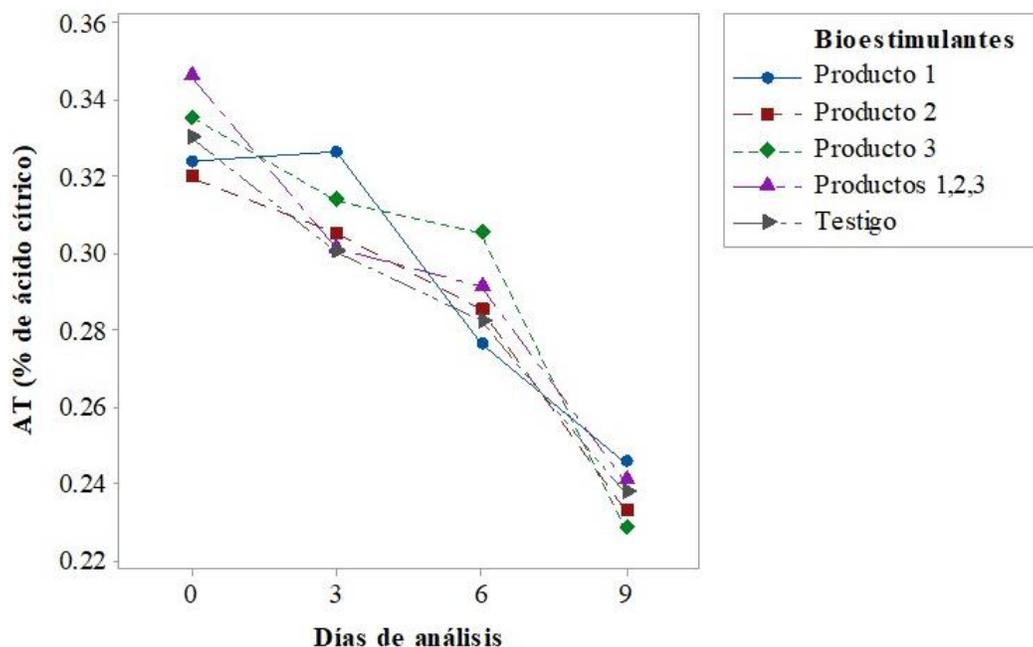


Figura 14. Interacción Acidez Vs. Día\*Bioestimulante Tukey ( $P < 0.05$ ). Porcentaje de ácido cítrico por bioestimulante

#### 4.3.4. Sólidos Solubles Totales SST (°Brix).

En la variable de SST del fruto del tomate con promedios obtenidos de 3 cortes, no hubo diferencia estadística significativa en la interacción entre los tratamientos bioestimulantes y los días de medición: 0, 3, 6 y 9 (Cuadro 15), cuya variación fue mínima, ya que dicho parámetro se mantuvo entre valores de 3.96 y 4.32 °Brix durante las evaluaciones poscosecha (Figura 15).

Cuadro 15. Análisis de varianza: SST (°Brix) Vs. Bioestimulante\*Día

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	1.385	0.3463	1.48	0.207
Día	3	1.391	0.4636	1.98	0.116
Bioestimulante*Día	12	1.862	0.1552	0.66	0.786
Error	413	96.527	0.2337		
Total	432	101.096			

Los SST(°Brix) de los frutos de tomate en todos los tratamientos, superaron ligeramente los 4 °Brix considerados por Santiago *et al.*, (1998) como valor apto para consumo en fresco, ya que toman como valor de referencia un valor mayor o igual a 4.0 °Brix, aunque, dependiendo de la variedad de tomate, este parámetro puede oscilar entre 3.5 y 7.0 °Brix (Cantwell, 2004). No hubo una respuesta significativa en el contenido de °Brix por parte de los tratamientos bioestimulantes.

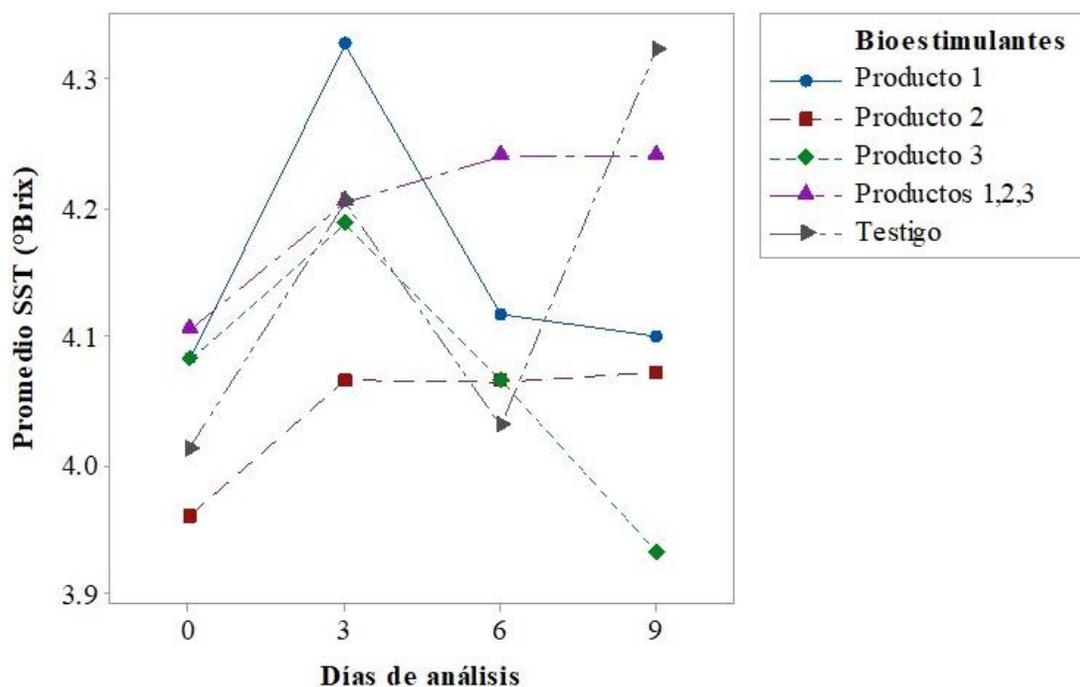


Figura 15. Interacción °Brix Vs. Día\*Bioestimulante Tukey (P<0.05).

