

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

Tesis previa a la obtención del Título de Ingeniero Ambiental

TÍTULO:

**“DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BIOCIDA Y FUNGICIDA
QUE TIENE EL AGUA ACTIVADA FRENTE A 6 MICROORGANISMOS
FITOPATÓGENOS PRESENTES EN EL TOMATE DE MESA (*Solanum
lycopersicum. V. Nemmo Netta*)”**

AUTORAS:

MANCHENO GUALPA ANDREA ESTEFANI

TAPIA RUILOVA TANIA LORENA

DIRECTOR:

Dr. PABLO GUILLÉN

Cuenca, Septiembre de 2011

INDICE

RESUMEN	3
DEDICATORIA.....	5
AGRADECIMIENTOS.....	6
CERTIFICACIÓN	7
DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD	8
INTRODUCCIÓN	9
JUSTIFICACIÓN.....	14
OBJETIVOS.....	16
Objetivo General:	16
Objetivos Específicos:	16
HIPÓTESIS.....	16
CAPÍTULO I:.....	18
MARCO TEÓRICO.....	18
1.1. El Tomate.....	18
1.1.1. Origen.....	18
1.1.2. Taxonomía	19
1.1.3. Variedades	22
1.1.3.1. Variedades para consumo fresco.....	22
1.1.3.2. Variedades para la industria enlatadora.....	30
1.1.4. Microorganismos fitopatógenos.	38
1.1.4.1. ¿Qué son los microorganismos fitopatógenos?	38
1.1.4.2. Daños microbiológicos.....	39
1.1.4.3.1. Enfermedades fungosas y métodos de control.....	40
1.1.4.4. Enfermedades virales	47
1.1.4.5. Enfermedades bacterianas.....	50
CAPÍTULO II.....	65
2.1. El Agua activada	65
2.1.1. Origen e Importancia del Agua activada.....	65

2.1.2.	Características	67
2.1.3.	Usos del agua activada	69
CAPITULO III	72
3.1.	Obtención y siembra de muestras	72
3.1.1.	Obtención de muestras.....	72
3.1.2.	Siembra de muestras	74
3.1.3.	Aislamiento y caracterización de microorganismos	74
3.1.3.1.	Aislamiento de microorganismos	74
3.2.	Caracterización.....	77
3.2.1.	Caracterización de hongos.....	77
3.2.2.	Caracterización de bacterias	79
3.3.	Actividad biocida y fungicida del agua activada	84
3.3.1.	Preparación del Agua Activada.....	84
3.3.2.	Pruebas para determinar la capacidad biocida y fungicida del Agua Activada.....	86
CAPITULO IV	88
4.1.	Resultados, Análisis y Discusión	88
4.1.1.	Resultados	88
4.1.2.	Análisis y Discusión.....	93
4.1.2.1.	Fase 1: Selección del medio de cultivo.....	93
4.1.2.1.1.	Comparación del porcentaje de disminución en el crecimiento de las bacterias en estudio con una concentración de 1ppm de agua activada. 117	
4.1.2.2.	Fase 2: Capacidad biocida y fungicida del agua activada.....	121
4.1.2.2.1.	Comparación del porcentaje de disminución en el crecimiento de los hongos en estudio con una concentración de 1ppm de agua activada. 140	
4.2.	Conclusiones	145
4.3.	Recomendaciones.....	147
GLOSARIO	155

RESUMEN

Este trabajo de investigación consistió en identificar a seis microorganismos fitopatógenos presentes en el tomate de mesa y a la vez ponerlos frente al agua activada para así determinar la capacidad biocida y fungicida que tiene dicha agua. Los seis microorganismos utilizados en las distintas pruebas se obtuvieron de las muestras recolectadas de la plantación de tomate de mesa de la Universidad Politécnica Salesiana ubicada en el Cantón Paute, los microorganismos fueron identificados morfológicamente y clasificados por género en el laboratorio.

Se realizaron pruebas de actividad biológica en el caso de las bacterias e identificación morfológica en el caso de los hongos para de esta forma saber el género de los microorganismos con los que se realizaron las distintas pruebas, así los identificados fueron: *Oidium sp.*, *Alternaria sp.*, *Verticillium sp.*, *Pantoea sp.*, *Erwinia sp.* y *Bacillus sp.*

Las primeras pruebas fueron de 200 ¹ppm, 400 ppm y 600ppm en donde se constató la gran efectividad del agua activada frente al crecimiento de los microorganismos, posteriormente se realizaron distintas pruebas hasta llegar al límite de crecimiento y no crecimiento

¹ ppm: partes por millón

de los microorganismo considerando una temperatura constante de 20°C.

Las bacterias fitopatógenas identificadas fueron: *Bacillus sp.*, *Pantoea sp.*, y *Erwinia sp.*

Los hongos fitopatógenos identificados fueron: *Oidium sp.*, *Verticillium sp.*, y *Alternaria sp.*

Las concentraciones máximas de agua activada que toleraron las bacterias fueron para el *Bacillus sp.* de 2ppm, la *Pantoea sp.* de 9ppm, y *Erwinia sp.* de 1ppm. Y las concentraciones máximas de agua activada que toleraron los hongos fueron para el *Oidium sp.* de 2ppm, la *Verticillium sp.* de 1ppm, y *Alternaria sp.* de 8ppm.

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada con mucho cariño:

A Dios que siempre ha estado con nosotras en todo momento brindándonos alegría, esperanza y el ímpetu necesario para finalizar con éxito nuestra tesis y así cumplir con una meta mas de nuestras vidas.

A nuestras familias por su apoyo, paciencia y confianza depositada en nosotras durante toda nuestra carrera.

AGRADECIMIENTOS

Nuestro más sincero agradecimiento a la Universidad Politécnica Salesiana por habernos ayudado a ejecutar y terminar con éxito nuestro trabajo de tesis.

A nuestro estimado director de tesis Dr. Pablo Guillén, por habernos brindado parte de su conocimiento al desarrollar nuestra tesis, por ello y más le estamos inmensamente agradecidas.

A los docentes de la carrera de Ingeniería Ambiental quienes nos han apoyado durante toda nuestra vida estudiantil y de forma especial al Ing. Pablo Arévalo quien nos brindó su ayuda para realizar nuestra tesis.

A la Universidad Del Azuay, de forma especial a la Dra. María Elena Cazar, Ing. María Auxiliadora Faicán e Ing. Adriana Jara por habernos permitido el ingreso a su institución y ayudarnos a cumplir exitosamente la identificación de los microorganismos.

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Andrea Estefani Mancheno Gualpa y Tania Lorena Tapia Ruilova, bajo mi supervisión.

Dr. Pablo Guillén

DIRECTOR DE TESIS

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Los conceptos desarrollados, análisis realizados y las conclusiones del presente trabajo, son de exclusiva responsabilidad de las autoras.

Cuenca, Septiembre del 2011.

Andrea Mancheno Gualpa

Lorena Tapia Ruilova

INTRODUCCIÓN

El tomate riñón o de mesa (*Solanum lycopersicum*) es una de las especies de mayor importancia a nivel mundial debido a su gran difusión comercial, que en los últimos años ha superado su valor como bien agroalimentario, ya que, el tomate posee dos potentes antioxidantes con propiedades preventivas del cáncer. Es cultivado en zonas tropicales y subtropicales, como también bajo invernaderos.

Sus frutos se consumen frescos y también son materia prima para la agroindustria, alrededor de ella, se han emprendido diferentes variantes en los cinco continentes. El tomate es una de las plantas que ha sido más investigada por los estudiosos en todos sus aspectos básicos y agrícolas ²(Sanguinetti, 2003).

El tomate *Solanum lycopersicum*. (V. *Nemmo Netta*), es un cultivo que se produce a nivel nacional, tanto en los valles cálidos de la serranía como en el litoral, en la época de verano en Los Ríos y en Manabí. Las provincias donde se cultiva esta hortaliza son: Guayas, Carchi, Loja, Imbabura, Manabí, Chimborazo, Azuay, El Oro, Tungurahua y Pichincha. En la serranía se produce el tomate riñón de mesa y en el litoral el

² ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO, "Determinación y caracterización de enfermedades bacterianas del tomate riñón (*Lycopersicon sculentum*)", 2008

tomate industrial para la elaboración de pasta (SICA s. f. & Rodríguez et al. 2001).

Jones et al (2001), indican que las enfermedades constituyen el factor limitante en la producción de tomate en muchas partes del mundo, cuando no se utilizan variedades con resistencia a varias de ellas. Existen cerca de 200 enfermedades del tomate de diversas causas y etiologías, para cuyo control se utilizan cultivos resistentes, así como medidas de exclusión, erradicación y protección en el contexto de un programa de control integrado.

La incidencia de bacteriosis del tomate, se encuentra en rangos de menos del 5% hasta un 100% y pueden llegar a causar pérdidas económicas por disminución en la cantidad de fruta y como barrera de acceso de producciones afectadas a mercados selectos.

Es importante destacar la diferencia que existe entre la incidencia de enfermedades en el mismo cultivo al aire libre o bajo plástico, debido a que en este último se modifican las condiciones ambientales y aumentan el desarrollo de enfermedades, especialmente las causadas por hongos y bacterias (Besoain citado por Sanguinetti, 2003).

En los últimos años el cultivo de tomate riñón, en ambiente protegido se ha incrementado en el Ecuador; existen importantes áreas de producción bajo estas condiciones principalmente en la provincias de Tungurahua y Pichincha, esto ha permitido incrementar los rendimientos de tomate cultivado en campo abierto que generalmente bordea un promedio de 11..5 Tn./ha/ciclo a rendimientos que fluctúan entre 140, 180 hasta 200 Tn./ha/ciclo, utilizando invernaderos, semillas de calidad y un adecuado manejo agronómico (Tigrero & Ortega 2002).

Jaramillo et al. (2007) reportan que el rendimiento promedio de las UPA´s colombianas productoras de tomate es de 25 Tn./ha en promedio obtenido en condiciones de producción a campo abierto; desarrollado en zonas con alturas comprendidas entre los 0 y 2.100 m.s.n.m.; es decir, en regiones de climas cálidos a frío moderado; sin embargo, argumentan, que las condiciones climáticas imperantes en estas regiones, principalmente en las épocas de sequía o lluvia, afectan la productividad de los cultivos por los cambios extremos de temperatura y humedad relativa, que favorecen el ataque de plagas y enfermedades; por lo que añade, el productor se ha visto forzado a buscar nuevas alternativas tecnológicas para el cultivo, como es la siembra bajo condiciones protegidas.

El tomate es uno de los cultivos que más riesgo de contaminación presenta debido al uso excesivo de plaguicidas sobre todo para el control de enfermedades, el cual es más difícil cuando las condiciones meteorológicas son favorables a los patógenos.

Un alto porcentaje de los costos de producción está relacionado con la compra y aplicación de insumos, entre ellos los agroquímicos, productos que los tomateros usan de una manera excesiva y que, además de encarecer los costos de producción, causan serios disturbios al medio ambiente y a la salud de los consumidores y de los mismos productores.

Históricamente el mercado del tomate no ha presentado una estacionalidad a través del año en los volúmenes generados y por lo tanto en los precios. Las épocas de mayor y menor oferta están regidas directamente por las lluvias. Por lo tanto para el agricultor, que puede disponer de riego y, no solo tener un adecuado manejo del cultivo sino también una correcta planeación de siembras, el tomate es un cultivo rentable que además de generar empleo le diversifica sus ingresos (Escudero 2004).

Este trabajo tiene como objetivo la determinación y caracterización de los agentes causales de fungosis y bacteriosis en el tomate riñón

cultivado tanto al aire libre como bajo invernadero en la zona de Paute, y posterior a ello hacer pruebas con agua activada para determinar su capacidad fungicida y biocida respectivamente y con ello en un futuro poder utilizar el agua activada como controlador de microorganismos fitopatógenos.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, el tomate riñón es la hortaliza más cultivada en el mundo, por su contenido nutricional y su demanda en la dieta diaria.

Se lo puede cultivar a campo abierto y en invernadero, desde el nivel del mar hasta una altura de 3 200 msnm; es decir, en zonas tropicales, valles y en zonas andinas en condiciones de invernadero.

En nuestro País la mayor producción de tomate está en las provincias de Tungurahua y Chimborazo. A pesar de la gran producción a nivel nacional se ha registrado la falta del producto en ciertas épocas, como en 1998 cuando se incrementó la importación de pasta de tomate en un 310% respecto a 1993, por lo que las industrias que dependen de este producto se vieron obligadas a comprar bienes semi-elaborados fuera del país.

Además del incremento de la demanda, se encuentran otros factores para que disminuyan la producción como son las plagas, las enfermedades fungosas, bacterianas y virales, que atacan a la planta y al fruto, siendo eliminadas principalmente con agroquímicos que causan

contaminación del suelo, agua, aire y que pueden persistir en el ambiente y en nuestro organismo.

Para enfrentar este problema se presenta una propuesta que ayudará a eliminar microorganismos fitopatógenos en los cultivos de tomate, de manera económica, limpia y accesible a todos; teniendo así ventajas económicas por el incremento de su producción, que se reflejará en la reducción de los costos arancelarios, y ventajas sociales con la reinserción de la fuerza laboral desocupada tanto en la industria como en la agricultura.

OBJETIVOS

Objetivo General:

Determinar la capacidad biocida y fungicida que tiene el agua activada frente a seis microorganismos fitopatógenos presentes en el tomate de mesa.

Objetivos Específicos:

1. Aislar y caracterizar 3 hongos y 3 bacterias fitopatógenos del tomate de mesa.
2. Determinar la actividad biológica de los microorganismos caracterizados frente a las diferentes concentraciones de agua activada.
3. Establecer los resultados obtenidos de la actividad biológica de la acción del agua activada

HIPÓTESIS

H0

No existe ninguna actividad biocida y fungicida del agua activada frente a los microorganismos fitopatógenos presentes en el tomate de mesa.

H1

Sí existe actividad biocida y fungicida del agua activada frente a los microorganismos fitopatógenos presentes en el tomate de mesa.

CAPÍTULO I:

MARCO TEÓRICO

1.1. El Tomate

1.1.1. Origen

El tomate es considerado una fruta propia del continente americano, inicialmente cultivada por los aztecas e incas desde el año 700 A.C. Los europeos la conocieron cuando los conquistadores llegaron a México y Centro América en el siglo XVI; las semillas fueron llevadas a Europa y favorablemente aceptadas en los países mediterráneos (España, Portugal e Italia).

El tomate es considerado un alimento noble, se le han atribuido durante siglos virtudes afrodisíacas en el Viejo Continente, donde lo denominan pomum amons (manzana del amor). En México y Perú es símbolo de buen augurio y no puede faltar en ningún banquete nupcial.

El tomate entró en Europa por Galicia aunque su extensión se produjo en Italia, a través de las cocinas de Nápoles y Génova, así como de la Francesa de Niza. Los italianos lo llamaron poma d'oro y los franceses, pomme d'amour.

Al pertenecer a la familia de las solanáceas, como la patata, y por su parecido a los frutos tóxicos de la belladona, el tomate tardó mucho tiempo en imponerse en la cocina. Su supuesta toxicidad llevó a los botánicos a asignarle el nombre latino de *lycopersicum* -el pescado del lobo-, lo que motivó que su primera utilización fuese ornamental.

Esta leyenda de planta tóxica también se extendió por Norteamérica, donde se describió la cardiopatía tomatiana como una consecuencia de su ingestión; un cuadro caracterizado por una angustia que recordaba a la angina de pecho, cuando hoy se sabe que es una de las verduras más suaves y saludables que existen.

1.1.2. Taxonomía

Nombre común o vulgar: Tomate, Tomatera, Jitomate

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanacea (Solanáceas)

Nombre científico (género y especie): *Lycopersicum esculentum*

Variedad: *Nemmo Netta*

Origen: Suroeste de América. El tomate es una planta anual, pero a veces puede perdurar más de un año en el terreno.

Descripción de la Planta

La palabra Tomate proviene del náhuatl "xitli" (ombligo) y "tinatlm" (tomati o tomatera), y es el nombre común que se le ha dado a una planta herbácea de tallo voluble, largo y cubierto por numerosos pelos. Las hojas son lobuladas con los bordes dentados. Las flores pentámeras se reúnen en ramilletes laterales y son amarillas.

Esta planta silvestre rastrera mide de 50 cm. a un metro de altura. Los tallos son ligeramente angulosos, semileñosos, de grosor mediano (cercano a 4 cm en la base) y con tricomas simples y glandulares. Las hojas de tamaño medio a grande (10 a 50 cm), alternas, pecioladas, bipinatisectas (con folíolos a su vez divididos) y con numerosos tricomas simples y glandulares.

Su fruto es de diferente tamaño y forma: redondo, forma globosa, u ovalada, dependiendo del tipo; su color es uniforme (anaranjado-rojo a

rojo intenso; amarillo claro), su apariencia es lisa y con las cicatrices correspondientes a la punta floral y al pedúnculo. Dentro de la baya contiene un gran número de semillas aplanadas y reniformes. La tomatera produce desde diminutos frutos del tamaño de una cereza, hasta enormes frutos de hasta 750 gr.

El fruto de tomate corresponde a una típica baya, generada a partir de un ovario sincárpico de dos o más carpelos, con una placentación axial, y con numerosos óvulos.

Esta baya en madurez presenta un pericarpio carnoso, que encierra dos o más lóculos y una placenta con una parte carnosa en el eje central y con una parte gelatinosa que llena parcialmente los lóculos, en la cual se ubican las numerosas semillas.

La coloración de los frutos maduros varía desde amarillo a rojo y está dada por la degradación de la clorofila y el desarrollo de pigmentos carotenoides (amarillo-anaranjados) y licopeno, pigmento típico de este fruto, de color rojo.

El fruto de tomate presenta un alto contenido de agua y, excepto por su valor de vitamina A y C, no se destaca por ningún otro componente nutricional.

Componente fundamental en ensaladas o platos típicos (ensalada chilena, pizzas, gazpacho, etc.), y en varios productos industriales como deshidratados, enlatados, jugos, ketchup, mermeladas, pastas, salsas e, incluso, bebidas alcohólicas como el "Bloody Mary".

1.1.3. Variedades

1.1.3.1. Variedades para consumo fresco

- **Tipo "beef"** usado especialmente en ensaladas. Plantas vigorosas hasta el 6°-7° ramillete, a partir del cual pierde bastante vigor coincidiendo con el engorde de los primeros ramilletes. Frutos de gran tamaño y poca consistencia. Producción precoz y agrupada. Cierre pistilar irregular.



Figura 1. Tomate Tipo Beef

- **Tipo Marmande** plantas poco vigorosas que emiten de 4 a 6 ramilletes aprovechables. El fruto se caracteriza por su buen sabor y su

forma acostillada, achatada multilocular, que puede variar en función de la época de cultivo.



Figura 2. Tomate Tipo Marmande

- **Tipo Vemone** plantas finas y de hoja estrecha, de porte indeterminado y marco de plantación muy denso. Frutos de calibre G que presentan un elevado grado de acidez y azúcar, inducido por el agricultor al someterlo a estrés hídrico. Su recolección se realiza en verde pintón. Son variedades con pocas resistencias a enfermedades que se cultivan con gran éxito en Cerdeña (Italia), es resistente a la enfermedad del mosaico.