#### 4.3.5. Índice de Madurez (°Brix/Acidez Titulable).

No se encontró diferencia significativa entre los tratamientos bioestimulantes ( $P=0.975$ ) ni en la interacción entre los tratamientos bioestimulantes y los días de evaluación ( $P=0.975$ ), (Cuadro 16).

Cuadro 16. Análisis de varianza °Brix/Acidez Vs. Bioestimulante\*Día

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	9.74	2.435	0.22	0.925
Día	3	1110.55	370.184	34.14	0.000
Bioestimulante*Día	12	47.34	3.945	0.36	0.975
Error	413	4478.57	10.844		
Total	432	5647.66			

De acuerdo a los resultados, se observó un incremento constante en el índice de madurez en la medida en que los frutos fueron aumentando constantemente en los grados de maduración desde el día 0 al día 9.

Cabe destacar que para el día 9 los frutos evaluados de todos los tratamientos se encontraban en un índice de madurez entre 16.9 y 18.2 (Figura 16)., de acuerdo a la AVRDC, (1994), los valores que caen el intervalo de 12 a 18 indican un índice de madurez apropiado en muchas variedades de tomate, lo que concuerda con Kader (2008), cuyos valores óptimos de la relación SST/AT están entre 10 y 20 como rangos de calidad y aceptabilidad del producto, sin embargo, actualmente, el sabor del tomate es estimado tanto a partir de estudios sensoriales como mediante mediciones de SST, pH, AT y la relación SST/AT (Alarcón-Zayas A., 2013).

De acuerdo con Casierra-Posada y Aguilar- Avendaño (2008), el comportamiento del índice de madurez es la resultante de la reducción de la acidez titulable (AT) y el aumento en los sólidos solubles totales (SST) en proporción directa con los grados de maduración más tardíos o avanzados del tomate (más rojos), lo que conlleva a un aumento en el grado de aceptabilidad por el consumidor, ya que algunos investigadores han sugerido que la relación SST/AT es importante para definir las diferencias en el sabor entre cultivares de tomate. Otros indican que el sabor de los frutos puede ser mejorado incrementando el contenido total de azúcares y ácidos (Baldwin *et al.*, 2008).

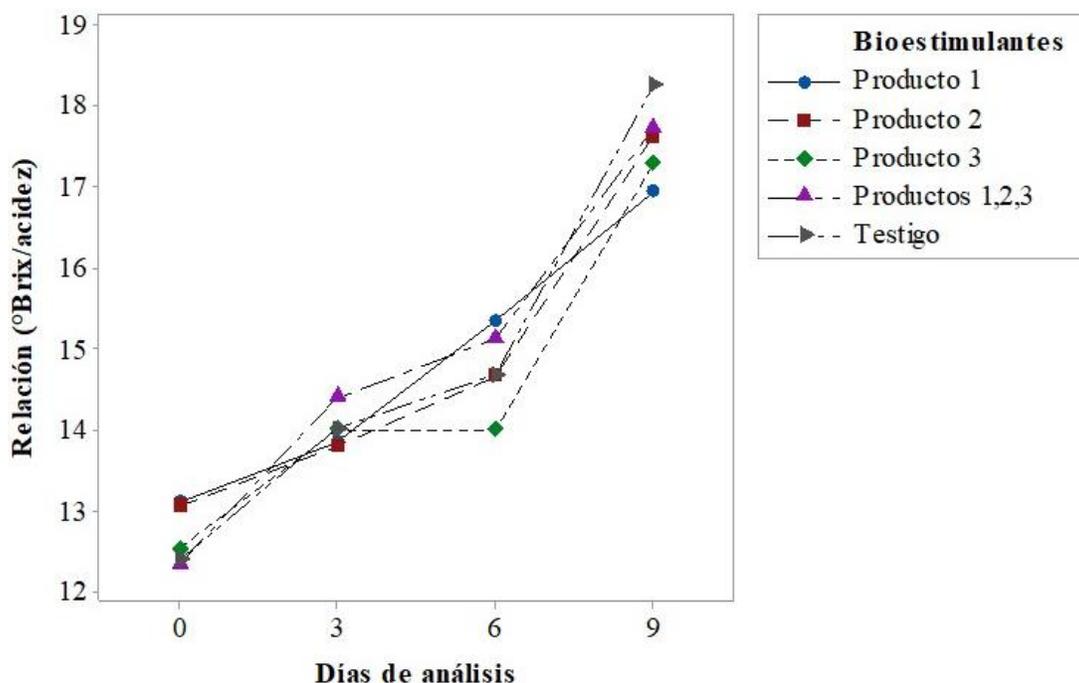


Figura 16. Interacción °Brix/Acidez Vs. Día\*Bioestimulante Tukey (P<0.05)

#### 4.3.6. Pérdida de Peso Acumulado (%PPA)

En porcentaje de pérdida de peso acumulado (%PPA), no se encontró diferencia significativa (P=0.324) entre los bioestimulantes evaluados con los promedios de tres cortes para cada tratamiento (Cuadro 17).

Cuadro 17. Análisis de varianza: Porcentaje de pérdida de peso Vs. Bioestimulante

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	4.095	1.0239	1.18	0.324
Error	120	104.316	0.8693		
Total	124	108.412			

El bioestimulante Producto 3 fue el tratamiento que registró menos porcentaje de pérdida de peso con 2.16% en promedio durante el período de evaluación de 9 días a 20°C. Esto es una reducción

del 17.8 % en comparación con los frutos testigo que perdieron el 2.63 % en el mismo período. Cabe resaltar que después del Testigo, el Producto 1 fue el bioestimulante que registró un porcentaje de pérdida de peso similar con 2.62% (Figura 14).

Sin embargo, cabe destacar que los resultados de %PPA se mantuvieron dentro del margen aceptable nivel comercial ya que de acuerdo con Wills *et al.*, (2007), se considera que las frutas y hortalizas que pierden 5 % de su peso durante el almacenamiento son de mala calidad debido a su apariencia marchita.

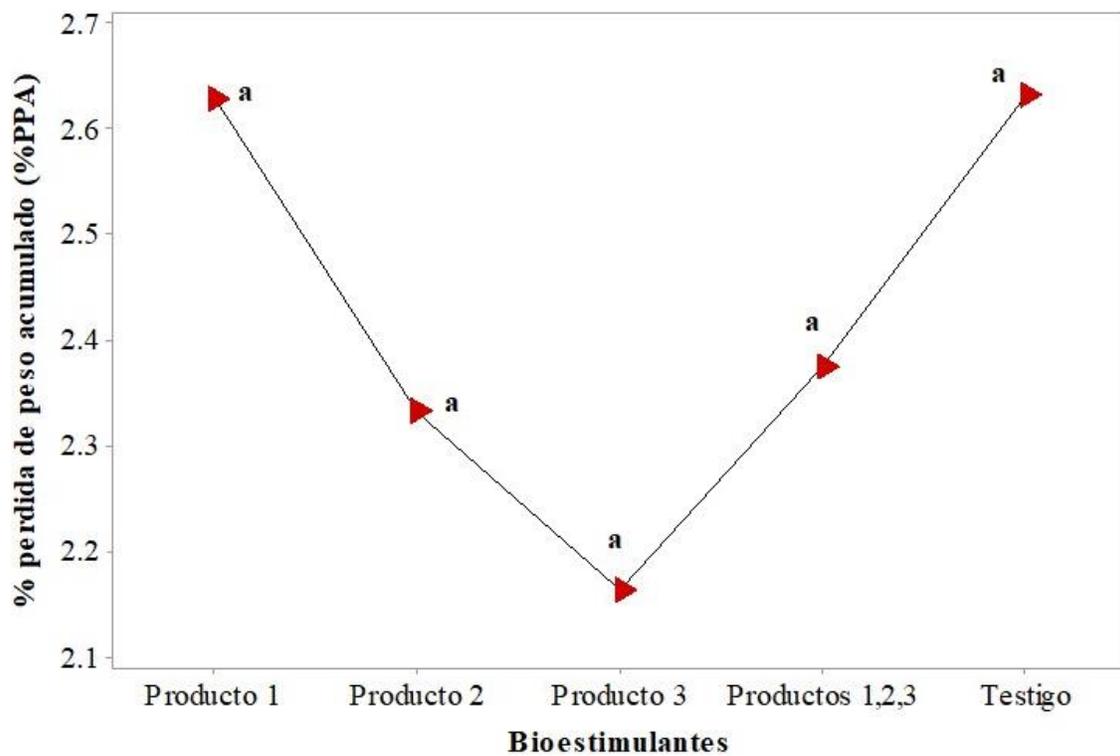


Figura 17 Efectos principales del (%PPA) Tukey ( $P < 0,05$ ). sobre el los diferentes bioestimulantes. Promedios con letras iguales no presentan diferencias significativas.

#### 4.3.7. Porcentaje de Materia Seca

El porcentaje de materia seca del fruto del tomate no fue significativo ( $P = 0.513$ ) entre los tratamientos considerando un promedio de tres cortes por cada tratamiento (Cuadro 18).

Cuadro 18. Análisis de varianza: Porcentaje de materia seca Vs. Bioestimulante

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Bioestimulante	4	0.4669	0.1167	0.82	0.513
Error	115	16.3147	0.1419		
Total	119	16.7817			

Los resultados de este parámetro variaron entre 5.30 a 5.47 % de materia seca, siendo los resultados del tratamiento biostimulante (Producto 3) el que mostró ligeramente más contenido de materia seca en comparación con los demás bioestimulantes cuyos valores fueron muy cercanos a los del testigo con 5.47 % (Figura 18), por lo tanto, en el presente estudio, los valores porcentuales de materia seca no mostraron incremento, lo cual explica por qué la variable en el contenido de SST (°Brix) también se mantuvo sin variación significativa entre los diferentes bioestimulantes, ya que están directamente relacionados. De acuerdo a Poysa V. (1992); Hernández *et al.*, (2012), alrededor del 80% de SST consiste principalmente en azúcares reductores como fructosa y glucosa y trazas de sacarosa que constituyen 53 a 65 % de los sólidos solubles, ácidos, cítrico (9 %) y málico (4 %) principalmente, la vitamina C (ácido ascórbico), aminoácidos (2-2.5 %), carotenoides, compuestos volátiles responsables del aroma, sales minerales (8 %) y sustancias pécticas de la pared celular, por lo que los frutos reciben alrededor del 70% de la materia seca total disponible para el crecimiento.