- **Tipo Moneymaker** plantas de porte generalmente indeterminado. Frutos de calibre M y MM, lisos, redondos y con buena formación en ramillete. Se le conoce en España como tomate canario o liso. Son de temporada invernal.



Figura 3. Tomate Tipo Moneymarker

- **Tipo Muchamiel** (acostillado, frutos grandes).



Figura 4. Tomate Tipo Muchamiel

-**Tomate híbrido Nemo-Netta**

Es un tomate híbrido que se adapta a campo abierto o para producción del cultivo bajo protección. Su maduración es de aproximadamente 80 días para la primera selección. El plazo para la primera selección variará entre las plantaciones de primavera y verano. Es una planta vigorosa con un hábito de crecimiento indeterminado.

En la siembra a campo abierto las plantas deben ser podadas en espaldera y con no más de dos tallos y preferiblemente a un solo tallo. La densidad de plantación debe ser de 17 -21 000 plantas / ha. En fila la separación no debe ser inferior a 35 cm entre plantas.

En cultivos con protección, las plantas se podrían formar un solo tronco de una cadena de apoyo y luego en capas hacia abajo, o podadas a dos tallos y se detiene a una altura de 2 metros. La densidad de plantación debe estar cerca de las plantas de 3-4 / m².

La fruta de muy alta calidad con un peso medio del fruto de 150 a 180 g, cuando son podadas a un solo tallo. La firmeza de la fruta es excelente con un espesor de pared por encima de la media. Nemo-Netta es una variedad de larga vida útil. Los frutos son uniformes, con un fruto en forma de globo de profundidad.

Es altamente resistente a Verticilium 1 (V), Fusarium 1 y 2 (F1 y F2), Virus del mosaico del tabaco (TMV). Resistencia intermedia a los nematodos (N). La tolerancia a los nematodos se puede descomponer con las altas temperaturas del suelo. Tiene un potencial de rendimiento muy alto y un período de cosecha extendida.



Figura 5. Tomate Híbrido Nemo Netta

- **Tomate Híbrido Astona F1** Jaramillo et al. (2007), describen al Tomate híbrido Astona F1, como de tipo milano de crecimiento indeterminado para invernadero o campo abierto, plantas vigorosas, con excelentes rendimientos, frutos grandes con un peso promedio de 214 gramos, de forma globosa, algo achatados, de excelente sabor y color, maduración normal, de corteza y pulpa duras, buen llenado, y al partirlos en tajadas no se deforman. Tiene buena resistencia a los cambios extremos de temperatura, excelente cuaje del fruto en zonas frías y zonas calientes. Inicia producción de los 70 a los 100 días. Resistente a la raza 1 de *Verticillium* (*Verticillium dahliae*), razas 1 y 2 de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*), nemátodos (*Meloidogyne incognita* y *M. javanica*) y tolerante al blotchy o maduración manchada.



Figura 6. Tomate Híbrido Astona F1

-**Tomate Híbrido Sheila F1** Cultivo de crecimiento indeterminado, con entrenudos cortos. Presenta racimos uniformes, con frutos muy firmes y de excelente coloración. Su peso varía entre 200 y 250 gramos con gran uniformidad. Presenta una cicatriz peduncular pequeña y buen cierre pistilar. Esta variedad es resistente a *Verticillium dahliae*, raza 1, *Fusarium oxysporum* f. sp., raza 1 – 2 y Virus del mosaico del tomate (ToMV) (Vázquez et al. s. f.).



Figura 7. Tomate Híbrido Sheila F1

-**Tomate Titán F1** Material larga vida, frutos con peso promedio de 178 gramos, resistente a *Verticillium* raza 1 y *Fusarium* raza 1, susceptible a nematodos, frutos de sabor excelente y color rojo intenso ¹(Jaramillo et al. 2007).



Figura 8. Tamate Titan F1

-**Híbrido Gently F1.** Cultivo de crecimiento indeterminado. Presenta frutos ligeramente achatados con un calibre regular, su peso varía entre 170 a 190g con gran uniformidad, con una buena resistencia al rajado, buena resistencia a los defectos de coloración "blotchy ripening" y a los frutos huecos. Buen vigor de planta. Tiene una buena tolerancia al Tomato Yellow Leaf Curl Virus (TYLCV) y resistencia al Tomato spotted kilt virus (TSWV) (Hebras 2007).



Figura 9. Tomate Híbrido Gently F1

-**Híbrido Corvette** Cultivo de crecimiento indeterminado. Presenta frutos con un calibre regular, su peso varía entre 180 a 200 g, con una buena resistencia al rajado, presenta frutos redondos. Buen vigor de planta. Tiene una buena tolerancia a Verticillium y resistencia al Virus del mosaico del tomate (ToMV) (Hebras 2007).

-La **Homestead F 61** y la **Homestead Élite** son dos líneas de mediana precocidad y de crecimiento determinado. Ambas líneas tienen frutos redondos. **La Homestead F 61** es fuerte, abundante follaje y es tolerante a la marchitez por Fusarium, y sus frutos son de tamaño grande, de carne gruesa con poco espacio de semilla. La **Homestead Élite** es menos robusta pero tiene una excelente producción y apariencia de los frutos. Los frutos son lisos y redondos, y sus frutos son de tamaño mediano, uniformes y de buen contenido de jugo.

-La **Floradel** y la **Manapal** son dos variedades de crecimiento indeterminado. Ambas requieren estacado y poda para lograr rendimientos satisfactorios. La Floradel es tolerante a Fusarium y a Cladosporium. Ambas variedades tardan 60 días hasta la floración, y 100 días hasta la primera cosecha, que se calculan a partir de la siembra.

Algunas variedades tienen una pronunciada importancia regional, tales como:

- **Platense.** Existen varias líneas de excelente producción. Éstas se cultivan en la Argentina.

- **Santa Cruz.** Comprende varias líneas de buenas características para el transporte.
- **Chonta.** Es un grupo de varias líneas utilizadas en Colombia.
- **Culiacán 360.** Es una variedad muy cultivada en México.

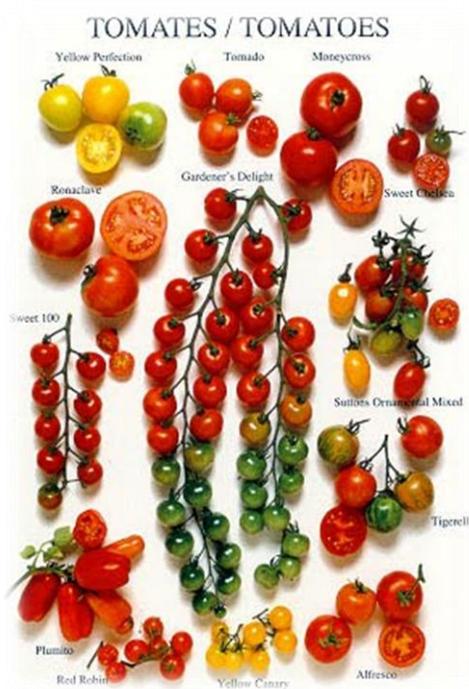


Figura 10. Variedades de Tomate

1.1.3.2. Variedades para la industria enlatadora

- **Tipo pera** (utilizado, cada vez menos, en la industria conservera para tomate pelado).



Figura 11. Tomate Tipo Pera

- **San Marzano** (utilizado actualmente en la industria conservera para tomate pelado, tipo pera).



Figura 12. Tomate San Marzano

- **Tipo cocktail** plantas muy finas de crecimiento indeterminado. Frutos de peso comprendido entre 30 y 50 gramos, redondos, generalmente con 2 lóculos, sensibles al rajado y usados principalmente como adorno de platos. También existen frutos aperados que presentan las características de un tomate de industria debido a su consistencia, contenido en sólidos solubles y acidez, aunque su consumo se realiza principalmente en fresco. Debe suprimirse la aplicación de fungicidas que manchen el fruto para impedir su depreciación comercial.



Figura 13. Tomate Tipo Cocktail

- **Tipo cherry o cereza** plantas vigorosas de crecimiento indeterminado. Frutos de pequeño tamaño y de piel fina con tendencia

al rajado, que se agrupan en ramilletes de 15 a más de 50 frutos. Sabor dulce y agradable. Existen cultivos que presentan frutos rojos y amarillos. El objetivo de este producto es tener una producción que complete el ciclo anual con cantidades homogéneas. En cualquier caso se persigue un tomate resistente a virosis y al rajado, ya que es muy sensible a los cambios bruscos de temperatura.



Figura 14. Tomate Tipo Cherry

- **Tipo ramillete** cada vez más presente en los mercados, resulta difícil definir el tipo de tomate ideal para ramillete, aunque generalmente se buscan características: frutos de calibre M, de color rojo vivo, insertos en ramilletes en forma de raspa de pescado, etc.



Figura 15. Tomate Tipo Ramillete

- **Tipo liso** Las variedades en uso para la producción de tomate destinada al procesamiento industrial son de tipo determinado o de

determinación intermedia. Estos tomates de piso, rastreros, o arbustivos suelen tener una cosecha uniforme y compacta. Esta característica simplifica la recolección.

Algunas variedades de importancia general para la industria se describen a continuación:

- **El Roma V.F.** El fruto es liso, de buen tamaño, de forma de perita y de color rojo intenso hasta el mismo cuello. El fruto tiene sólo dos lóculos. A pesar de esto, es consistente, de piel fuerte al madurar y, por consiguiente, está libre de rajaduras. La carne de los frutos tiene un alto contenido de sólidos o de materia seca, lo cual aclara su aptitud para la industria. Además, es apto para el consumo fresco. El desarrollo de la planta es compacto. El abundante follaje protege los frutos del sol. La primera cosecha se obtiene a los 75 días del trasplante. Por su tolerancia a la marchitez por Fusarium y su resistencia contra Verticillium, es la variedad de mayor difusión mundial.



Figura 16. Tomate Roma

- **La Homestead 24 y la Homestead F.M.**, son dos líneas con propiedades especiales para la industria, pero que a la vez sirven muy bien para el consumo fresco. El fruto es de buen tamaño, redondo y muy uniforme. Las plantas son de tipo determinado, con un excelente desarrollo y una producción compacta. Ambas líneas tienen buena resistencia contra enfermedades. La Homestead 24 es tolerante a la marchitez por Fusarium.

Variedades de tomate en el Ecuador.

Los tomates se diferencian, de acuerdo con su uso, en producto para consumo en fresco o como materia prima de procesos agroindustriales, y según la forma externa del fruto en cinco tipos: **Milano, Chonto, Cherry, Industrial y Larga Vida.**

El tipo **milano** es de forma achatada o semiachatada, con cuatro o más lóculos, peso promedio entre 200 y 400 gramos, es muy palatable y de alto valor comercial.

El tipo **chonto** es de forma redonda a ovalada, levemente elongada u oblonga, con dos a cuatro lóculos, peso promedio de 70 a 220 gramos, se consume en fresco y se utiliza en la preparación de guisos o pastas.

El tipo **cherry** posee frutos de tamaño muy pequeño, de 1 a 3 centímetros de diámetro, con un peso promedio de 10 gramos, presenta colores variables (amarillos, rojos o naranjas), puede ser piriforme o redondo y se consume en fresco, como pasa bocas, en cocteles y se usa para decorar platos.

El tipo **industrial** se caracteriza por tener gran cantidad de sólidos solubles que lo hacen atractivo para su procesamiento, principalmente en la producción de salsas y pastas, puede ser piriforme o redondo, y presenta un color rojo intenso. En el país la tendencia se presenta a utilizar variedades Larga vida tipo Milano.

Según estudios realizados, las variedades que se comercializan son: Clemente, Miramar, Casandra, Sheila, Sofía, Victoria y Rocío, los tipos Milano, Chonto, Cherry y Larga vida, y las denominaciones Híbridos, Grueso y Parejo.

Variedad	Peso (gr)	Forma	Viscosidad	Tamaño (planta)	Características
ELIOS	130	Pera	Media	Mediana	Muy vigoroso. Para mercado fresco e industrial.
HYPEEL	60	Cuadrado	Media	Mediana	Temprana madurez
NEMA 512	90	Blocky	Alta	Medio-larga	Madurez temprana, alta viscosidad.
NEMA 1200	80	Redondo	Media	Mediana	Resistente a nematodos tempranos, excelente producción.
NEMA 1400	95	Redondo	Media	Medio-larga	Resistente a nematodos de media estación excelente producción.
NEMA 1401	85	Cuadrado	Media-alta	Medio-larga	Resistente a nematodos de media estación con alta viscosidad.
NEMA 1435	85	Blocky	Media	Mediana	Madurez media, altos sólidos, excelente color.
NEMAPEEL	60-70	Pera	Baja	Mediana	-
PERFECTPEEL	60-65	Cuadrado	Media	Mediana	Excelente para cosecha mecánica, alto porcentaje de aprovechamiento de cáscara.
PETOPRIDE III	100	Redondo	Baja	Larga	Planta vigorosa. Alto brix. Se adapta a cosecha mecánica o manual.
SAUSALITO	80	Cuadrado	Alta	Medio-larga	Madurez media, alta viscosidad, tamaño uniforme
SPECTRUM 579	75-90	Blocky	Alta	Medio-larga	Madurez media, buen color, alta viscosidad con sólidos medio altos
ZENITH	80	Pera	Media	Medio-larga	Planta muy vigorosa.
HYPACK 2409	80	Redondo	Alta	-	Pasta muy precoz
CURICO	-	Cuadrado	-	-	Pasta, muy precoz, productivo.
PSX P2411	-	Redondo	baja	-	Pasta, excelente color.

Cuadro 1. Variedades Híbridas en la Industria del Ecuador

- Algunas otras variedades importantes para la industria son: Heinz 1370, Rossol, Ace, Canatela, Early Pak 7, Pearson A-1 mejorada,

Nápoli, San Marzano, VF 1402, y VF 145. Esta última comprende varias líneas creadas para la cosecha mecánica.

Las empresas que industrializan el tomate suelen exigir a sus proveedores el uso de las variedades recomendadas por ellas mismas. Las variedades deseadas por la industria deben caracterizarse por lo siguiente:

- Alto rendimiento.
- Frutos resistentes a las rajaduras.
- Fructificación concentrado y maduración uniforme.
- Alto contenido de sólidos.
- Una elevada acidez.

Cada variedad tiene su propia descripción de características de crecimiento y de adaptación al clima y al suelo. Esta descripción de variedades ayuda a determinar la variedad a cultivar.

La descripción de la variedad debe tener los siguientes datos complementarios:

- Precocidad o duración del ciclo de vida.
- Aptitud para industria, consumo fresco o ambos.
- Forma, tamaño y color del fruto.

- Tipo de piel, consistencia, cantidad de lóculos, cantidad de jugo, grado de acidez y porcentaje de sólidos.
- Cantidad de follaje y cobertura de los frutos.
- Tolerancia a enfermedades.
- Sensibilidad a transporte y otros factores adversos.

1.1.4. Microorganismos fitopatógenos.

1.1.4.1. ¿Qué son los microorganismos fitopatógenos?

En Fitopatología se denomina fitopatógeno a un organismo, que causa enfermedades en las plantas por medio de disturbios en el metabolismo celular causado por la secreción de enzimas, toxinas, fitoreguladores y otras sustancias y, además, por la absorción de nutrientes de la célula para su propio crecimiento. Algunos fitopatógenos pueden causar también enfermedades por crecer y multiplicarse en el xilema y en el floema de la planta y, por ende, por bloquear el transporte de agua y nutrientes desde la raíz hacia las hojas o el flujo de savia desde las hojas hacia el resto de la planta.

Los organismos fitopatógenos pueden ser nematodos, bacterias, virus, protozoarios, moluscos y hongos.

1.1.4.2. Daños microbiológicos

Los microorganismos en general son capaces de provocar daños como lo son las alteraciones a nivel del tejido de los frutos, reblandecimiento, exudación, sabor y olor desagradable, este deterioro es llevado a cabo especialmente por especies de bacterias como lo son: *Erwinia sp*, *Pseudomonas sp*, de igual manera hongos como *Penicillium sp*, *Aspergillus sp*, *Fusarium sp*, que afectan de manera considerable al fruto que finalmente lleva a la fruta a una putrefacción total.

Según el agente que las produzcan se clasifican en:

- Enfermedades fungosas
- Enfermedades bactericidas
- Enfermedades virales

1.1.4.3. Principales hongos y bacterias causantes de enfermedades en el tomate de mesa.

- Ceniza u Oidio
- Podredumbre gris Botritis
- Podredumbre blanca
- Mildiu
- Alternariosis del tomate
- Fusarium

- Verticilium
- Damping-off
- Bacterias
- Virus

1.1.4.3.1. Enfermedades fungosas y métodos de control

- **Oidio, Oidium, Ceniza u Oidiopsis (*Leveillula taurica*)** Manchas amarillas en el haz que se necrosan por el centro, observándose un polvillo blanquecino por el envés. En caso de fuerte ataque la hoja se seca y se desprende pudiendo llegar a provocar importantes defoliaciones.

Eliminar malas hierbas y restos de cultivo porque supone reservorio de esporas. Control químico, por ejemplo, con azufre.



Figura 17. Oidio

- **Podredumbre gris o Botritis (*Botrytis cinerea*)** En hojas y flores se producen lesiones pardas. En frutos se produce una podredumbre

blanda (más o menos acuosa, según el tejido), en los que se observa el micelio gris del hongo.

- Eliminación de malas hierbas, restos de cultivo y plantas infectadas.
- Tener especial cuidado en la poda, realizando cortes limpios a ras del tallo.
- Control químico a los primeros síntomas o preventivamente (es difícil).



Figura 18. Podredumbre gris

- **Podredumbre blanca (*Sclerotinia sclerotiorum*)** En planta produce una podredumbre blanda (no desprende mal olor) acuosa al principio que posteriormente se seca más o menos según la succulencia de los tejidos afectados, cubriéndose de un abundante micelio algodonoso blanco, observándose la presencia de numerosos esclerocios, blancos al principio y negros más tarde. Control y prevención igual que Botritis.



Figura 19. Podredumbre blanca

- **Mildiu (*Phytophthora infestans*)** En hojas aparecen manchas irregulares de aspecto aceitoso al principio que rápidamente se necrosan e invaden casi todo el foliolo. Alrededor de la zona afectada se observa un pequeño margen que en presencia de humedad y en el envés aparece un fieltro blancuzco poco patente.

En tallo, aparecen manchas pardas que se van agrandando y que suelen circundarlo. Afecta a frutos inmaduros, manifestándose como grandes manchas pardas, vítreas y superficie y contorno irregular. Las infecciones suelen producirse a partir del cáliz, por lo que los síntomas cubren la mitad superior del fruto.

Métodos de control:

- Eliminar partes enfermas.
- No mojar el follaje, sino regar solo los pies de las plantas.
- Medios curativos son un preparado de cobre, como oxiclورو de cobre o caldo bordelés.

- Se puede tratar con decocción de cola de caballo. El caldo de equiseto actúa como preventivo contra enfermedades fúngicas.
- Se puede aplicar caldo bordelés (lleva sulfato de cobre) cuando empiezan a crecer las matas, en primavera. Después, cuando hace más calor se les hecha azufre en polvo por encima. Todo mejor antes de que aparezca la enfermedad. Cuando humedece y hace calor son condiciones que desencadenan el mildiu.
- El uso de azufre y de cobre es ecológico y controla diversos hongos habituales.