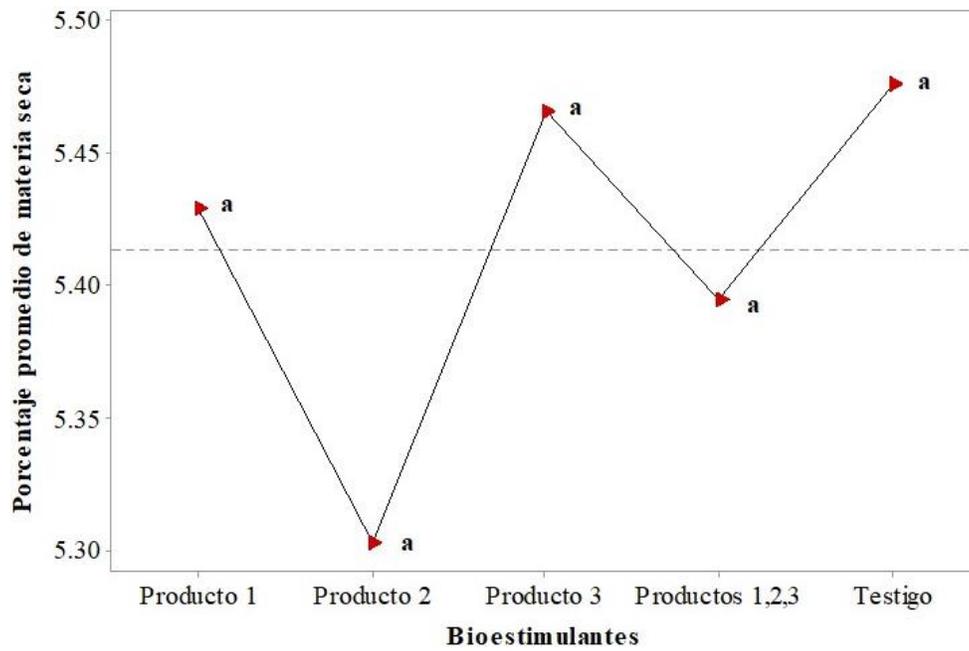


Figura 18. Efectos principales del % de materia seca de frutos de tomate cultivados con diferentes bioestimulantes. El sustrato que no comparte letra con el control es significativamente diferente, Tukey (P<0.05).

## 5. CONCLUSIONES

El índice de diversidad biológica (IDB) se incremento alrededor de 54.36% desde la evaluación previa a la aplicación de los bioestimulantes. El bioestimulante con el índice de Diversidad Biológica (IDB) más alto fue el tratamiento de la mezcla de los bioestimulante Productos 1,2,3 con 11.1, ubicándose así en un IDB de moderado a alto.

En el rendimiento, número de frutos y número de frutos por tamaño, el tratamiento de mezcla de Productos 1,2,3 destacó con diferencia estadística significativa entre los bioestimulantes, siendo mayor en el rendimiento con 1,393.6 kg.ha<sup>-1</sup>, 22.84% mayor al testigo, en el número de frutos registró un promedio de 83.31, 17.85 % más que el testigo. Así mismo en la variable del número de frutos por tamaño, obtuvo 30.27 frutos, 40.4 % para el tamaño XL y 21.4 con 20.7 % para el tamaño L en relación con el testigo.

En la calidad poscosecha, respecto a la calidad física (colores externo e interno y firmeza), no hubo diferencia significativa entre los bioestimulantes, de la misma manera para las variables de pérdida de peso acumulado y porcentaje de materia seca.

En la calidad química del fruto de tomate SST, AT e Índice de Madurez (°Brix/AT), no hubo diferencia significativa entre bioestimulantes, sin embargo, en el contenido de SST (°Brix) del fruto del tomate, todos los tratamientos bioestimulantes registraron valores mayores o iguales a 4 °Brix, valor considerado como apto para consumo en fresco. En la AT todos los tratamientos bioestimulantes caen dentro del rango acidez para el tomate, comprendido entre 0.2 y 0.6% de ácido cítrico. Para el índice de madurez todos los tratamientos bioestimulantes caen dentro de los valores óptimos de relación °Brix/AT, que están entre 10 y 20 como rangos de calidad del fruto de tomate.

El uso de bioestimulantes a base de RPCV como *Bacillus* sp. representa una buena alternativa para aumentar el IDB y elevar los rendimientos de tomate tipo bola cultivado bajo condiciones de malasombra en el valle de Culiacán.

## 6. REFERENCIAS

- Ahemad, M. & Kibret, M. (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26(1), 1-20. doi: 10.1016/j.jksus.2013.05.001.
- Ahemad, M., and M. S. Khan. 2012. Effect of fungicides on plant growth promoting activities of phosphate solubilizing *Pseudomonas putida* isolated from mustard (*Brassica campestris*) rhizosphere. *Chemosphere* 86: 945-950.
- Ahmed B., Zaidi A., Saghir-Khan M., Rizvi A., Saif S., and Shahid M. 2017. Perspectives of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in Growth Enhancement and Sustainable Production of Tomato. *Microbial Strategies for Vegetable Production*. p. 125-149.
- Alarcón-Zayas A. 2013. Calidad poscosecha del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cultivado en sistemas ecológicos de fertilización. Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Madrid, España.
- AMHPAC. 2008. Agricultura Protegida en México. Asociación Mexicana de Horticultura Protegida AC.
- Armado-Matutea, J., Pérez-Guerrero J.A., Durán D., Reyes D., Medina M.E. y Valbuena-Vílchez O.E. 2017. Efectos sobre parámetros bioquímicos y biológicos bacterianos en suelos que contienen concentraciones permisibles de metales Rev. Int. Contam. Ambie. 34 (3) 441-451.
- Asselin A.; Bélanger, R. 1994. Effect of chitosan on cucumber plants: Suppression of *Pythium aphanidermatum* and induction of defense reactions. *Phytopathology* 84: 313-320.
- AVRDC. Asian Vegetable Research and Development Center. 1994. AVRDC 1993 Progress Report. Shanhua, Tainan, Taiwan (ROC)
- Ayala-Sánchez, L.C., Valenzuela-Real, C. P.; Bohórquez-Pérez Y. 2013. VARIABLES DETERMINANTES DE LA MADUREZ COMERCIAL EN LA MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus* BENTH). *Scientia Agroalimentaria*. Vol. 1. (39-44).
- Badawy M. & Rabea E. A. 2011. Biopolymer chitosan and its derivatives as promising antimicrobial agents against plant pathogens and their applications in crop protection. *International Journal of Carbohydrate Chemistry*, p. 1-29
- Báez, M., Siller, J., Muy, D., Araiza, E., Contreras, L. y Sañudo, A. 2001. SmartFresh™: Una novedosa tecnología para extender la vida de anaquel en tomate. *Tecnología de Alimentos*. 36(3): 7-11.
- Baldwin, E.A., Goodner, K., Plotto, A. 2008. Interaction of volatiles, sugars, and acids on perception of tomato aroma and flavor descriptors. *Journal of Food Science*, 73:S294–307.
- Basit A., Hassnain, Mehboob Alam, Izhar Ullah, Syed Tanveer Shah, Syed Ali Zuhair and Inayat Ullah. 2020. Quality indices of tomato plant as affected by water stress conditions and chitosan application. *Pure and Applied Biology*. Vol. 9, Issue 2, pp1364-1375.
- BBC Laboratories. 2003. Compost tea, microbiological interpretive guide. Recuperadode [www.bbclabs.com](http://www.bbclabs.com)

- Beltrán Quesney S. A. 2016. Composta combinada con fibra de coco en el rendimiento y la calidad poscosecha de tomate bola en invernadero. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C.) Unidad Culiacán.
- Benjumeda-Muñoz D., 2017. Bacterias Promotoras Del Crecimiento Vegetal: Mecanismos y Aplicaciones (Revisión Bibliográfica). Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla Departamento de Microbiología y Parasitología.
- Berbesí, M., Díaz, R., Guevara, L. y Tapia, M. 2006. Calidad higiénica y patógenos asociados con melones mínimamente procesados expendidos en supermercados. En: González-Aguilar y Fabiola-Cuamea (eds.). I Simposio Ibero-Americano De Vegetales Frescos Cortados. CIAD, México. 47-54 p.
- Bin L.; Xiao W.; Ruoxia Ch.; Weiguo H.; Guanlin X. 2007. Antibacterial activity of chitosan solution against *Xanthomonas* pathogenic bacteria isolated from *Euphorbia pulcherrima*. Carbohydrate Polymers 72: 287-292.
- Calvo-García S. 2011. Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. Universidad de Salamanca CT 3. 173- 186
- Camelo R., Mauricio, & Vera M., Sulma Paola, & Bonilla B., Ruth Rebeca (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Ciencia y Tecnología Agropecuaria, 12(2),159-166.
- Cantwell, M. 2004. Optimum procedures for ripening tomatoes. Management of fruit ripening. Postharvest Series (9). University of California. 85-91 p.
- Casierra-Posada F. y Cardozo M.C. 2009. ANALISIS BÁSICO DEL CRECIMIENTO EN FRUTOS DE TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill, cv. 'Quindío') CULTIVADOS A CAMPO ABIERTO. Rev.Fac. Nal.Agr. Medellín 62(1): 4815-4822.
- Casierra-Posada F. y. Aguilar-Avenidaño Ó. E. 2008. Quality of tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L.) harvested at different maturity stages. Agronomía Colombiana 26(2), 300-307
- Chang M.; Horovitz D.; Culley Hadwiger L. 1995. Molecular cloning and characterization of a pea chitinase gene expressed in response to wounding, fungal infection and the elicitor chitosan. Plant Molecular Biology 28: 105-111.EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; GRENIER, J.; BENHAMOU, N.;
- Cheah, L.H., Page, B.B.C., Sheperd, R. 1997. Chitosan coating for inhibition of sclerotina carrots. N. Z. J. Crop Hort. Sci. 25, 89-92.
- Chien P. & Chou CH. 2006. Antifungal activity of chitosan and its application to control post-harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan* Hayata). Journal of the Science of Food and Agriculture 86: 1964-1969
- Chirkov, S. 2002. The antiviral activity of chitosan (Review). Applied Biochemical Microbiology 38: 1-8.
- Chirkov, S.; Ilina, A.; Surgucheva, N.; Letunova, E.; Varitsev, Y.; TATARINOVA, N.; VARLAMOV, V. 2001.Effect of chitosan on systemic viral infection and some defense responses in potato plants. Russian Journal of Plant Physiology 48: 774-779.
- Ciruelos Calvo A., Torre Carreras R., González Ramos C. 2008. Parámetros de calidad en el tomate para industria. <https://www.unex.es/conoce-la>

uex/centros/eia/archivos/iag/2007/2007\_09%20Parametros%20de%20calidad%20en%20el%20tomate%20para%20industria.pdf.