Figura 20. Mildiu

- **Alternariosis del tomate (*Alternaria solani*)** En hoja se producen manchas pequeñas circulares o angulares, con marcados anillos concéntricos. En tallo y peciolo se producen lesiones negras alargadas, en las que se pueden observar a veces anillos concéntricos. Los frutos son atacados a partir de las cicatrices del cáliz, provocando lesiones pardo-oscuras ligeramente deprimidas y recubiertas de numerosas esporas del hongo.

Eliminación de malas hierbas, plantas y frutos enfermos. En agricultura comercial se pueden usar productos químicos.



Figura 21. Alternariosis

- **Fusarium (*Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici*)** Comienza con la caída de peciolo de hojas superiores. Las hojas inferiores amarillean avanzando hacia el ápice y mueren. También puede ocurrir que se produzca un amarilleo que comienza en las hojas más bajas y que termina por secar la planta. Si se realiza un corte transversal al tallo se observa un oscurecimiento de los vasos. El hongo puede permanecer en el suelo durante años y penetra a través de las raíces hasta el sistema vascular. Síntomas similares a los producidos por *Verticillium sp.*

- La rotación de cultivos reduce paulatinamente el patógeno en suelos infectados.
- Eliminar las plantas enfermas y los restos del cultivo.
- Utilizar semillas certificadas y plántulas sanas.
- Utilización de variedades resistentes.
- Solarización.
- Los tratamientos químicos durante el cultivo son ineficaces.



Figura 22. Fusarium

- **Verticillium (*Verticillium dahliae*)** Produce los mismos síntomas que Fusarium y es necesario su estudio en laboratorio para confirmar que se trata de *Verticillium dahliae*. La penetración se realiza en el suelo, favorecida por heridas en las raíces.

Disminución importante de los rendimientos y disminución del tamaño de los frutos, en ataques severos. Si las condiciones favorables a la enfermedad remiten, puede obtenerse una cosecha normal. Métodos de control igual que Fusarium.



Figura 23. Verticillium

- **Caída de plántulas o Damping-off** En semilleros, los hongos de las raíces causan gran mortandad en plántulas recién germinadas. Es lo que se conoce por "caída de plántulas" o "damping-off". A nivel del cuello quedan ennegrecidos y se doblan cayendo sobre el sustrato. Los

causantes son *Fusarium*, *Phytophthora* y *Rhizoctonia*. La infección se expande con rapidez por todo el semillero.

Para evitar que aparezcan:

- Usar sustratos limpios y frescos. No usar para semilleros tierra del jardín que seguro que lleva hongos nocivos.
- Un buen sustrato es muy poroso, tanto que cuando hace calor se debe regar dos veces al día.
- Evitar el exceso de agua porque despierta el inóculo.
- Bandejas, herramientas y estructuras limpias (por ej. con lejía).
- Si se utiliza estiércol, que esté bien fermentado.
- No poner una elevada densidad de plantas.
- Ventilar en forma adecuada para evitar el aire enrarecido.
- Tratamiento químico según el hongo que esté actuando, aplicando alrededor del cuello de las plantas un producto que contenga Benomilo, por ejemplo. No es muy eficaz.



Figura 24. Caída de plántulas

1.1.4.4. Enfermedades virales

- Virus del bronceado del tomate (TSWV)
- Virus del mosaico del pepino (CMV)
- Virus Y de la patata (PVY)
- Virus del rizado amarillo del tomate (TYLV)
- Virus del mosaico del tomate
- Virus del enanismo ramificado del tomate (TBSV)

- **Virus del bronceado del tomate (TSWV)** Produce enanismo y producción nula o escasa; a veces las plantas mueren. Generalmente se producen en hojas, bronceado con puntos y manchas necróticas que a veces afectan a los peciolo y tallos; en frutos aparecen manchas, maduración irregular, deformaciones y necrosis. La transmisión se produce mediante varias especies de trips.



Figura 25. Virus del bronceado del tomate

- **Virus del rizado amarillo del tomate (TYLV)** En plantas pequeñas se produce parada del crecimiento; en planta desarrollada, los folíolos

son de tamaño reducido. En los frutos no se observan síntomas, solo una reducción de tamaño.



Figura 26. Virus del rizado amarillo del tomate

- **Virus del mosaico del tomate** En las hojas de tomate se observa un mosaico verde claro-verde oscuro. Los frutos aparecen con deformaciones, manchas generalmente amarillas y a veces maduración irregular. La transmisión se realiza por semillas y mecánicamente por contacto de manos, herramientas, etc. No se conocen vectores específicos naturales.



Figura 27. Virus del mosaico del tomate

- **Virus Y de la patata (PVY)** En tomate se producen suaves mosaicos foliares en forma de manchas de color verde claro-verde oscuro; en ocasiones las plantas presentan manchas necróticas foliares visibles por

el haz y por el envés que a veces se extiende a peciolo y tallos. Se transmite por varias especies de pulgones.



Figura 28. Virus Y de la patata

- **Virus del enanismo ramificado del tomate (TBSV)** En las hojas apicales de tomate se observa un fuerte amarilleo a veces con necrosis que pueden llegar hasta el peciolo y tallo; otras veces las hojas aparecen de un fuerte color morado y en los frutos se observa fuertes necrosis con zonas hundidas, manchas y deformaciones. No se conocen vectores naturales. Se transmite por suelo y agua.



Figura 29. Virus del enanismo ramificado del tomate

Control de los virus del tomate:

- Eliminación de plantas afectadas y malas hierbas de dentro y fuera del invernadero.
- Control de insectos vectores: pulgones, mosca blanca y trips.

- Utilizar variedades resistentes

1.1.4.5. Enfermedades bacterianas

Puede afectar a plántulas que presentan síntomas de marchitez y muerte. En plantas adultas se marchitan las hojas inferiores. En tallo, en ocasiones se observan chancros oscuros, longitudinales y abiertos que pueden exudar un líquido amarillo al realizar un corte longitudinal al tallo. En fruto, aparecen manchas en forma de "ojo de pájaro" de 3 a 6 mm de diámetro, con el centro oscuro y halo amarillo.

- **La Peca Bacteriana** Mavunganidze et al. (s. f.), indican que la infección puede manifestarse tanto en plantas jóvenes como en adultas. Además señalan, que cuando la infección ocurre en estadios tempranos resulta en una disminución de la habilidad fotosintética, defoliación y abscisión de flores. En casos severos, Davis et al. ³(Citados por Sanguinetti 2003), manifiestan que las plantas infectadas presentan retraso en la madurez de su fruta y reducen la producción.

³ GUEVARA Black, TERRY Fausto, COELLO Estrella, NORMA Maritza, Tesis, Determinación y caracterización de enfermedades bacterianas del tomate riñón (*Lycopersicon Sculentum*), cultivado bajo invernadero en doce áreas de la cordillera central del Ecuador, ESPE, 2008.



Figura 30. Peca Bacteriana

Condiciones Ambientales Favorables La enfermedad comúnmente ocurre en áreas de alta pluviosidad y humedad (superior al 60%) y con temperaturas más bajas de 18 o 20 °C (Mavunganidze et al. s. f.). Jones et al. (2001) indican por su parte, que la Peca Bacteriana halla su óptimo desarrollo a temperaturas de entre 18 a 24 °C. Por otro lado, Mavunganidze et al. (s. f. citando a Devash), afirman que temperaturas superiores a 52°C pueden matar por completo al patógeno.

Síntomas La multiplicación de esta enfermedad puede generar un amarillamiento generalizado, seguido de desecación foliar. Las lesiones que se forman en los folíolos presentan una coloración entre castaño oscuro y negra; estas lesiones carecen de halo en los estados iniciales de desarrollo pero dicho halo se forma posteriormente (Sanguinetti 2003 & Jones et al. 2001).

Jones et al. (2001) indican, que las lesiones pueden coalescer llegando a producir necrosis en grandes porciones del tejido. Si la enfermedad continua, advierte Álvarez (s. f.), los tejidos afectados se van uniendo

hasta producir la muerte de gran parte del tejido vegetal, la lesión se extiende por toda la hoja pero es más notable en el envés que en el haz.

Las lesiones en tallos y pecíolos se pueden desarrollar con formas ovaladas o elongadas de color café oscuro, los tallos, peciolo, pedúnculos, pedicelos y sépalos son igualmente afectados.

Las lesiones en el fruto, son pequeñas (1 mm), con forma de lunar y superficiales; sin embargo, también pueden ser más grandes y hendidas, y en frutos inmaduros están rodeadas por un halo verde. A primera vista, las lesiones en frutos son aplanadas o ligeramente elevadas sobre la superficie; aunque en algunos casos, las manchas parecen hinchadas.

Las manchas que se desarrollan superficialmente en los frutos, no afectan la pulpa. Los tejidos inmaduros son más susceptibles, al infectarse la fruta temprano, las lesiones con forma de punto pueden causar orificios, debido a que el tejido fino infectado crece más lento que tejido fino sano. Cuando los frutos maduran su acidez le provee cierta resistencia (Sanguinetti 2003).

El control de la Peca Bacteriana se dificulta una vez establecida en los campos, la estrategia a utilizar se basa en eliminar las plantas enfermas tan pronto como se detecten, usar semilla sana, establecer una rotación de cultivos, favorecer la aireación del invernadero para disminuir la humedad y aplicar productos bactericidas (Mavunganidze et al. s. f.; Latorre 1999 & Sanguinetti 2003).

Por otro lado, se deben mantener todos los terrenos de producción libres de malezas y plantas voluntarias, y no amontonar desechos vegetales en o cerca de las zonas de producción (Jones et al. 2001).

El riego por aspersión, aumenta la incidencia cuando la bacteria está presente, y por lo tanto se debe usar en lo posible riego por goteo o surcos; para complementar un manejo integrado en invernaderos es conveniente el control de la humedad, evitando la presencia de agua libre en las plantas, ventilándolos en forma constante (Gabor & Wiebe; Rista citados por Sanguinetti 2003).

Estreptomicina es utilizada para el control de la mancha bacterial, aunque la resistencia a ésta es común en algunas poblaciones, aún cuando el antibiótico es raramente utilizado (Wilson et al. 2002).

Además se establece que aplicaciones de cobre en forma preventiva como caldo bordelés o como oxiclورو de cobre, pueden disminuir la incidencia y la dispersión del organismo patógeno. El cobre proporciona un control parcial de la enfermedad, por lo cual se debe aplicar al aparecer los primeros síntomas y repetir a intervalos de 10 o 14 días si las condiciones frescas y húmedas prevalecen (Jett & Rista; Davis et al.; citados por Sanguinetti 2003).

- El Moteado Bacteriano de la Hoja La Mancha foliar en plantas de tomate es considerado un patógeno débil y oportunista, frecuentemente encontrado en heridas y como un organismo secundario, presente en infecciones mixtas con otros patógenos que causan manchas y necrosis foliares; esta enfermedad usualmente no se encuentra en tomate y en caso de presentarse no es común que se produzca daño económico (Jones et al. 2001 & Sanguinetti 2003).



Figura 31. El Moteado Bacteriano de la Hoja

Condiciones Ambientales Favorables Esta enfermedad se desarrolla a temperaturas bajas y con humedades relativas altas (Blancard 1996).

Síntomas La sintomatología es similar a la producida por la Mancha Bacteriana, pero de mayor tamaño. La sintomatología en hojas pueden variar desde manchas color café sin presencia de halo, hasta manchas color café oscuro con aureolas amarillas brillantes (Sanguinetti 2003 & Blancard 1996).

En ocasiones, el patógeno puede ser aislado de los tejidos marginales necróticos, las zonas extensas quemadas, y los tejidos que aparentemente han sufrido daños por heladas; sin embargo, es necesario aislar la bacteria y realizar pruebas de laboratorio para determinar qué patógeno está involucrado (Jones et al. 2001; Gabor & Wiebe citados por Sanguinetti 2003).

Control La ventilación, eliminación de exceso de humedad en el invernadero, la utilización de productos cúpricos son algunas de las medidas aconsejadas para su erradicación (Blancard 1996).

Las aplicaciones semanales de bactericidas controlan bien esta enfermedad; sin embargo, en la mayoría de los casos las pérdidas

económicas causadas por enfermedad son irrelevantes, y las medidas de control no son necesarias (Jones et al. 2001).

Gabor & Wiebe (citados por Sanguinetti 2003), recomiendan hacer aspersiones de cobre y añaden si se sospecha de esta enfermedad se debe verificar que los síntomas sean causados por *P. syringae* pv. *syringae* y no por otra enfermedad bacteriana que requeriría un control más estricto. Para asegurar que el causante del problema es el Moteado Bacteriano, Jones et al. (2001), recomiendan realizar una caracterización exhaustiva y precisa del agente causal.

- La Mancha Bacteriana o Sarna bacteriana La Mancha Bacteriana está presente en cualquier lugar en el que se cultive tomate o pimiento, aunque es más importante en regiones tropicales y subtropicales, donde la cantidad de precipitación es alta o moderada. La enfermedad está considerada como el mayor limitante de la producción de tomate alrededor de todo el mundo ya que ataca cada una de las partes de la planta



Figura 32. La Mancha Bacteriana

Condiciones Ambientales Favorables el desarrollo de esta enfermedad se ve favorecido con temperaturas templadas (24-30°C) y con un óptimo de 25 °C. Debido a la inexistencia de cultivares resistentes, esta bacteria puede ocasionar problemas muy graves cuando el cultivo es conducido en condiciones de lluvias prolongadas y temperaturas de 22 a 32 °C.

Síntomas Shenge et al. (2007) señala, que esta bacteria ataca a cada una de las partes de la planta de tomate, y que los síntomas de esta enfermedad, aparecen en hojas, flores peciolos, tallos y raíces.

Los primeros síntomas que se observan son el oscurecimiento de las hojas que se vuelven acuosas, apareciendo puntos angulosos de menos de 3 mm de diámetro, que pueden estar rodeados o no de un halo amarillo.

Cuando las condiciones son óptimas para el desarrollo del cultivo, las lesiones producidas en hojas, peciolos, y en el raquis, coalescen y forman estrías oscuras alargadas cuando esto tiene lugar, deviene un marchitamiento generalizado de follaje y las plantas parecen amontonadas debido a una epinastia severa. En frutos inmaduros

produce pequeñas lesiones necróticas, rodeadas de una halo acuoso, posteriormente toman un color pardo y una apariencia sarnosa.

Control El éxito o fracaso del control químico de la bacteria, puede ser en parte atribuido a una mayor o menor eficiencia de los principios activos aplicados, a los cuidados en las épocas de tratamiento y principalmente a la sensibilidad o resistencia de las poblaciones del patógeno a bactericidas comúnmente.

Barros & Rosato (1996) indican que, el control de la enfermedad es proporcionado principalmente por el empleo de bactericidas basados en formulaciones cúpricas y antibióticos como la estreptomina; sin embargo indican, ambos compuestos se han vuelto menos efectivos debido al desarrollo de resistencia por algunas cepas de *Xanthomonas*. Voloudakis et al. (citados por Barros & Rosato 1996) han demostrado que los genes de resistencia al cobre de diferentes aislamientos del agente causal están estrechamente relacionados entre ellos y todas muestran similitudes con el gen *copA* de las *Pseudomonas*. Estudios preliminares apuntan a que aislamientos de *X. campestris pv. versicatoria* acumulan cobre en el periplasma y en la membrana externa.

Para complementar el combate al agente se debe mantener una rotación de cultivos, que permita la total descomposición de los residuos enfermos y la utilización de semilla sana producida en zonas libres de esta bacteriosis.

La EPA plantea como alternativa de control al uso de bacteriófagos, los cuales están dentro de la categoría de virus que manifiestan alta selectividad a bacterias ya que cada fago es específico para cada bacteria.

- **La Marchitez Bacteriana** La Marchitez Bacteriana también conocida como "Podredumbre Bacteriana Sureña" o "Marchitez Bacteriana de las Solanáceas", es una de las más importante patologías en zonas cálidas, templadas subtropicales y tropicales del mundo.

García et al. (1999) indican que, *R. solanacearum* es un organismo cosmopolita con reportes en Asia, África y América se la encuentra también en climas fríos y con grandes altitudes.

Hernández et al. (2005) indican que, *R. solanacearum* ataca a cultivos alimenticios (como el tomate, papa, berenjena, etc.), industriales (como

el tabaco) y ornamentales (como las heliconias) causando en todos ellos la Marchitez Bacteriana.



Figura 33. Marchitez Bacteriana

Condiciones Ambientales Favorables Tanto la infección como el desarrollo de la enfermedad, son favorecidos por temperaturas altas (óptimo a 30-35°C), y humedad elevada (Jones et al. 2001).

Síntomas Los síntomas de esta enfermedad consisten en la flaccidez de algunas de las hojas más jóvenes de la planta luego de lo cual, comienzan con la caída de las hojas basales seguidos por la marchitez total de la planta (Jones et al. 2001 & Álvarez, s .f.).

En los tallos de plantas infectadas pueden aparecer raíces adventicias, siendo éstas más pronunciadas cuando la enfermedad se desarrolla lentamente bajo condiciones inadecuadas para el desarrollo de la enfermedad. En los tallos jóvenes se pueden observar a través de la epidermis rayas oscuras y angostas que corresponden a los haces

vasculares infectados; los cuales con una ligera presión liberan un exudado bacteriano mucilaginoso y lechoso. Cuando se hace un corte longitudinal en el tallo de la planta afectada se puede observar un exudado gris gelatinoso, con una decoloración vascular que va desde un color amarillo a café claro que posteriormente se oscurece y se ahueca a medida que aumenta la enfermedad. Si la infección en el tallo es severa, este inmerso en agua la deja completamente lechosa en 10 a 15 min.

Los síntomas que se observan en las partes subterráneas de la planta están constituidos por un decaimiento radical de intensidad variable, dependiendo del estado de desarrollo de la enfermedad. Inicialmente, sólo un número limitado de raíces muestran una podredumbre parda. Sin embargo, a medida que progresa la enfermedad y que la planta se marchita de forma permanente, la podredumbre parda afecta al sistema radical completo.

Control No existe una estrategia efectiva de control, la utilización de semillas libres de bacterias, el empleo de variedades resistentes, la utilización de injertos con resistencia a esta patología sólo son estrategias de manejo de la enfermedad, por cuanto existen reportes que las variedades resistentes llegan a ser susceptibles bajo temperaturas altas en el campo (Álvarez s. f.; Cartín & Wang 1996).

La Marchitez bacteriana de plantas cultivadas es difícil de combatir en suelos infestados, la rotación utilizando un cultivo no susceptible proporciona cierto control; pero esta medida es difícil de poner en práctica debido a la amplia gama de plantas hospederas del patógeno; durante la rotación se debe destruir residuos y plantas enfermas tan pronto como estas aparezcan (Jones et al. 2001 & Latorre 1999).

- **El Chancro Bacteriano** El Chancro Bacteriano es una enfermedad importante que afecta al tomate cultivado en todo el mundo. Los ataques del Chancro ocurren de forma esporádica, pero pueden llegar a ser devastadores. Produce en la planta de tomate una enfermedad vascular que se manifiesta por medio de una serie de síntomas sistémicos.

Los tomates pueden ser objeto de pérdidas muy severas por la enfermedad en cualquier forma de cultivo; pero el Chancro Bacteriano es especialmente severo en tomate trasplantado o de siembra directa, que haya sido pinzado o podado (Jones et al. 2001).

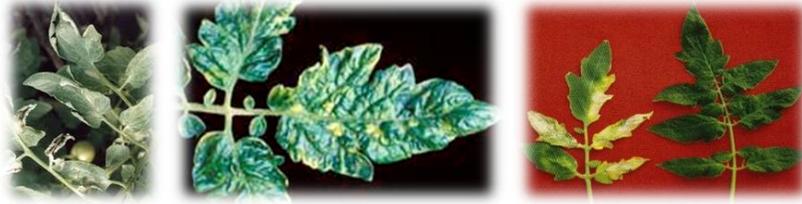


Figura 34. El Chancro Bacteriano

Condiciones Ambientales Favorables Con temperaturas de entre 18 a 24 °C con más del 80% de humedad el agente causal posee condiciones óptimas para su desarrollo (Blancard 1999).

Síntomas El primer síntoma, es una marchitez sistémica de la planta, esto incluye epinastia de las hojas más cercanas al suelo, el abarquillamiento hacia arriba de los márgenes de los folíolos y la marchitez de los folíolos, los que a menudo ocurre de forma unilateral en la hoja por tratarse de una enfermedad vascular se pueden observar hojas o tallos que muestran sus síntomas de marchitez y amarillamiento solo en la mitad de estos.

En la parte interior del tallo se puede observar una tenue decoloración vascular algo rojiza especialmente en la base de la planta. En plántulas de invernadero las lesiones pueden aparecer como pústulas elevadas e hojas y tallos. Estas plantas raramente sobreviven un ciclo completo.

Bajo determinadas condiciones, pueden formarse en las hojas un moteado de coloración verde pálida a blanca cremosa, constituido por pequeñas manchas parecidas a ampollas; alrededor de estas se van produciendo anillos oscuros de tejido necrótico. A medida que se distribuye la infección, amarillean los folíolos, y tiene lugar el oscurecimiento de las nerviaciones foliares (Jones et al. 2001).

Control La eliminación de los focos de contaminación así como de las plantas próximas es una medida de evitar la propagación de la enfermedad en el invernadero; si ya se encuentra atacado un sector importante, se debe poner en cuarentena y realizar cualquier actividad cultural después de la zona sana.

Se aconseja una rotación de cultivos con al menos un año libre de tomate, cuando sea posible practique la siembra directa y elimine completamente los residuos enfermos.

CAPÍTULO II

2.1. El Agua activada

2.1.1. Origen e Importancia del Agua activada

En 1972 el ingeniero ruso V.M. Bakhita fue el primero en mencionar un hecho desconocido la reacción Anódica y Catódica en agua con bajos niveles de minerales disueltos generada en un reactor electroquímico, donde los parámetros físicos y químicos y la reactividad que de esta agua se diferenciaban notablemente del agua natural, es decir se generaban soluciones estables de ácidos o bases. La investigación mostró que las diferencias entre las propiedades físicas y químicas de los dos tipos de soluciones no permanecen constantes y estables en el tiempo, y que primero se somete a un cambio espontáneo durante un período llamado "relajación" para llegar a valores de equilibrio. Por esta razón este tipo de soluciones Bakhita es llamada "activa" durante este período de relajación.

El agua activada fué descubierta por un grupo de científicos en la Universidad de Tashken, bajo la dirección del Doctor de Ciencias y Catedrático S. Alehin. Los científicos tenían como objetivo descubrir una nueva composición de emulsión, que se utiliza durante los sondeos en la búsqueda de gas y petróleo. Durante el proceso de la investigación en el

laboratorio del instituto, cuyo tutor era el ingeniero jefe V. Bahin, entre los electrodos sujetaron un diafragma que dejaba pasar los iones pero no las moléculas del agua evitando que se mezclen. Como resultado de la electrólisis, al pasar el tiempo el agua en cada parte del recipiente adquiría cualidades completamente distintas: en la parte del ánodo se volvía ácida y con carga positiva, en la parte del cátodo, alcalina, blanda y con carga negativa. La carga es conocida como potencial de oxidación y reconstrucción. El objetivo de los científicos se había cumplido y el agua se aplicó en los sondeos. Los obreros que trabajaban allí utilizaban esta agua para lavarse y notaron que las pequeñas heridas rápidamente se cicatrizaban e incluso algunos experimentaron la total desaparición del eczema.

2.1.2. Características

El agua ácida (anolito) no tiene color, es un líquido transparente, ligeramente amarillento, con un sabor y un olor ácido. Esta agua es un remedio bactericida y desinfectante excelente. Desacelera los procesos biológicos en el organismo del ser humano y los animales, baja la presión arterial, calma los nervios, mejora el descanso y disminuye los dolores en las articulaciones. El agua ácida desinfecta muy bien vendas, ropa, calzado, productos alimentarios, fruta, verdura, hasta recintos o terrenos. Tiene un efecto rápido sobre el catarro, los dolores de garganta durante los resfriados, corta la diarrea. Es fácil preparar agua ácida con $\text{pH}=5,5$ que se puede utilizar para limpiar en vez de diferentes productos que cuestan mucho dinero. Además el agua ácida tiene una carga positiva alrededor de 0,9-1,1 voltios lo que potencia su efecto. Guardándola en recipientes bien cerrados mantiene sus cualidades durante tres semanas.

El agua alcalina (catolito) es más turbia, de color grisáceo, sin olor, con un sabor alcalino, muy blanda. Después de un corto tiempo los sedimentos caen al fondo y el agua se hace transparente. Cuando peor sea la calidad del agua a tratar más sedimentos se formarán. En estos sedimentos se concentran los radionúclidos que contiene el agua. Así también se consigue un efecto adicional, ablandar y limpiar el agua. El

agua alcalina es un excelente remedio estimulante y tonificante. Acelera los procesos en el organismo, sube la presión arterial, mejora la asimilación de los alimentos, acelera el metabolismo, mejora el apetito, proporciona vitalidad y energía. Rápidamente cura diferentes heridas, desde pequeños roces a irritaciones en la piel e incluso úlceras del estómago y el duodeno. El agua alcalina reaviva las flores marchitadas que se mantienen frescas largo tiempo. Las semillas sumergidas en agua alcalina antes de plantarlas brotan más rápido, cuando se riega a menudo con agua alcalina la cosecha es más abundante y madura más rápido. El agua alcalina es un medio excelente para desengrasar superficies, estimular el crecimiento de las mascotas. Aparte de las cualidades alcalinas este agua tiene una carga negativa alrededor de 0,8-0,9 voltios. Pierde sus cualidades más rápido que el agua ácida, dura una semana si está guardada en un recipiente bien cerrado.

Las cualidades del anolito y el catolito son completamente diferentes. Al mezclar el anolito con el catolito se forma de nuevo agua neutra. Por esta razón, cuando es necesario utilizar los dos tipos de agua con fines curativos, entre la ingestión de los dos tipos de agua es necesario que pase una hora. El agua activada con sus parámetros electrolíticos se acerca mucho a los líquidos corporales (sangre, líquido celular etc.), por esto se incorpora enseguida en la actividad vital del organismo y afecta

positivamente al balance energético del organismo. Es importante el hecho de que es un producto natural, conseguido a través de un proceso físico, que ayuda a que se activen las fuerzas internas del organismo. No es recomendable guardar el agua activada en el frigorífico. Las pruebas demuestran que enfriarla no aumenta el tiempo de conservación de sus cualidades. Si se lleva a ebullición pierde rápidamente sus cualidades, por lo que no se recomienda hacer reservas de agua activada. Siempre es mejor usarla fresca y los restos aprovecharlos para regar las flores o limpiar.

2.1.3. Usos del agua activada

El cirujano, Dr. Kasimov probó el agua ácida para esterilizar el instrumental y la alcalina en el tratamiento de las heridas postoperatorias. Los resultados fueron positivos. Los científicos del Instituto de Kazajstán probaron el efecto del agua activada sobre un cultivo de algodón y de nuevo constataron el efecto estimulante del agua alcalina y el efecto bactericida del agua ácida. Se sigue investigando en el Instituto Químico-Tecnológico de Kazajstán, el Instituto de Mecanización en la Agricultura de Bielorrusia, el Instituto de Avicultura Industrial, Instituto de Industria Agroalimentaria de Moscú, en varios hospitales y fábricas en diferentes zonas de Rusia. El agua activada es conocida y se utiliza entre otros países en Alemania, Polonia,

India, Israel y Bulgaria. En Japón, donde se producen más de 100.000 activadores al año, y en Uzbequistán el agua activada está oficialmente reconocida y aplicada en tratamientos de salud. Hace mucho tiempo se sabe que el agua activada no es tóxica y se puede aplicar de manera externa e interna. El catedrático Sanetaca Shirahata de la Universidad de las Tecnologías Genéticas de Investigación afirma: "Yo analicé el agua y descubrí que contenía una alta concentración de hidrógeno activo. Normalmente el hidrógeno existe como moléculas de hidrógenos que contienen 2 átomos de hidrógeno (H) con una relación inestable entre sí." Según Shirahata, el hidrógeno raras veces existe como hidrógeno atómico. El hidrógeno atómico se llama hidrógeno activo y el agua activada contiene varias veces más hidrógeno activo que el agua normal. ¿Qué efecto tiene el hidrógeno activo sobre el cuerpo humano? El Catedrático Sanetaca Shirahata dice: "Últimamente se ha comprobado que el hidrógeno activo ayuda en la prevención y tratamiento de una serie de enfermedades" La riqueza de hidrógeno activo se puede conseguir artificialmente mediante una reducción electrolítica de la materia. Esto tiene un efecto positivo en el tratamiento de muchas enfermedades. En el hospital Koya de Japón utilizan la reducción electrolítica de la materia como parte del tratamiento desde hace más de 10 años. Beber varios litros de agua reducida electrolíticamente, hace que aumente el efecto curativo. Dr. Mineori

Kavamura, encargado del Hospital de Koya dice: "Beber agua reducida electrolíticamente, permite a los pacientes interrumpir el tratamiento con medicamentos mucho antes de lo previsto. Esto puede ser el resultado de reforzar el tratamiento por un lado y reforzar el sistema inmune por otro". El Catedrático Shirahata afirma que igual que la materia electrolíticamente reducida, el agua activada contiene hidrógeno activo, y su alta concentración lleva a su poder curativo.

En la agricultura el agua activada ha sido utilizada para incrementar la producción como en el organopónico del Instituto de Investigaciones de Riego y Drenaje de la Habana, donde se realizó una investigación durante 2 años sobre la aplicación del agua activada en el riego del tomate variedad Rilia, teniendo un incremento de los frutos por plantas del 38%, siendo el rendimiento total superado en 26% con el riego de agua activada.

CAPITULO III

3.1. Obtención y siembra de muestras

3.1.1. Obtención de muestras

Primero se realizó un muestreo aleatorio, las muestras se tomaron de 6 filas, de cada planta seleccionada se eligió tres ramas y de estas tres hojas con afecciones fitopatógenas. De las hojas seleccionadas se valoraron las características y se escogieron las más representativas para la obtención de los microorganismos fitopatógenos, según la sintomatología presentada. Se realizó tres muestreos con una diferencia de una semana cada una, para obtener los microorganismos que afectan a la planta en todo su crecimiento.

El cultivo de donde se obtuvieron las muestras fue de la plantación de tomate cultivada en el invernadero y fuera de este perteneciente al Ing. Pablo Arévalo, ubicada en la granja de Paute de la Universidad Politécnica Salesiana, es importante destacar que las muestras fueron tomadas de las filas testigo, es decir que no recibieron ningún tipo de tratamiento que pudiera influir en el desarrollo de los microorganismos.



Foto 1. Cultivo de tomate sin invernadero
(Fuente: las Autoras)



Foto 2. Cultivo de tomate en invernadero
(Fuente: las Autoras)



Foto 3. Primer muestreo
(Fuente: las Autoras)



Foto 4. Segundo muestreo
(Fuente: las Autoras)



Foto 5. Tercer muestreo
(Fuente: las Autoras)

3.1.2. Siembra de muestras

Posteriormente las muestras seleccionadas fueron lavadas cortadas y sembradas en Agar Nutritivo preparado en cajas petri. (Anexo1)



Foto 6. Muestra de hongo (*Oidium sp.*)
(Fuente: las Autoras)



Foto 7. Siembra de muestras en cajas petri
(Fuente: las Autoras)

3.1.3. Aislamiento y caracterización de microorganismos

3.1.3.1. Aislamiento de microorganismos

Al tener los cultivos de bacterias y hongos estos fueron separados a cajas petri con Agar PDA y Agar TSA respectivamente.



Foto 8. Cultivo de Bacterias
(Fuente: las Autoras)

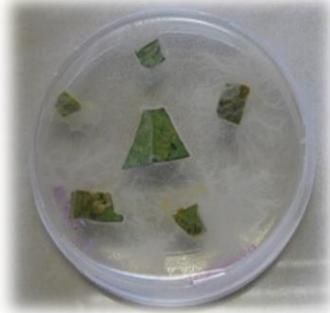


Foto 9. Cultivo de Hongos
(Fuente: las Autoras)

Y al tener cultivos con una sola especie de hongo o bacteria, se sembró en tubos de ensayo para obtener cultivos puros y poderlos caracterizar.

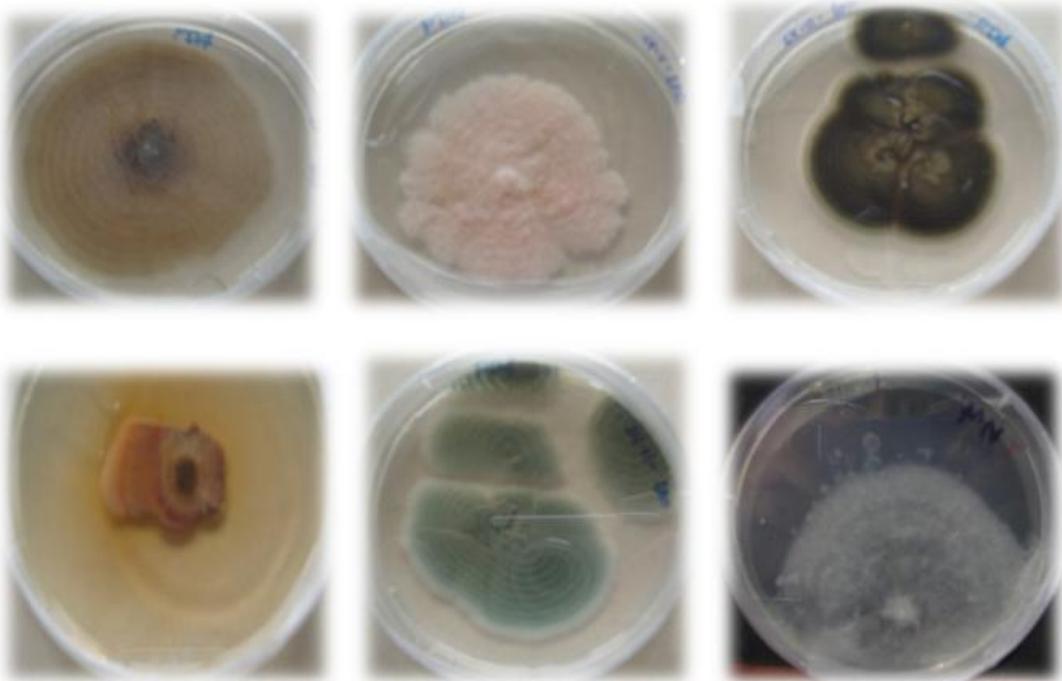


Foto 10. Hongos
(Fuente: las Autoras)



Foto 11. Hongos sin identificar
(Fuente: las Autoras)



Foto 12. Bacterias
(Fuente: las Autoras)



Foto 13. Bacterias sin identificar
(Fuente: las Autoras)

3.2. Caracterización

3.2.1. Caracterización de hongos

Para la caracterización de los hongos se realizaron cultivos en cámaras de humedad que observamos en el microscopio para comparar su morfología con la bibliografía consultada. (Anexo2)

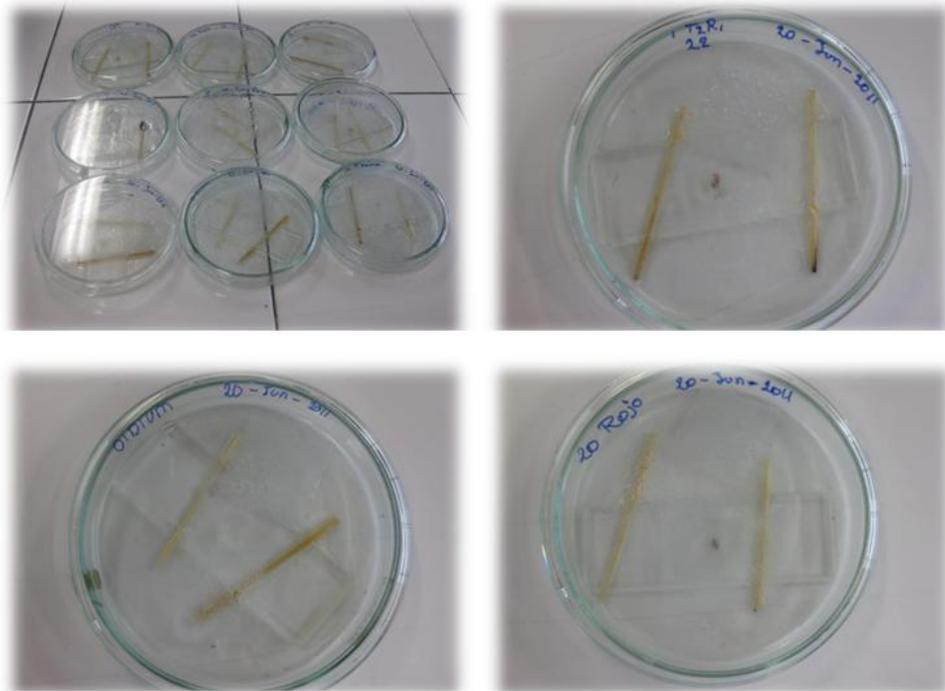


Foto 14. Hongos en Cámaras de Humedad
(Fuente: las Autoras)