- Corrales-Ramírez L.C., Lozano L.C., Gómez-Méndez, Ramos Rojas S.J., Rodríguez-Torres J.N. 2016. *Bacillus spp*: An alternative for plant promotion by two enzymatic pathways. 15 (27): 45-65.
- Dávila-Aviña Jorge E. de J, González-Aguilar Gustavo A, Ayala-Zavala Jesús F., Sepúlveda y Guadalupe David R. Olivas. 2011. Compuestos volátiles responsables del sabor del tomate. Rev. Fitotec. Mex., 34 (2), 133-143.
- De la Rosa-Rodríguez R., Lara-Herrera A., Lozano-Gutiérrez J., Padilla-Bernal L. E., AvelarMejía J. J. y Castañeda-Miranda R. 2016. Yield and quality of tomato in open and closed hydroponic systems. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas Pub. Esp. Núm. 17. p. 3439-3452.
- Debois D, Jourdan E, Smargiasso N, Thonart P, De pauw E, Ongena M. 2014. Spatio temporal monitoring of the antibiome secreted by *Bacillus* biofilms on plant roots using MALDI Mass spectrometry imaging. Anal Chem. 86(9):4431- 4438. Doi: <https://doi.org/10.1021/ac500290s>
- Domínguez Pérez I. Rueda Castillo I. J., Pérez Vicente A., Vila Mompó I., Fayos Moltó A., Blanco Díaz M. T. y Font Villa R. 2012. Parámetros de Calidad en Tomate Fresco. . file:///C:/Users/cesar/Downloads/Calidad%20Final%20(3).pdf
- Durán-Acevedo C. M., Calderón-Guerrero O. E., Hernández-Ordoñez M. 2014. Nariz electrónica para determinar el índice de madurez del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* Sendt).
- El Nagar, M. & Mekawi, E. (2015). Evaluation of Some Biochemical Properties in Different Tomato Genotypes Obtained from Tissue Culture Technique. *Global J Research Analysis*, 4(9), 189-193.
- Escobar C., Horna Y., Carreño C., Mendoza G. 2011. Characterization of native strains of *Azotobacter spp.* and its effect on growth of *Lycopersicon esculentum* Mill. “tomato” in Lambayeque. *Scientia Agropecuaria* 2(2011) 39 - 49
- Espinosa-Palomeque, B., A. Moreno Reséndez, P. Cano Ríos, V. P. Álvarez Reyna, J. Sáenz Mata, H. Sánchez Galván y G. González Rodríguez. 2017. Inoculación de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. afroditá en invernadero. *Terra Latinoamericana* 35: 169-178.
- Esquivel-Cote1 R, Gavilanes-Ruiz M., Rocío Cruz-Ortega R. y Pilar Huante P. 2013. AGROBIOTECHNOLOGICAL IMPORTANCE OF THE ACC DEAMINASE IN RHIZOBACTERIA, A REVIEW. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 36 (3): 251 – 258.
- FAO. 2018. FAOSTAT. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAOSTAT <http://www.fao.org> (Consulta: 16 de mayo de 2020).
- FAOSTAT. (2015). *Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics division.* Recuperado de <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>
- García-Mendoza S.G., 2017. Efecto de las mallas sombra de diferentes colores y una cubierta plastica sobre el rendimiento y calidad del cultivo de tomate., centro de investigación en química aplicada, Saltillo, Coahuila.
- García-Vera A.G. 2014. Mecanismos de defensa inducidos por la combinación de *Trichoderma*

*harzianum* y quitosano en nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*) contra *Phytophthora drechsleri*. Centro de investigación y asistencia en tecnología y diseño del estado de Jalisco, A.C. Guadalajara, Jalisco.

- Genta H., Bernal R., Guarinoni C. F. 1992. Fisiología y manejo de postcosecha en tomate de primor. Unidad de Difusión e Información Tecnológica del INIA. Serie Técnica N° 28. Andes 1365, Piso 12. Montevideo-Uruguay. 32 pp.
- González-Peña D, Costales D. y Falcón A. B. 2014. Influence of a chitosan polymer in the growth and the induction of defensive enzymes in tomato (*Solanum lycopersicum* L.). *Cultivos Tropicales*, vol. 35, no. 1, p. 35-42.
- Goswami D, Dhandhukia P, Patel P, Thakker J N. 2014. Screening of PGPR from saline desert of Kutch: Growth promotion in *Arachis hypogea* by *Bacillus licheniformis* A2. *Microbiol. Res.* 169: 66–75.
- Goswami D., Thakker J. N. and Dhandhukia P. C. 2016. Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food & Agriculture*, 2: 1127500
- Gül A., Kıdog˘lu F., Tüzel, Y. and Tüzel I. H. 2008. Effects of nutrition and *Bacillus amyloliquefaciens* on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) growing in perlite. *Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)*. 6(3), 422-429.
- Gutierrez-Mañero F J, Ramos-Solano B, Probanza A, Mehouchi J, Tadeo F R, Talon M. 2001. The plant-growth promoting rhizobacteria *Bacillus pumilus* and *Bacillus licheniformis* produce high amounts of physiologically active gibberellins. *Physiol Plant.* 111:206–211.
- Hinsinger P, Gobran G R, Gregory P J, Wenzel W W. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. *New Phytol.* (2005) 168: 293-303
- INEGI. 2017. Agricultura protegida, Encuesta Nacional Agropecuaria. [https://www.inegi.org.mx/contenidos/programas/ena/2017/doc/inf\\_AgrPro17.pdf](https://www.inegi.org.mx/contenidos/programas/ena/2017/doc/inf_AgrPro17.pdf). <http://www.beta.inegi.org.mx/proyectos/encagro/ena/2017/>
- Jiménez-Chi, J. A. & Oseas-Ek uc, A. 2017. Producción orgánica de tomate saladet (*Solanum Lycopersicum*) mediante la inoculación de bacterias. *Revista de Energía Química y Física.* 4-10: 19-25.
- Kader, A. 1993. *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. Segunda edición. Richmond. 535 pp.
- Kader, A. A. 2008. Perspective. Flavor quality of fruits and vegetables. *Journal Sci. Food Agric.*, 88:1863-1868.
- Kader, A. A., Morris, L. L., Stevens, M. A. y Albrigh-Holton, M. A. 1978. Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling procedures. *Journal of the American Society for Horticultural Science.* 103(1): 6-13.
- Khanna K., Sharma A., Ohri P., Bhardwaj R.,\*, Elsayed F. Allah A. , Hashem A. and Ahmad P. 2019. Impact of Plant Growth Promoting Rhizobacteria in the Orchestration of *Lycopersicon esculentum* Mill. Resistance to Plant Parasitic Nematodes: A Metabolomic Approach to Evaluate Defense Responses Under Field Conditions. *Biomolecules.* 9, 676; doi:10.3390/biom9110676
- Kim JS, Lee J, Lee CH, Woo SY, Kamg H, Seo SG and Kim SH. 2015. Activation of pathogenesis-

related genes by the rhizobacterium, *Bacillus* sp. JS, which induces systemic resistance in tobacco plants. *Plant Pathology Journal*. 31:195-201. <http://dx.doi.org/10.5423/PPJ.NT.11.2014.0122>.