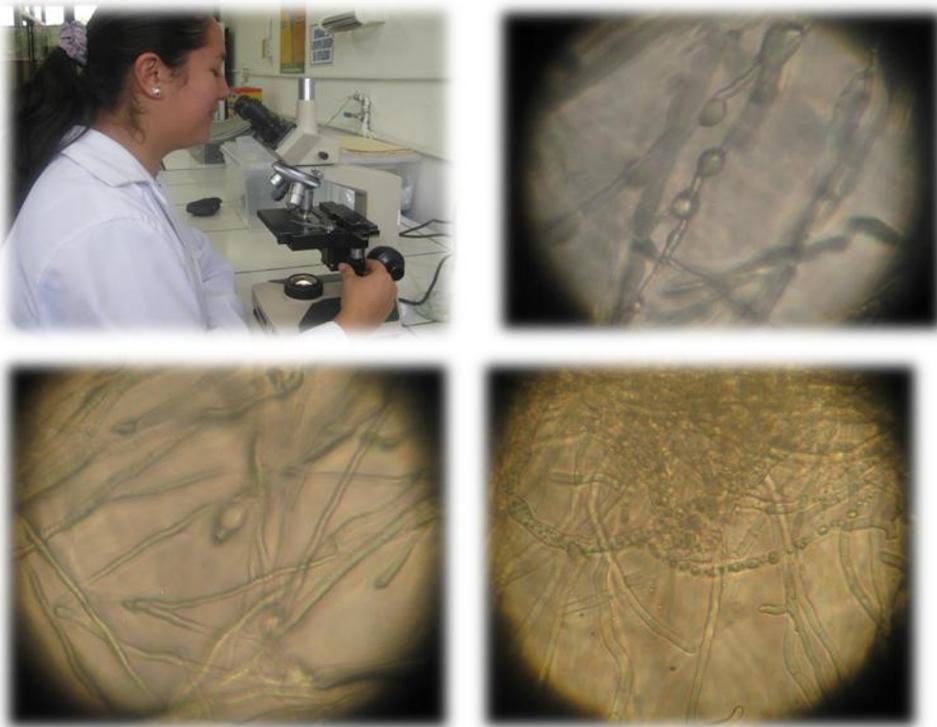
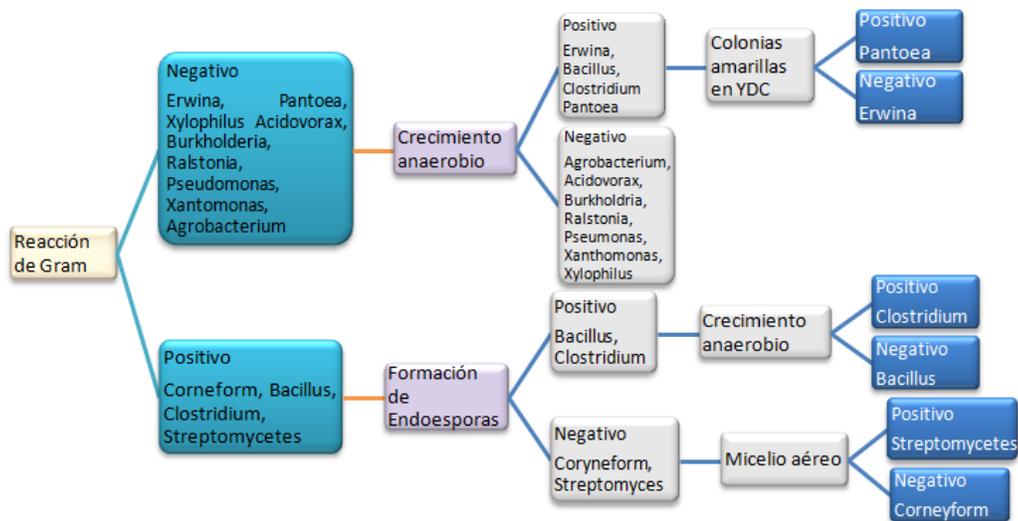


Foto 15. Estructura de hongos vistos en el microscopio
(Fuente: las Autoras)

Se identificó la morfología y comparó con la sintomatología presentada confirmando el género de los hongos en estudio.

3.2.2. Caracterización de bacterias

La caracterización de las bacterias se realizó mediante pruebas bioquímicas que permiten identificarlas por el género.



Esquema 1. Procedimiento para determinar el género de las bacterias fitopatógenas

Las pruebas realizadas fueron las siguientes:

- **Reacción de Gram:**

Se realizó un frotis para la tinción de Gram y se observó al microscopio. Coloración azul si es Gram positivo y Coloración violeta o rosa si es Gram negativo. (Anexo3)

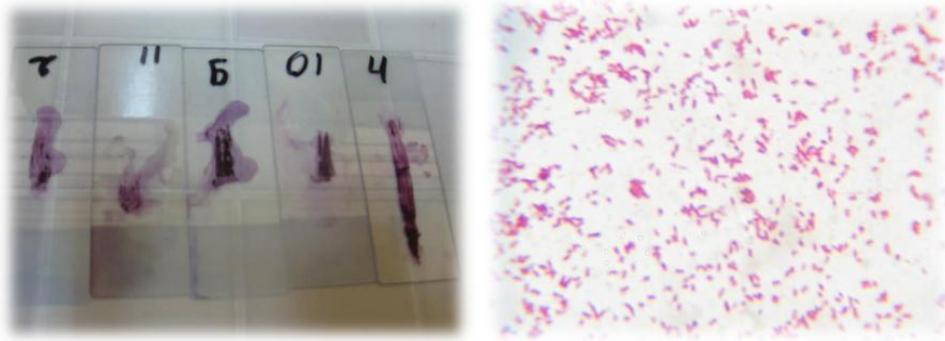


Foto 16. Tinción de Gram
(Fuente: las Autoras)

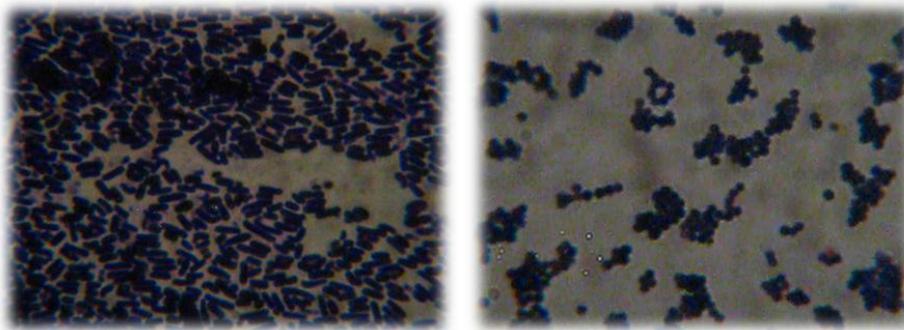


Foto 17. Bacterias vistas al microscopio
(Fuente: las Autoras)

- **Formación de esporas:**

Se estimuló a la muestra mediante humedad y la elevación de la temperatura para ver si forman esporas, el frotis se tiñó con verde de malaquita al 5% y se observó al microscopio. (Anexo4)

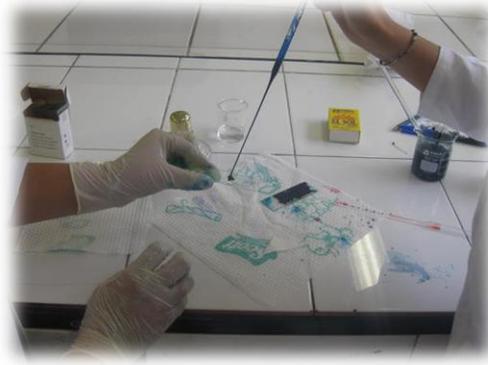


Foto 18. Tinción con verde de malaquita a las muestras
(Fuente: las Autoras)

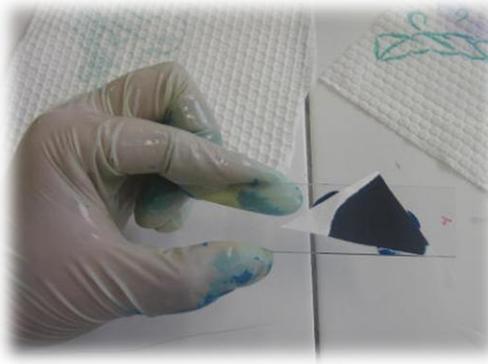


Foto 19. Muestras cubiertas con papel absorbente
(Fuente: las Autoras)

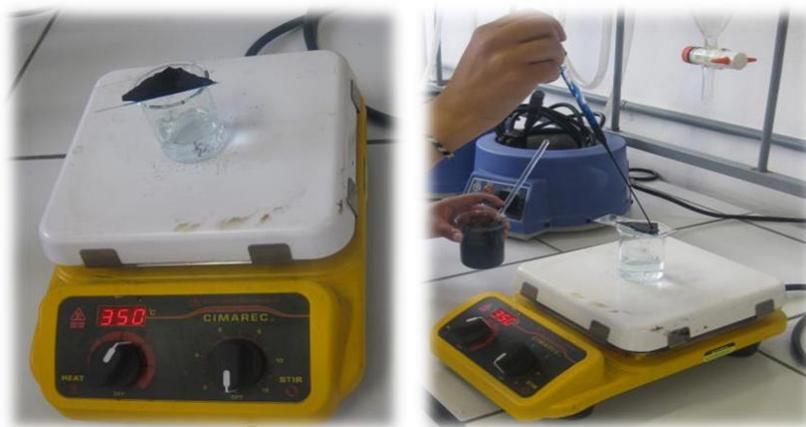


Foto 20. Generación de vapor para formación de esporas
(Fuente: las Autoras)

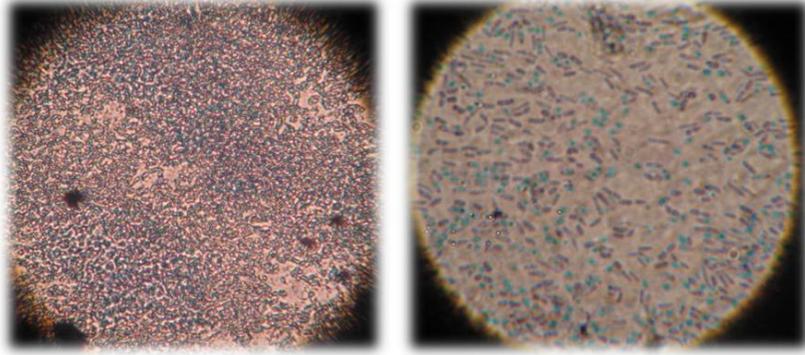


Foto 21. Esporas vistas al microscopio
(Fuente: las Autoras)

- **Crecimiento anaerobio:** se realizó un cultivo en una cámara de anaero-cultivo donde se observó si existió o no crecimiento de la bacteria. (Anexo5)



Foto 22. Jarra de anaerobiosis

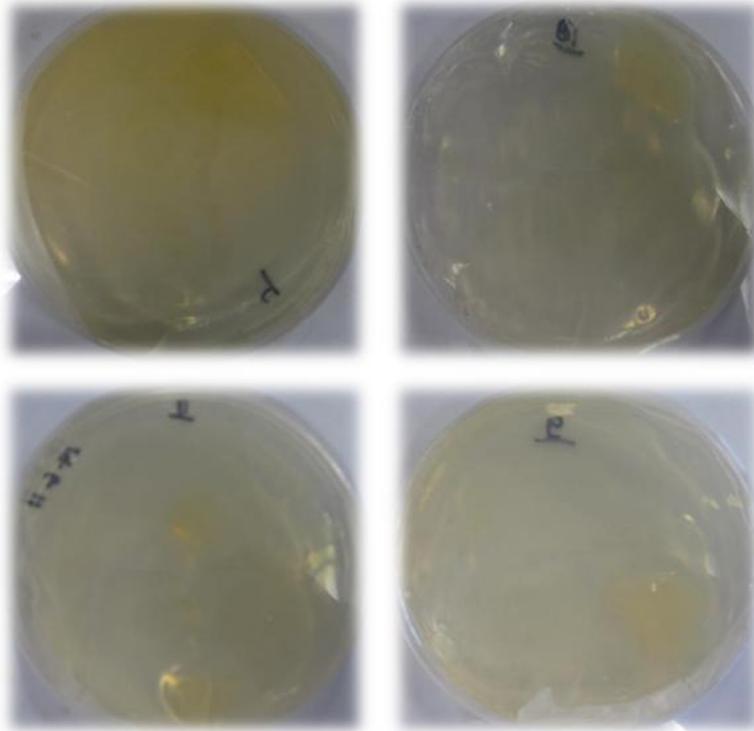


Foto 23. Bacterias luego de 24h en la jarra de anaerobiosis
(Fuente: las Autoras)

- **Crecimiento en Agar ⁴YDC:** se sembró las bacterias en cajas petri con agar YDC y se observó la coloración de la colonia formada. Determinando que es positiva si tiene una coloración amarilla. (Anexo 6)

⁴ YDC: Yeast extract-dextrose-CaCO₃



Foto 24. Bacterias luego de sembradas en Agar YDC
(Fuente: las Autoras)

3.3. Actividad biocida y fungicida del agua activada

3.3.1. Preparación del Agua Activada

En una probeta se colocó 7gr de muriato de potasio (Cloruro de potasio), con la ayuda de una varilla se agitó hasta disolver la mayor cantidad de gránulos, filtrar la solución y medir el pH, regular a 3.5 el pH adicionando gotas de ácido clorhídrico, luego colocar los electrodos en la solución y dejar actuar por 6 minutos, sacar los electrodos y medir el pH, regular nuevamente con ácido clorhídrico hasta un pH de 6.5 almacenar en una botella.



Foto 25. Agua destilada con CIK
(Fuente: las Autoras)



Foto 26. Filtración del agua
(Fuente: las Autoras)



Foto 27. Medición de pH del agua filtrada
(Fuente: las Autoras)



Foto 28. Reducción del pH a 3.5 con HCl.
(Fuente: las Autoras)



Foto 29. Activación del agua con el electrodo
(Fuente: las Autoras)



Foto 30. Medición de pH del agua activada
(Fuente: las Autoras)



Foto 31. Reducción de pH a 6.5 con ClH
(Fuente: las Autoras)

3.3.2. Pruebas para determinar la capacidad biocida y fungicida del Agua Activada

Para realizar las pruebas de crecimiento se colocó 1ml de agua destilada y 1 mg de la cepa aproximadamente para luego hacer una dilución del 1/100 para los hongos y 1/10000 para las bacterias, por lo que para obtener la cantidad de hongos en la solución original se debería multiplicar por 100 y para determinar el número de bacterias en la solución original se debería multiplicar por 10000. A esto se le adicionó el agua activada con diferentes concentraciones.⁵

Las primeras pruebas se realizaron con concentraciones de 200ppm, 400ppm, 600ppm de agua activada, para esto se tomó una muestra de la cepa y se la inoculó con agua activada. Además se realizó varias pruebas con concentraciones de 100ppm, 60ppm, 30ppm, 19ppm, 17ppm, 15ppm, 10ppm, 9ppm, 8ppm, 7ppm, 5ppm, 4ppm, 3ppm, 2ppm y 1ppm, para determinar el límite de crecimiento de cada microorganismo.

Se realizaron tres testigos para observar el crecimiento sin agua activada y tres réplicas de la muestra con agua activada.

⁵ UNAM, "Manual de técnicas de laboratorio", 2005.



Foto 32. Siembra de microorganismos a distintas ppm
(Fuente: las Autoras)

Se esperó que crecieran los microorganismos y se contó las colonias crecidas.

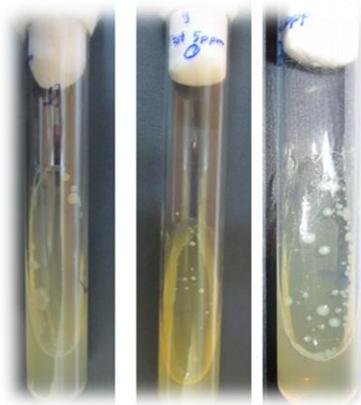


Foto 33. Bacterias sembradas
(Fuente: las Autoras)

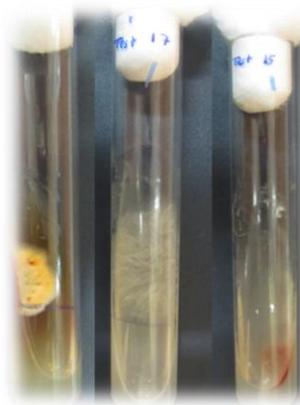


Foto 34. Hongos sembrados
(Fuente: las Autoras)

Además de esta metodología se realizaron pruebas del crecimiento del *Oidium* con una concentración de 200ppm, 400ppm, 600ppm con la metodología aplicada en la tesis de Martina Donatoni.

Esta metodología consiste en poner una muestra de la cepa en el medio de cultivo preparado con agua activada a las concentraciones establecidas.

CAPITULO IV

4.1. Resultados, Análisis y Discusión

4.1.1. Resultados

Los resultados obtenidos en la identificación de los microorganismos fueron los siguientes:

Las tres bacterias identificadas fueron:

- *Bacillus sp.*
- *Erwinia sp.*
- *Pantoea sp.*

Los tres hongos identificados fueron:

- *Alternaria sp*
- *Oidium sp*
- *Verticillium sp*

Los datos de crecimiento a los 5 días en los diferentes medios de cultivo, medidos en centímetros de forma radial fueron:

MEDIO DE CULTIVO	BACILLUS sp.	PANTOEA sp.	ERWINIA sp.	OIDIUM sp.	VERTICILLIUM sp.	ALTERNARIA sp.
PDA	5,5	5,5	8,5	3,5	2,3	1,9
PDA	6,4	6,3	8,3	3,2	2,9	2,5
PDA	4,8	4,9	9,0	5,5	2,1	1,7
TSA	8,6	9,0	11,6	3,4	1,8	1,3
TSA	9,0	9,2	11,3	3,1	1,3	1,5
TSA	8,7	8,6	10,8	2,1	1,5	1,1
NUT	7,5	6,9	9,1	2,5	1,1	1,5
NUT	7,3	7,8	8,6	2,9	1,3	0,8
NUT	8,3	7,3	9,3	2,3	1,9	1,4

Tabla 1. Resultados del crecimiento en diferentes medios de cultivo

(Fuente: las Autoras)

Se realizaron pruebas de crecimiento con las siguientes concentraciones: 1ppm, 2ppm, 3ppm, 4ppm, 5ppm, 6ppm, 7ppm, 8ppm, 9ppm, 10ppm, 15ppm, 17ppm, 19ppm, 30ppm, 60ppm, 120ppm, 200ppm, 400ppm, 600ppm, donde se evidenció que a concentraciones mayores a 9ppm no existe crecimiento de ninguno de los microorganismos de estudio.

Para lo cual se realizaron pruebas con concentraciones menores hasta encontrar la concentración máxima en la cual existe crecimiento de cada uno de los microorganismos en estudio, teniendo los siguientes resultados:

En cuanto a bacterias los límites de crecimiento con agua activada fueron para *Bacillus sp.* de 2ppm, para *Erwinia sp.* de 9ppm y para *Pantoea sp.* de 1ppm, ya que en cantidades superiores no se registró ningún crecimiento.

Para los hongos los límites de crecimiento fueron en el caso del *Oidium sp.* fué de 2ppm, para el *Verticillium sp.* 1ppm y de *Alternaria sp.* 8ppm.

Para la metodología tomada de la tesis de Martina Donatoni se obtuvieron los siguientes resultados para el crecimiento del *Oidium sp.* en agar PDA.

Concentración de Agua Activada	Crecimiento 5to. Día (cm)
200ppm	2,7
200ppm	2,5
200ppm	2,6
400ppm	2,7
400ppm	2,5
400ppm	2,1
600ppm	1,6
600ppm	1
600ppm	1,5

Tabla 2. Crecimiento del *Oidium sp.* en diferentes concentraciones de agua activada. (Fuente: las Autoras)

Estos datos no fueron considerados en el análisis al tener un informe dado por Martina Donatoni que indica que el agua activada altera las propiedades del medio de cultivo.

Las tablas de resultados obtenidos en las pruebas con agua activada son las siguientes:

Tabla 3. Límite de crecimiento de hongos y bacterias estudiadas en medios de cultivo con agua activada (Fuente: las Autoras)

BACTERIAS

Microorganismo: *Bacillus sp.*

<i>Bacillus sp.</i>	Testigos			Agua activada		
# Réplica	1ppm	2ppm	3ppm	1ppm	2ppm	3ppm
1	55	35	33	53	34	0
2	32	40	36	53	18	0
3	60	36	38	57	11	0

Microorganismo: *Erwinia sp.*

<i>Erwinia sp.</i>	Testigos				Agua activada			
# Réplica	1ppm	5ppm	9ppm	10ppm	1ppm	5ppm	9ppm	10ppm
1	32	44	0	20	13	10	3	0
2	37	44	1	23	2	18	1	0
3	35	50	2	25	24	6	1	0

Microorganismo: *Pantoea sp.*

<i>Pantoea sp.</i>	Testigos		Agua activada	
# Réplica	1ppm	2ppm	1ppm	2ppm
1	12	10	2	0
2	31	8	21	0
3	10	6	3	0

NOTA: Los datos están expresados en número de colonias crecidas en el medio de cultivo.

HONGOS

Microorganismo: *Oidium sp.*

<i>Oidium sp.</i>	Testigos			Agua activada		
# Réplica	1ppm	2ppm	3ppm	1ppm	2ppm	3ppm
1	1	3	2	2	1	0
2	2	1	1	1	3	0
3	1	2	4	1	1	0

Microorganismo: *Verticillium sp.*

<i>Verticillium sp.</i>	Testigos		Agua activada	
# Réplica	1ppm	2ppm	1ppm	2ppm
1	2	1	1	0
2	2	1	2	0
3	1	2	1	0

Microorganismo: *Alternaria sp.*

<i>Alternaria sp.</i>	Testigos		Agua activada	
# Réplica	8ppm	9ppm	8ppm	9ppm
1	2	4	2	0
2	1	1	1	0
3	1	1	1	0

NOTA: Los datos están expresados en número de colonias crecidas en el medio de cultivo.

4.1.2. Análisis y Discusión

Nuestro trabajo investigativo consta de dos fases principales para la obtención de resultados; por esto se decidió dividir en dos fases el análisis estadístico las que se presentan a continuación:

- a) Selección del medio de cultivo
- b) Capacidad biocida y fungicida del agua activada

4.1.2.1. Fase 1: Selección del medio de cultivo

El objetivo de esta fase es demostrar si el medio de cultivo influye en el crecimiento de los microorganismos estudiados y determinar cuál es el mejor para el desarrollo de cada especie, para lo cual nos planteamos un diseño totalmente al azar, con un solo factor que fue el medio de cultivo y con tres niveles que fueron los tipos de agar ⁶PDA, ⁷TSA y ⁸NUTRITIVO. Para realizar el análisis estadístico se utilizó el software Minitab® 15.1.30.0., 2007, versión español.

A continuación se presenta el análisis para cada microorganismo estudiado.

a) Análisis para *Bacillus sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el medio de cultivo influye en el crecimiento de *Bacillus sp.* e identificar cuál es el mejor medio de

⁶ PDA: Agar dextrosa de patata

⁷ TSA: Agar trypticase soja

⁸ NUTRITIVO: Agar nutritivo

cultivo para su desarrollo, para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H0= El crecimiento del *Bacillus sp.* no varía según el medio de cultivo.

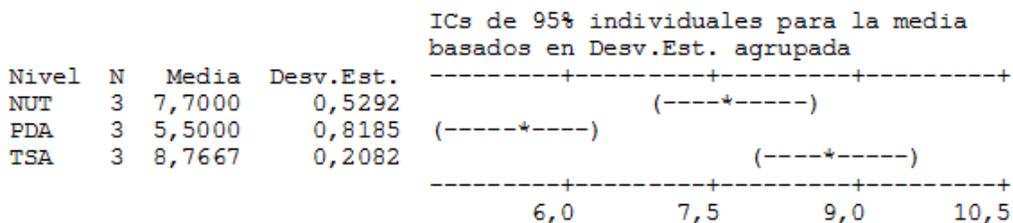
H1= El crecimiento del *Bacillus sp.* varía según el medio de cultivo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla 1.

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	16,649	8,324	25,14	0,001
Error	6	1,987	0,331		
Total	8	18,636			

S = 0,5754 R-cuad. = 89,34% R-cuad. (ajustado) = 85,79%



Desv.Est. agrupada = 0,5754

Se puede observar que el valor de P indicado en la tabla del ANOVA es de 0.001 siendo menor al error tomado para realizar este análisis estadístico que es de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 89,34 que nos indica que el modelo realizado es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que la mayor diferencia presentada es en PDA al tener los valores más bajos de crecimiento

medidos en cm del radio de crecimiento de la bacteria y en la que mayor crecimiento se obtuvo fue en TSA.

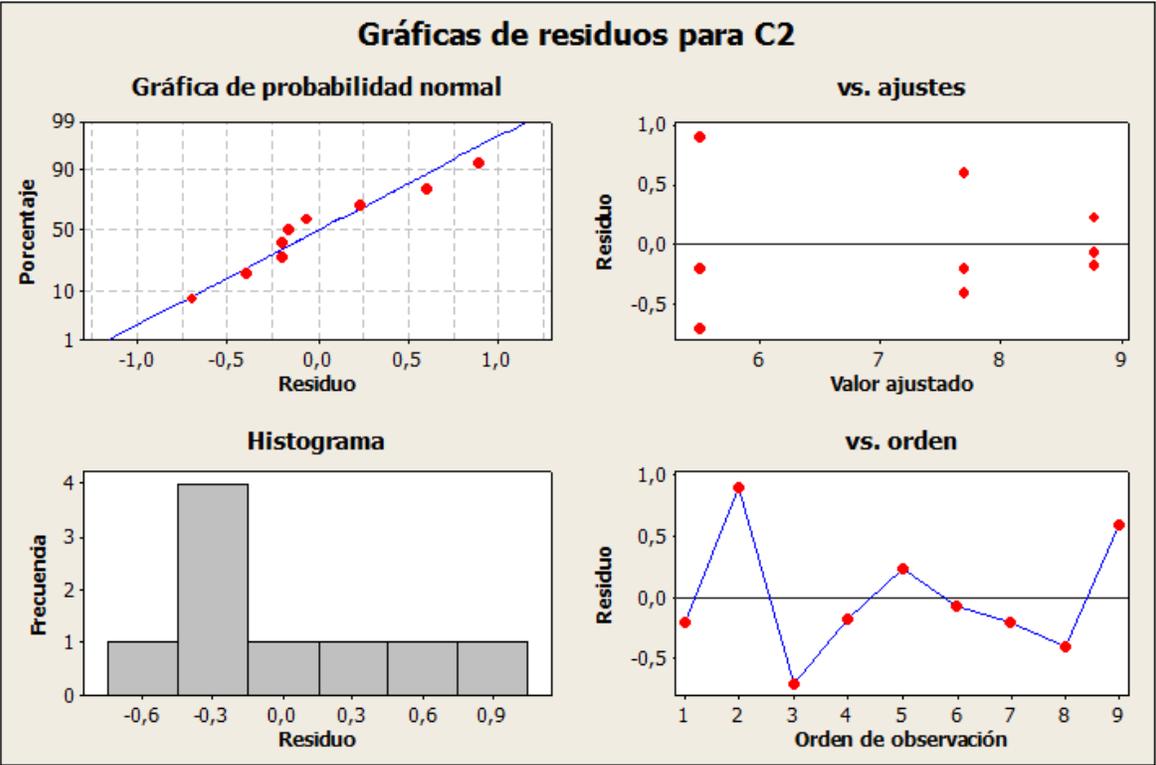


Ilustración 1. Gráficas de residuos para *Bacillus sp.*
(Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que existe una distribución sesgada y que los datos son dispersos con una asimetría positiva. En la gráfica de residuos versus Valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación cerca de la línea cero o que tengan

una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí.

Según estos resultados estadísticos obtenidos se rechaza la hipótesis H_0 y se puede concluir que si existe una influencia del medio de cultivo en el crecimiento de *Bacillus sp.* Por lo que a continuación se realiza un análisis para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para el crecimiento de la especie en estudio. Con la finalidad de lograr nuestro objetivo nos planteamos las siguientes hipótesis.

H_0 = El TSA no es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Bacillus sp.* presente en el tomate de mesa.

H_1 = El TSA es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Bacillus sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para *Bacillus sp.* se realizó MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor) el que se presenta a continuación:

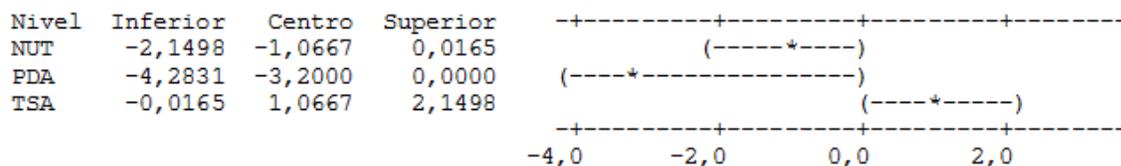
MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor)

MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor)

Nivel de significancia de la familia = 0,05

Valor crítico = 2,34

Intervalos para media de los niveles menos la mayor de las medias de otros niveles



Basándose en los intervalos de confianza, se concluye que en el agar TSA es el mejor al existir mayor crecimiento de *Bacillus sp.* (media más alta) que en los Agares PDA y NUTRITIVO. Sin embargo, no hay evidencia que sugiera una diferencia significativa entre los agares TSA, PDA y NUTRITIVO porque sus intervalos de confianza contienen cero (ninguna diferencia).

Según los datos obtenidos en este análisis estadístico se decidió trabajar con el agar TSA para realizar las pruebas de determinación de la capacidad biocida del agua activada para *Bacillus sp.*, aceptando la hipótesis H1.

b) Análisis para *Pantoea sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el medio de cultivo influye en el crecimiento de *Pantoea sp.* e identificar cuál es el mejor medio de cultivo para su desarrollo, para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H₀ = El crecimiento de *Pantoea sp.* no varía según el medio de cultivo.

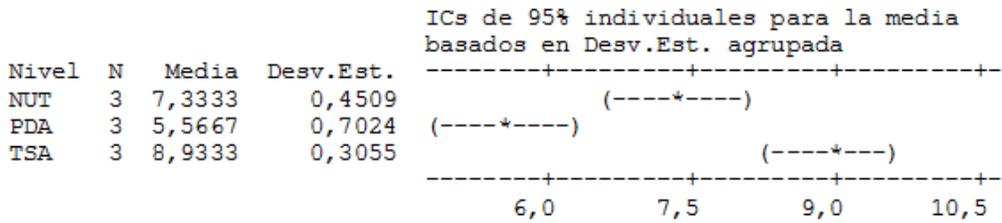
H₁ = El crecimiento de *Pantoea sp.* varía según el medio de cultivo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla1.

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	17,016	8,508	32,31	0,001
Error	6	1,580	0,263		
Total	8	18,596			

S = 0,5132 R-cuad. = 91,50% R-cuad.(ajustado) = 88,67%



Desv.Est. agrupada = 0,5132

Se puede observar que el valor de P indicado en la tabla del ANOVA es de 0.001 siendo menor al error tomado para realizar este análisis estadístico que es de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 91,50 que nos indica que el modelo realizado es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que existe una diferencia similar entre las medias de PDA y TSA con relación a las medias de PDA y NUTRITIVO, teniendo la mayor diferencia de los datos entre PDA y TSA al tener los valores más bajos de crecimiento medidos en cm del radio de crecimiento de la bacteria en PDA y en la que mayor crecimiento se obtuvo fue en TSA.

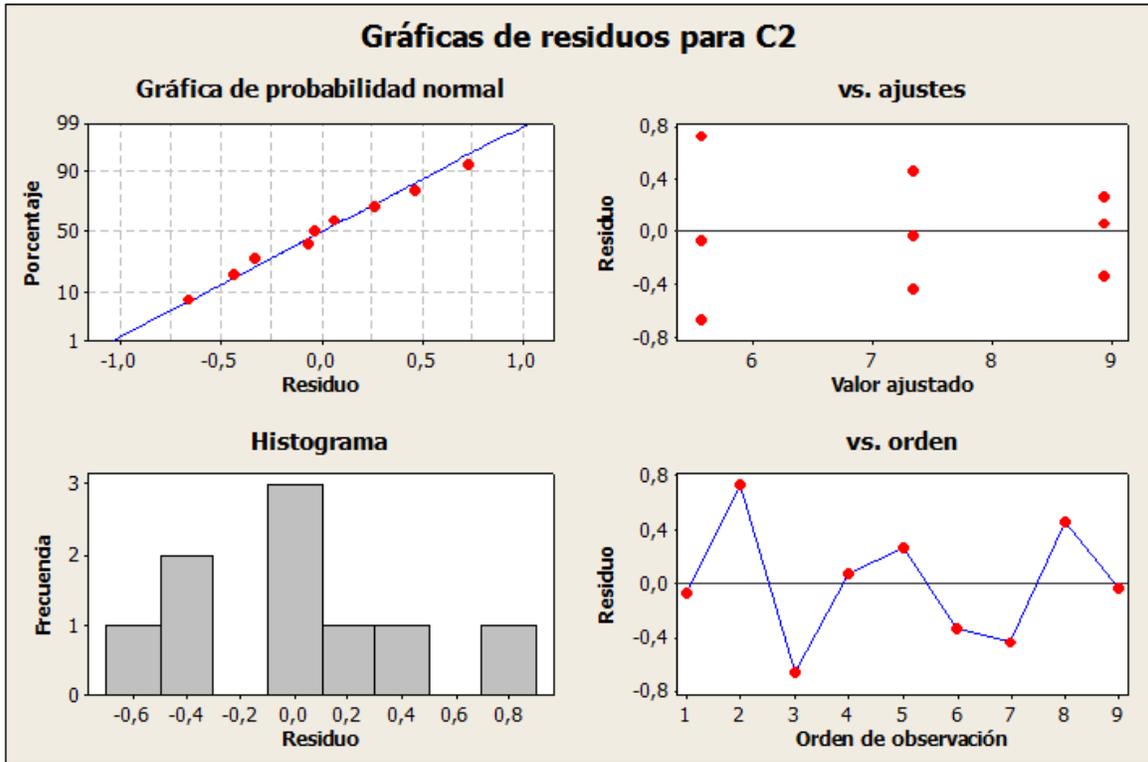


Ilustración 2. Gráficas de residuos para *Pantoea sp.*
(Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que existe una distribución campanoide y que los datos son dispersos con una asimetría positiva, además se observan valores atípicos esto se debe a que los valores de crecimiento son muy diferentes entre sí. En la gráfica de residuos versus Valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación

cerca de la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí.

Según estos resultados estadísticos obtenidos se rechaza la hipótesis H_0 y se puede concluir que si existe una influencia del medio de cultivo en el crecimiento de *Pantoea sp.* Por lo que a continuación se realiza un análisis para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para el crecimiento de la especie en estudio. Con la finalidad de lograr nuestro objetivo nos planteamos las siguientes hipótesis.

H_0 = El TSA no es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Pantoea sp.* presente en el tomate de mesa.

H_1 = El TSA es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Pantoea sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para *Pantoea sp.* se realizó MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor) el que se presenta a continuación:

MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor)

Nivel de significancia de la familia = 0,05
 Valor crítico = 2,34

Intervalos para media de los niveles menos la mayor de las medias de otros niveles

Nivel	Inferior	Centro	Superior	
NUT	-2,5792	-1,6000	0,0000	(-----*-----)
PDA	-4,3458	-3,3667	0,0000	(-----*-----)
TSA	0,0000	1,6000	2,5792	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----
 -4,0 -2,0 0,0 2,0

Basándose en los intervalos de confianza, se concluye que en el agar TSA es el mejor al existir mayor crecimiento de *Pantoea sp.* (media más alta) que en los Agares PDA y NUTRITIVO porque todos sus intervalos de confianza están sobre cero Sin embargo, no hay evidencia que sugiera una diferencia significativa entre los Agares TSA, PDA y NUTRITIVO porque sus intervalos de confianza contienen cero (ninguna diferencia).

Según los datos obtenidos en este análisis estadístico se decidió trabajar con el agar TSA para realizar las pruebas de determinación de la capacidad biocida del agua activada para *Pantoea sp.*, aceptando la hipótesis H1.

c) Análisis para *Erwinia sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el medio de cultivo influye en el crecimiento de *Erwinia sp.* e identificar cuál es el mejor medio de cultivo para su desarrollo, para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H₀= El crecimiento de *Erwinia sp.* no varía según el medio de cultivo.

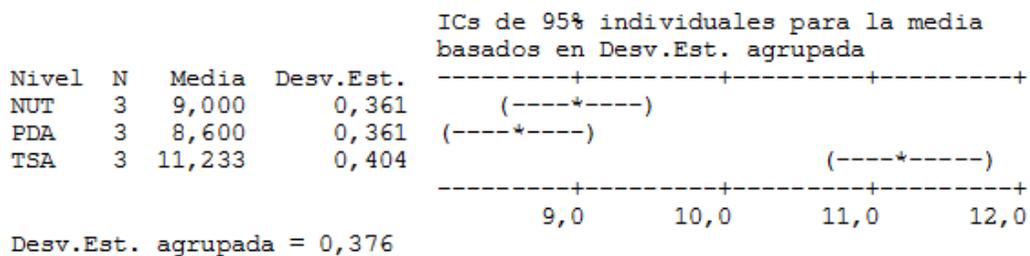
H₁= El crecimiento de *Erwinia sp.* varía según el medio de cultivo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla1.

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	12,082	6,041	42,81	0,000
Error	6	0,847	0,141		
Total	8	12,929			

S = 0,3756 R-cuad. = 93,45% R-cuad. (ajustado) = 91,27%



Se puede observar que el valor de P indicado en la tabla del ANOVA es de 0.000 siendo menor al error tomado para realizar este análisis estadístico que es de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 93,45 que nos indica que el modelo realizado es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que existe una diferencia muy marcada del TSA con el PDA y el NUTRITIVO, teniendo los valores más bajos de crecimiento medidos en cm del radio de crecimiento de la bacteria en PDA y en la que mayor crecimiento se obtuvo fue en TSA.