- Lakshmi V., Kumari S., Singh A. & Prabh, C. (2015). Isolation and characterization of deleterious *Pseudomonas aeruginosa* KC1 from rhizospheric soils and its interaction with weed seedlings. *Journal of King Saud University - Science*, 2015 (27), 113-119. doi: 10.1016/j.jksus.2014.04.007.
- López Valenzuela J. Á.; Valverde Juárez F. J.; Mejía Torres S. L.; Angulo G. L.; Vega García M. O. 2011. Efecto del almacenamiento en atmósfera controlada sobre la calidad poscosecha y nutricional del tomate. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17(2):115-128.
- Luna-Martínez L., Martínez-Peniche R. A., Hernández-Iturriaga M., Arvizu-Medrano S. M. y Pacheco-Aguilar J. R. 2013. Characterization of rhizobacteria isolated from tomato and their effect on tomato and bell pepper growth. *Rev. Fitotec. Mex.* Vol. 36 (1): 63 – 69.
- Marjorie Allende C., Juan Pablo Martínez C., La Cruz Luis Salinas P., La Cruz Fabio Corradini S. Ing. Agrónomo, Fernando Rodríguez A. Natalia Olivares P., Patricio Abarca R. Rayentué Jorge Riquelme S., Raihuén Alejandra Guzmán L, Antúnez B. Ing. Agrónomo, Sofía Felmer Rayentué. 2017. Manual de cultivo del tomate bajo invernadero. Instituto de Desarrollo Agropecuario - Instituto de Investigaciones Agropecuarias. Boletín INIA / N° 12
- Mármol Z, Páez G., Rincón M., Araujo K., Aiello C., Chandler C. y Gutiérrez E. 2011. Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones. *Revista Tecnocientífica URU*. N° 1. 53 – 58.
- Mena-Violante H. G., and V. Olalde-Portugal. 2007. Alteration of tomato fruit quality by root inoculation with plant growthpromoting rhizobacteria (PGPR): *Bacillus subtilis* BEB-13bs. *Scientia Horticulturae* 113: 103-106.
- Mena-Violante H. G., Cruz-Hernández A., Paredes-López O., Gómez-Lim M. Á., Olalde-Portugal V. 2009. Fruit texture related changes and enhanced shelf-life through tomato root inoculation with *Bacillus subtilis* BEB-13BS. *Agrociencia* 43: 559-567
- Moreno-Reséndez A., García Mendoza V., Reyes-Carrillo J.L., Vasquez J. (2018). Plant growth promoting rhizobacteria: a biofertilization alternative for sustainable agricultura. *Rev. Colomb. Biotecnol.* Vol. XX No. 1. 68 – 83.
- Navarro-González I. y Periago M.J. 2016. El tomate, ¿alimento saludable y/o funcional? *Rev Esp Nutr Hum Diet.* 20(4): 323 – 335.
- Navarro-López E. R.; Nieto-Ángel R.; Corrales-García J.; García-Mateos M. del R.; Ramírez-Arias A. 2012. Calidad poscosecha en frutos de tomate hidropónico producidos con agua residual y de pozo. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 18(3): 263-277.
- Norma mexicana para tomate. 1998."NMX-FF-031-1997-SCFI. Productos alimenticios no industrializados para consumo humano- Hortalizas frescas- Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill)- Especificaciones". México: [ consultado julio 2010] Disponible en: <http://www.economia-nmx.gob.mx/normasmx/index.nmx>.
- Nuez F. 2001. Situación taxonómica, domesticación y difusión de tomate. En: Nuez, F (1a ed). *El cultivo de tomate*. Librería Agropecuaria. España. P. 14-43
- Pacheco-Hernández X.J., Rodríguez-Dorantes A., González-Rivera R., Amora-Lazcano E.,