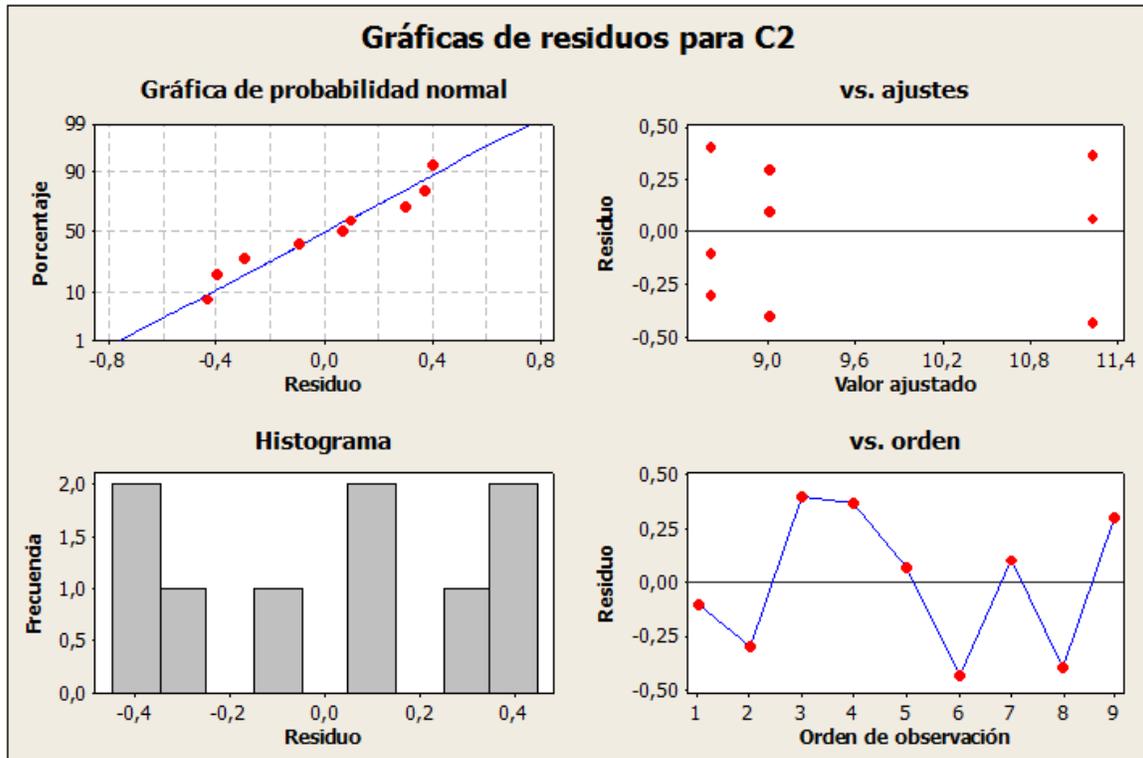


Ilustración 3. Gráficas de residuos para *Erwinia sp.*
(Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que existe una distribución simétrica y que los datos son dispersos y con una línea simétrica, además se observan valores atípicos esto se debe a que los valores de crecimiento son muy diferentes entre sí. En la gráfica de residuos versus Valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación cerca de

la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí.

Según estos resultados estadísticos obtenidos se rechaza la hipótesis H_0 y se puede concluir que si existe una influencia del medio de cultivo en el crecimiento de *Erwinia sp.* Por lo que a continuación se realiza un análisis para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para el crecimiento de la especie en estudio. Con la finalidad de lograr nuestro objetivo nos planteamos las siguientes hipótesis.

H_0 = El TSA no es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Erwinia sp.* presente en el tomate de mesa.

H_1 = El TSA es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Erwinia sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para *Erwinia sp.* se realizó MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor) el que se presenta a continuación:

MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor)

Nivel de significancia de la familia = 0,05

Valor crítico = 2,34

Intervalos para media de los niveles menos la mayor de las medias de otros niveles

Nivel	Inferior	Centro	Superior	
NUT	-2,9501	-2,2333	0,0000	(---*-----)
PDA	-3,3501	-2,6333	0,0000	(---*-----)
TSA	0,0000	2,2333	2,9501	(-----*---)

+-----+-----+-----+-----+
-3,2 -1,6 -0,0 1,6

Basándose en los intervalos de confianza, se concluye que en el agar TSA es el mejor al existir mayor crecimiento de *Erwinia sp.* (media más alta) que en los Agares PDA y NUTRITIVO porque todos sus intervalos de confianza están sobre cero. Sin embargo, no hay evidencia que sugiera una diferencia significativa entre los Agares TSA, PDA y NUTRITIVO porque sus intervalos de confianza contienen cero (ninguna diferencia).

Según los datos obtenidos en este análisis estadístico se decidió trabajar con el agar TSA para realizar las pruebas de determinación de la capacidad biocida del agua activada para *Erwinia sp.*, aceptando la hipótesis H1.

d) Análisis para *Oidium sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el medio de cultivo influye en el crecimiento de *Oidium sp.* e identificar cuál es el mejor medio de cultivo para su desarrollo, para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H₀= El crecimiento de *Oidium sp.* no varía según el medio de cultivo.

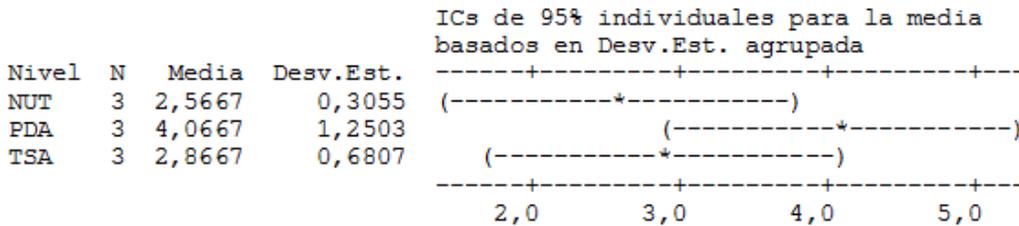
H₁= El crecimiento de *Oidium sp.* varía según el medio de cultivo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla1.

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	3,780	1,890	2,67	0,148
Error	6	4,240	0,707		
Total	8	8,020			

S = 0,8406 R-cuad. = 47,13% R-cuad. (ajustado) = 29,51%



Desv.Est. agrupada = 0,8406

Se puede observar que el valor de P indicado en la tabla del ANOVA es de 0.148 siendo mayor al error tomado para realizar este análisis estadístico que es de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados no es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 47,13 que nos indica que el modelo realizado no es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que existe la mayor diferencia entre el PDA y el NUTRITIVO, teniendo los valores más bajos de crecimiento medidos en cm del radio de crecimiento del hongo en NUTRITIVO y en el que mayor crecimiento se obtuvo fue en PDA.

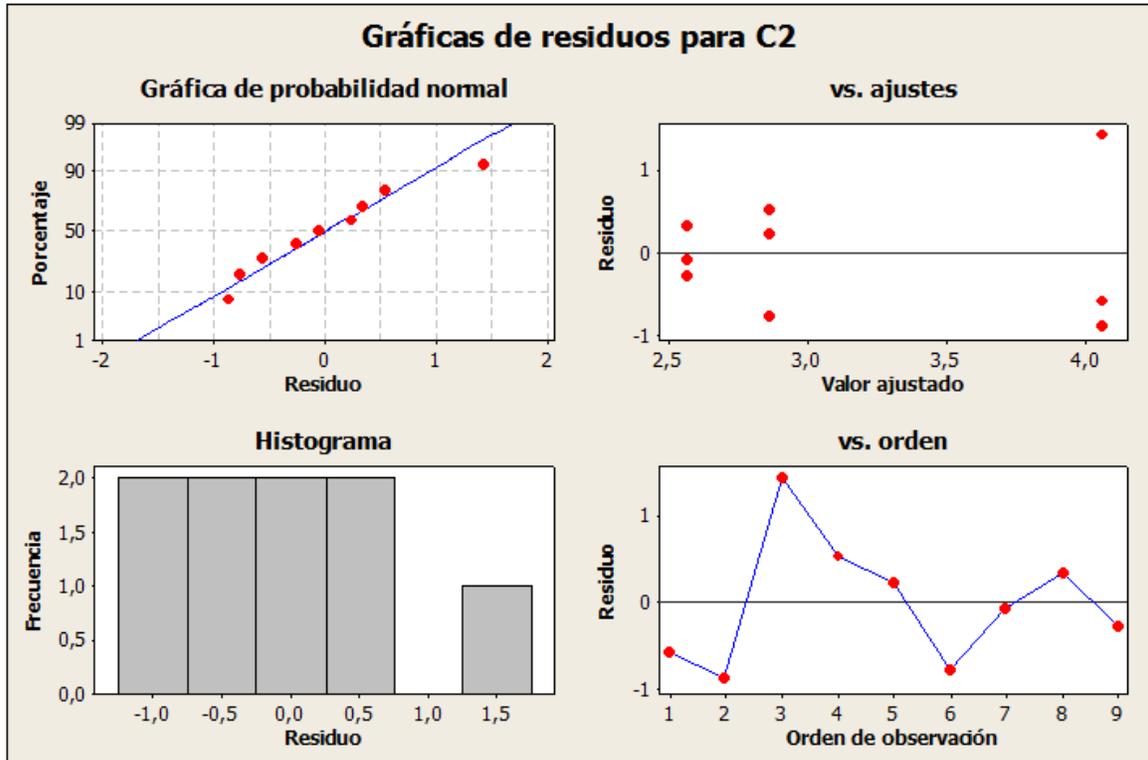


Ilustración 4. Gráficas de residuos para *Oidium sp.*

(Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que existe una distribución sesgada, que los datos son dispersos y tienen una asimetría positiva, además se observan valores atípicos esto se debe a que los valores de crecimiento son similares a excepción del PDA donde se incrementa el crecimiento del *Oidium sp.*, mientras que en la gráfica de residuos versus Valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación

cerca de la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí.

Según estos resultados estadísticos obtenidos se rechaza la hipótesis H_0 y se puede concluir que si existe una influencia del medio de cultivo en el crecimiento de *Oidium sp.* Por lo que a continuación se realiza un análisis para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para el crecimiento de la especie en estudio. Con la finalidad de lograr nuestro objetivo nos planteamos las siguientes hipótesis.

H_0 = El PDA no es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Oidium sp.* presente en el tomate de mesa.

H_1 = El PDA es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Oidium sp.* presente en el tomate de mesa.

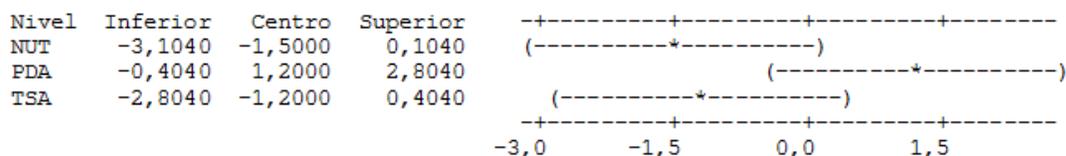
Para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para *Oidium sp.* se realizó MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor) el que se presenta a continuación:

MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor)

Nivel de significancia de la familia = 0,05

Valor crítico = 2,34

Intervalos para media de los niveles menos la mayor de las medias de otros niveles



Basándose en los intervalos de confianza, se concluye que en el agar PDA es el mejor al existir mayor crecimiento de *Oidium sp.* (media más alta) que en los Agares TSA y NUTRITIVO. Sin embargo, no hay evidencia que sugiera una diferencia significativa entre los Agares TSA, PDA y NUTRITIVO porque sus intervalos de confianza contienen cero (ninguna diferencia).

Según los datos obtenidos en este análisis estadístico se decidió trabajar con el agar PDA para realizar las pruebas de determinación de la capacidad fungicida del agua activada para *Oidium sp.*, aceptando la hipótesis H1.

e) Análisis para *Verticillium sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el medio de cultivo influye en el crecimiento de *Verticillium sp.* e identificar cuál es el mejor medio de cultivo para su desarrollo, para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H₀= El crecimiento de *Verticillium sp.* no varía según el medio de cultivo.

H₁= El crecimiento de *Verticillium sp.* varía según el medio de cultivo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla1.

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	1,820	0,910	6,66	0,030
Error	6	0,820	0,137		
Total	8	2,640			

S = 0,3697 R-cuad. = 68,94% R-cuad. (ajustado) = 58,59%

Nivel	N	Media	Desv.Est.	ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada
NUT	3	1,4333	0,4163	(-----*-----)
PDA	3	2,4333	0,4163	(-----*-----)
TSA	3	1,5333	0,2517	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+-----
 1,20 1,80 2,40 3,00

Desv.Est. agrupada = 0,3697

Se puede observar que el valor de P indicado en la tabla del ANOVA es de 0.03 siendo menor al error tomado para realizar este análisis estadístico que es de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 68,94 que nos indica que el modelo realizado no es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que existe la mayor diferencia entre el PDA y el NUTRITIVO, teniendo los valores más bajos de crecimiento medidos en cm del radio de crecimiento del hongo en NUTRITIVO y en el que mayor crecimiento se obtuvo fue en PDA.

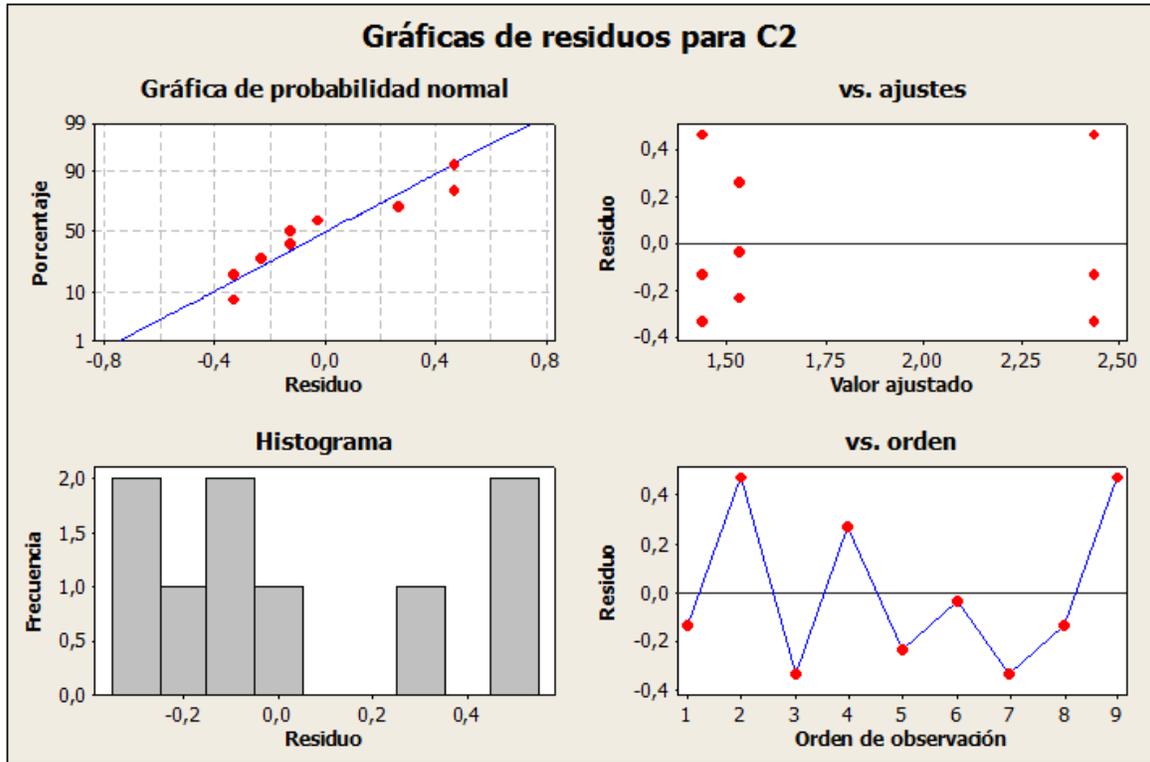


Ilustración 5. Gráficas de residuos para *Verticillium sp.*

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que los datos son dispersos y tienen una asimetría positiva, además se observan valores atípicos esto se debe a que los valores de crecimiento son similares a excepción del PDA donde se incrementa el crecimiento del *Verticillium sp.*, mientras que en la gráfica de residuos versus Valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación cerca de la línea

Basándose en los intervalos de confianza, se concluye que en el agar PDA es el mejor al existir mayor crecimiento de *Verticillium sp.* (media más alta) que en los Agares TSA y NUTRITIVO porque todos sus intervalos de confianza están sobre cero. Sin embargo, no hay evidencia que sugiera una diferencia significativa entre los Agares TSA, PDA y NUTRITIVO porque sus intervalos de confianza contienen cero (ninguna diferencia).

Según los datos obtenidos en este análisis estadístico se decidió trabajar con el agar PDA para realizar las pruebas de determinación de la capacidad fungicida del agua activada para *Verticillium sp.*, aceptando la hipótesis H1.

f) Análisis para *Alternaria sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el medio de cultivo influye en el crecimiento de *Alternaria sp.* e identificar cuál es el mejor medio de cultivo para su desarrollo, para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H₀= El crecimiento de *Alternaria sp.* no varía según el medio de cultivo.

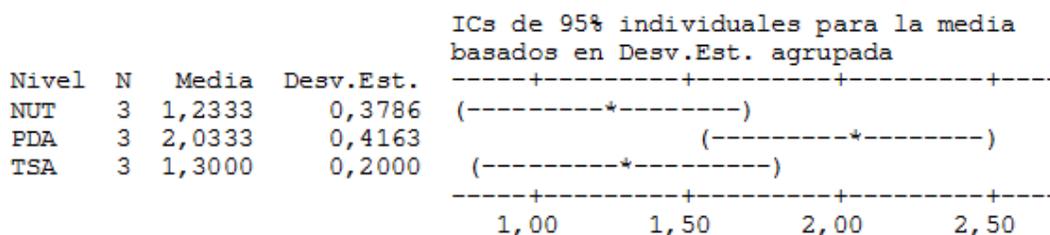
H₁= El crecimiento de *Alternaria sp.* varía según el medio de cultivo.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla1.

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	1,182	0,591	4,97	0,053
Error	6	0,713	0,119		
Total	8	1,896			

S = 0,3448 R-cuad. = 62,37% R-cuad. (ajustado) = 49,82%



Desv.Est. agrupada = 0,3448

Se puede observar que el valor de P indicado en la tabla del ANOVA es de 0.053 siendo mayor al error tomado para realizar este análisis estadístico que es de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados no es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 62,37 que nos indica que el modelo realizado no es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que existe la mayor diferencia entre el PDA y el NUTRITIVO, teniendo los valores más bajos de crecimiento medidos en cm del radio de crecimiento del hongo en NUTRITIVO y en el que mayor crecimiento se obtuvo fue en PDA.