- Guerrero-Zúñiga L.A., y Rodríguez-Tovar A.V. 2015. Evaluation of phytotoxic effect of deleterious rhizobacteria on the root growth of *Axonopus Affinis* (chase) AND *Lens Esculenta* (moench). *Polibotanica*, Núm. 40: 137-152.
- Pii, Y., Mimmo, T., Tomasi, N., Terzano, R., Cesco, S. and Crecchio, C. 2015. Microbial Interactions in the Rhizosphere: Beneficial Influences of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Nutrient Acquisition Process. A Review. *Biology and Fertility of Soils* 51: 403-415. doi:10.1007/s00374-015-0996-1.
- Popescu A, Doyle RJ. 1996. The Gram stain after more than a century. *Biotech Histochem.*; 71: 145-151.
- Pospieszny H, Chirkov S, Atabekov L. 1991. Induction of antiviral resistance in plant by Chitosan. *Plant Sci*; 79:63-9.
- Poysa V. (1992). Use of *Lycopersicon cheesmanii* and *L. chmielewskii* to increase dry matter content of tomato fruit. *Can. J. Plant Sci.* 73.:273-279.
- Rabea E.; Badawy M.; Stevens C.; Smagghe G.; Steurbaut W. 2003. *Biomacromolecules* 4: 1457-1465.
- Reyes I. & Valery A. 2007. Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento del maíz (*zea mays* l.) con *Azotobacter* spp. *Bioagro* 19(3): 117-126.
- Reyes-Pérez J., Enríquez-Acosta E.A., Murillo-Amador B., Ramírez-Arrebató M.A., Rodríguez-Pedroso A.T., Zulueta-Rodríguez R., and Hernández-Montiel L.G. 2018. Physiological, phenological and productive responses of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) plants treated with QuitoMax. *Cien. Inv. Agr.* 45(2): 120-127.
- Reyes-Pérez J., Enríquez-Acosta E.A., Ramírez-Arrebató M.A., Zúñiga Valenzuela E., Lara-Capistrán L., Hernández-Montiel L.G. 2020. Efecto del quitosano sobre variables del crecimiento, rendimiento y contenido nutricional del tomate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* volumen 11 número 3.
- Rivera-Castro J.C. 2011. Parámetros fisicoquímicos para la obtención de modelos de predicción en la calidad poscosecha del tomate (*Solanum lycopersicum* L.). (tesis de pregrado). Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomía, Escobedo, N. L.
- Rodríguez-Guzmán C. A., González-Estrada R. R., Bautista-Baños S. y o Gutiérrez-Martínez P. 2019. Efecto del quitosano en el control de *Alternaria* sp. en plantas de jitomate en invernadero. *TIP Rev.Esp.Cienc.Quím.Biol.* TIP Rev.Esp. Cienc.Quím. Biol.ol. V. 22: 1-7.
- Rodríguez-Pedroso A. T.; Ramírez-Arrebató M. A.; Rivero-González D.; Bosquez-Molina E.; Barrera-Necha L. L.; Bautista-Baños S. 2009. Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15(3): 307-317.
- Rojas-Solís D., Contreras-Pérez M. y Santoyo G. 2013. Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género *Bacillus*. *Biológicas*, 15(2): 36-41.
- Ruiz-Cisneros, M. F., Ornelas-Paz, J. J., Olivas-Orozco, G. I., Acosta-Muñiz, C. H., Sepúlveda-Ahumada, D. R., Zamudio-Flores, P. B., Berlanga-Reyes, D. I., Salas-Marina, M. A., Cambero-Campos, O. J., Rios-Velasco, C. 2018. Effect of *Bacillus* strains alone and in interaction with phytopathogenic fungi on plant growth and tomato fruit quality. *Revista Bio Ciencias* 6, e541.

- Sakata. 2016. Cultivo en invernaderos. México: Sakata seed. Recuperado de: <http://www.sakata.com.mx/es/cultivo-en-invernaderos.html>
- San Martín-Hernández C., Ordaz-Chaparro V. M., Sánchez-García P., Colinas-Leon B. M. T., Borges-Gómez L. 2012. Calidad de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) producido en hidroponía con diferentes granulometrías de tezontle. *Agrociencia* 46: 243-254.
- Santiago, J., Mendoza, M. y Borrego, F. 1998. Evaluación de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en invernadero: criterios fenológicos y fisiológicos. *Agronomía Mesoamericana*. 9(1): 59-65.
- Sato H.; Mizutani S.; Tsuge S. 1998. Determination of the degree of acetylation of chitin/chitosan by Pyrolysis-Gas chromatography in the presence of oxalic acid. *Analytical Chemistry* 70: 7-12.
- Schaad, N. W., Jones, J. B. and Chun, W. 2001. Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. 3th ed. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. Pp. 252
- Siller, J. H. y Báez, M. A. 2011. Recolección, empaque y manejo poscosecha. En: Castellanos, J. Z. (ed.). Manual de producción de tomate en invernadero. Intagri, Celaya, 409-426.
- Stearns, J. C., O. Z. Woody, B. J. McConkey, and B. R. Glick. 2012. Effects of bacterial ACC deaminase on *Brassica napus* gene expression. *Mol. Plant Microbe Interact.* 25: 668-676. doi: <https://doi.org/10.1094/mpmi-08-11-0213>.
- Van Loon L.C. 1999. Occurrence and properties of pathogenesis-related proteins. En: Pathogenesis-related proteins in plants. CRC Press, 193 p.
- Van Loon, L. C., Gerritsen, Y. A. M. y Ritte, R. C. E. 1987. Identification, purification and characterization of pathogenesis-related proteins from virus-infected Samsun NN tobacco leaves. *Plant Mol. Biol.* 9: 593-609.
- Villarreal-Delgado MF, Villa-Rodríguez ED, Cira Chávez LA, Estrada-Alvarado MI, Parra-Cota FI, De los Santos-Villalobos S. 2017. The genus *Bacillus* as a biological control agent and its implications in the agricultural biosecurity. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36(1): 95-130.
- Villegas-Espinoza J.A., Reyes-Pérez J.J., Nieto-Garibay A., Ruiz-Espinoza F.H., Cruz-Falcón A., Murillo-Amador B. 2018. Biostimulant Liplant®: its effect on *Solanum lycopersicum* (L.) grown on slightly saline soils. *Rev. Mex. Cienc. Agríc. esp.* vol. num. 20.
- Wills R.B.H, McGlasson W. B., Graham D, Lee T.H. and Hall E.G. 1989. Postharvest An introduction to the Physiology and Handling of Fruit and Vegetables. CABI Professional Books. pp 3-101.
- Zapata L., Gerard L., Davies C., Oliva L., Schwab M. 2007. Correlación matemática de índices de color del tomate con parámetros texturales y concentración de carotenoides. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, vol. XVIII, núm. 34, pp. 207-226.