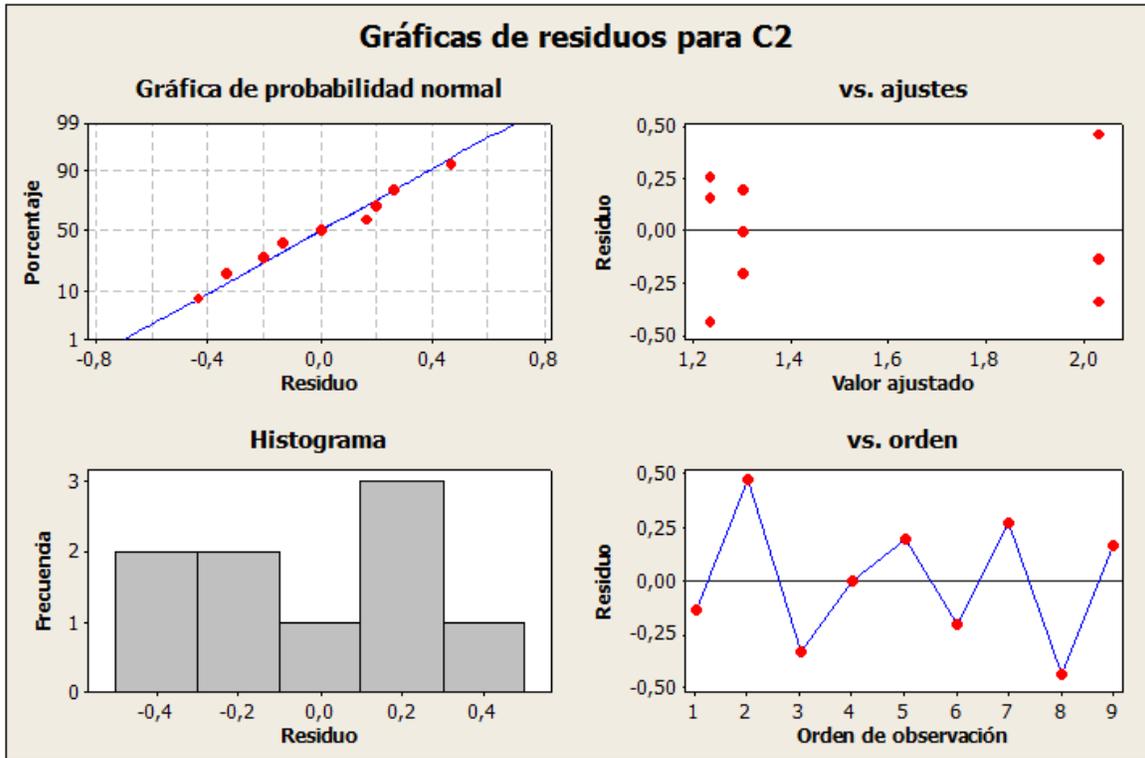


Ilustración 6. Gráficas de residuos para *Alternaria sp.*
(Fuente: las Autoras)

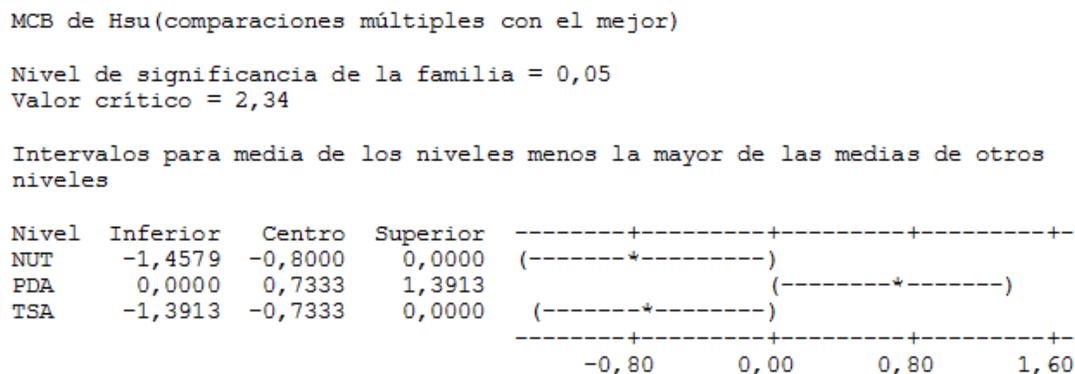
En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que los datos son dispersos y son simétricos, mientras que en la gráfica de residuos versus Valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación cerca de la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí.

Según estos resultados estadísticos obtenidos se rechaza la hipótesis H_0 y se puede concluir que si existe una influencia del medio de cultivo en el crecimiento de *Alternaria sp.* Por lo que a continuación se realiza un análisis para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para el crecimiento de la especie en estudio. Con la finalidad de lograr nuestro objetivo nos planteamos las siguientes hipótesis.

H_0 = El PDA no es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Alternaria sp.* presente en el tomate de mesa.

H_1 = El PDA es el mejor medio de cultivo para el desarrollo de *Alternaria sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar cuál es el mejor medio de cultivo para el *Alternaria sp.* se realizó MCB de Hsu (comparaciones múltiples con el mejor) el que se presenta a continuación:



Basándose en los intervalos de confianza, se concluye que en el agar PDA es el mejor al existir mayor crecimiento de *Alternaria sp.* (media más alta) que en los Agares TSA y NUTRITIVO porque todos sus

intervalos de confianza están sobre cero. Sin embargo, no hay evidencia que sugiera una diferencia significativa entre los Agares TSA, PDA y NUTRITIVO porque sus intervalos de confianza contienen cero (ninguna diferencia).

Según los datos obtenidos en este análisis estadístico se decidió trabajar con el agar PDA para realizar las pruebas de determinación de la capacidad biocida del agua activada para *Alternaria sp.*, aceptando la hipótesis H1.

4.1.2.1.1. Comparación del porcentaje de disminución en el crecimiento de las bacterias en estudio con una concentración de 1ppm de agua activada.

Se ha notado que la concentración de agua activada varía según el microorganismo estudiado para lo cual se ha planteado definir un modelo estadístico que compruebe la diferencia del crecimiento entre especies en una concentración de agua activada de 1ppm.

Con esta finalidad se ha planteado las siguientes hipótesis para el análisis del crecimiento de las bacterias estudiadas.

H0= Se disminuye el crecimiento de las bacterias estudiadas en igual proporción con una concentración de 1ppm de agua activada.

H1= No se disminuye el crecimiento de las bacterias estudiadas en igual proporción con una concentración de 1ppm de agua activada.

Se han calculado los porcentajes de disminución del crecimiento de cada especie, los mismos que se expresan en la siguiente tabla.

MICROORGANISMO	%DISMINUCIÓN EN EL CRECIMIENTO
Bacillus	3,64
Bacillus	0
Bacillus	5,00
Pantoea	59,38
Pantoea	94,59
Pantoea	31,43
Erwinia	83,33
Erwinia	32,26
Erwinia	70,00

Tabla 4. Porcentaje de disminución del crecimiento con 1ppm de agua activada. (Fuente: las Autoras)

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla5.

Se consideró las siguientes variables y niveles:

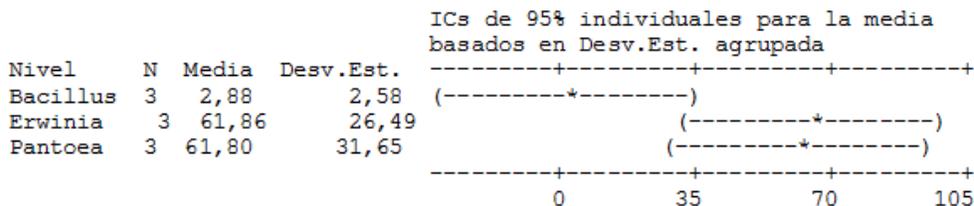
Variable de entrada	Unidad	Niveles	Variable de respuesta
Microorganismo	Especie	Bacillus	% disminución del crecimiento
		Pantoea	
		Erwinia	

Tabla 5. Variables para determinar la disminución del crecimiento (Fuente: las Autoras)

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	6951	3475	6,10	0,036
Error	6	3421	570		
Total	8	10372			

S = 23,88 R-cuad. = 67,02% R-cuad. (ajustado) = 56,02%



Desv.Est. agrupada = 23,88

Se puede observar que el valor de P en la tabla del ANOVA es de 0.036 siendo menor al error considerado de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 67,02 que nos indica que el modelo realizado no es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que la mayor diferencia presentada es en el *Bacillus sp.* al tener los valores más bajos de disminución en el crecimiento, mientras que para la *Erwinia sp.* y *Pantoea sp.* el porcentaje de disminución es similar.

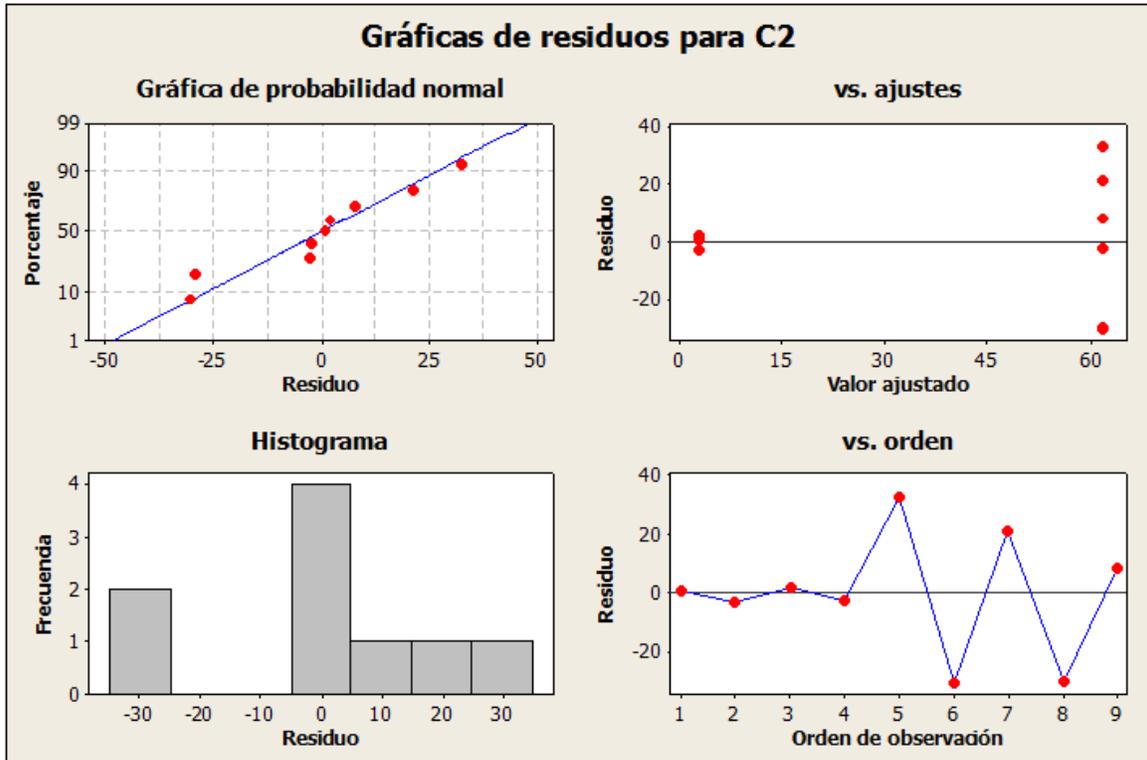


Ilustración 7. Gráficas de residuos para la disminución del crecimiento bacteriano en 1ppm de agua activada. (Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que los datos son dispersos pero tiene una concentración de datos en la región central, con una tendencia sesgada lo que nos indica una distribución simétrica, también existen valores atípicos esto se da por la marcada diferencia entre los datos del *Bacillus sp.* y las otras dos bacterias analizadas. En la gráfica de residuos versus valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que

no hay una agrupación en la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí.

Con esto se puede concluir que el porcentaje de disminución del crecimiento en las bacterias estudiadas no es igual, rechazando la hipótesis H_0 y aceptando la hipótesis H_1 .

Una vez que hemos determinado el mejor medio de cultivo para cada especie pasamos a la Fase 2 que es la determinación de la capacidad biocida y fungicida del agua activada frente a los microorganismos estudiados.

4.1.2.2. Fase 2: Capacidad biocida y fungicida del agua activada

Para esta fase se ha planteado determinar si el agua activada disminuye y/o elimina el crecimiento de los microorganismos en estudio, para lo cual nos planteamos un diseño totalmente al azar, con un solo factor que fue la concentración de agua activada, con cuatro niveles que fueron cuatro diferentes concentraciones de agua activada medidas en ppm y una variable de respuesta que fue el número de colonias crecidas.

Para realizar el análisis estadístico se utilizó el software Minitab® 15.1.30.0., 2007, versión español.

A continuación se presenta el análisis para cada microorganismo estudiado.

Variable de entrada	Unidad	Niveles	Variable de respuesta
Agua activada	ppm	4	# de colonias

Tabla 6. Variables consideradas

(Fuente: las Autoras)

a. Análisis para *Bacillus sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el agua activada tiene una acción biocida es decir si disminuye el crecimiento de *Bacillus sp.* para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H₀= No existe ninguna actividad biocida del agua activada frente a *Bacillus sp.* presente en el tomate de mesa.

H₁= Sí existe actividad biocida del agua activada frente a *Bacillus sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla3.

Se consideró las siguientes variables y niveles:

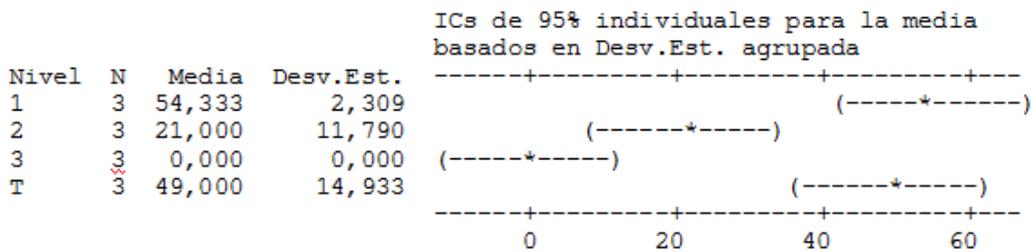
Variable de entrada	Unidad	Niveles	Variable de respuesta
Agua activada	ppm	0	# de colonias
		1	
		2	
		3	

Tabla 7. Variables para *Bacillus sp.*
(Fuente: las Autoras)

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	3	5788,3	1929,4	21,01	0,000
Error	8	734,7	91,8		
Total	11	6522,9			

S = 9,583 R-cuad. = 88,74% R-cuad. (ajustado) = 84,51%



Desv.Est. agrupada = 9,583

Se puede observar que el valor de P es de 0.000 siendo menor al error considerado de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 88,74 que nos indica que el modelo realizado es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que la mayor diferencia presentada es en el de 3ppm al tener los valores más bajos de crecimiento esto se debe a que en esta concentración ya no existe crecimiento del *Bacillus sp.* mientras que a 2ppm se ve una disminución en el crecimiento en relación a 1ppm y al Testigo (0ppm).

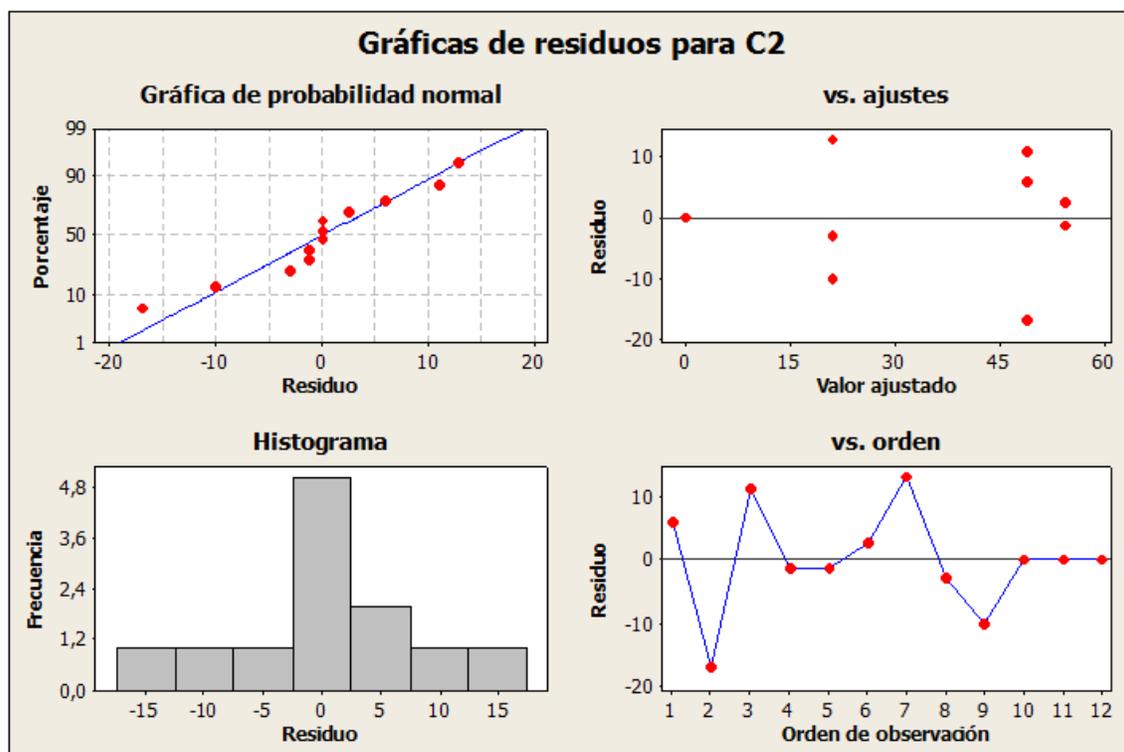


Ilustración 8. Gráficas de residuos de la capacidad biocida para el *Bacillus sp.*
(Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que los datos son dispersos pero tiene una concentración de datos en la región central de la distribución lo que nos indica una curva simétrica. En la gráfica de residuos versus valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación cerca de la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí,

exceptuando los tres últimos datos que son cero esto se debe a que no existe crecimiento del *Bacillus sp.* en una concentración de agua activada de 3ppm.

b. Análisis para *Pantoea sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el agua activada tiene una acción biocida es decir si disminuye el crecimiento de *Pantoea sp.* para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

Ho= No existe ninguna actividad biocida del agua activada frente a *Pantoea sp.* presente en el tomate de mesa.

H1= Sí existe actividad biocida del agua activada frente a *Pantoea sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla3.

Se consideró las siguientes variables y niveles:

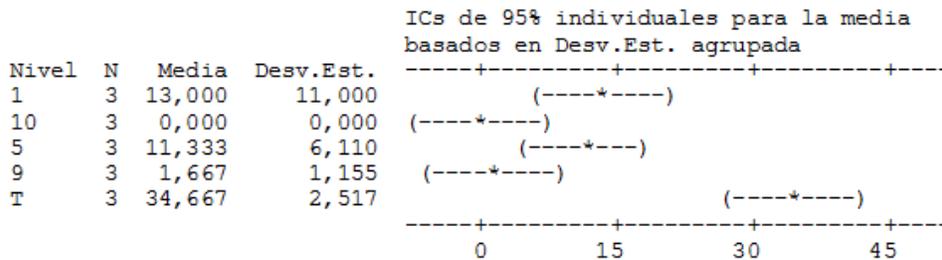
Variable de entrada	Unidad	Niveles	Variable de respuesta
Agua activada	ppm	0	# de colonias
		1	
		5	
		9	
		10	

Tabla 8. Variables para *Pantoea sp.*
(Fuente: las Autoras)

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	4	2297,7	574,4	17,30	0,000
Error	10	332,0	33,2		
Total	14	2629,7			

S = 5,762 R-cuad. = 87,38% R-cuad. (ajustado) = 82,33%



Desv.Est. agrupada = 5,762

Se puede observar que el valor de P en la tabla del ANOVA es de 0.000 siendo menor al error considerado de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 87,38 que nos indica que el modelo realizado es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que la mayor diferencia presentada es en el de 10ppm al tener los valores más bajos de crecimiento esto se debe a que en esta concentración ya no existe crecimiento de *Pantoea sp.* mientras que a 1ppm, 5ppm y 9ppm se ve una disminución en el crecimiento en relación al Testigo (0ppm).

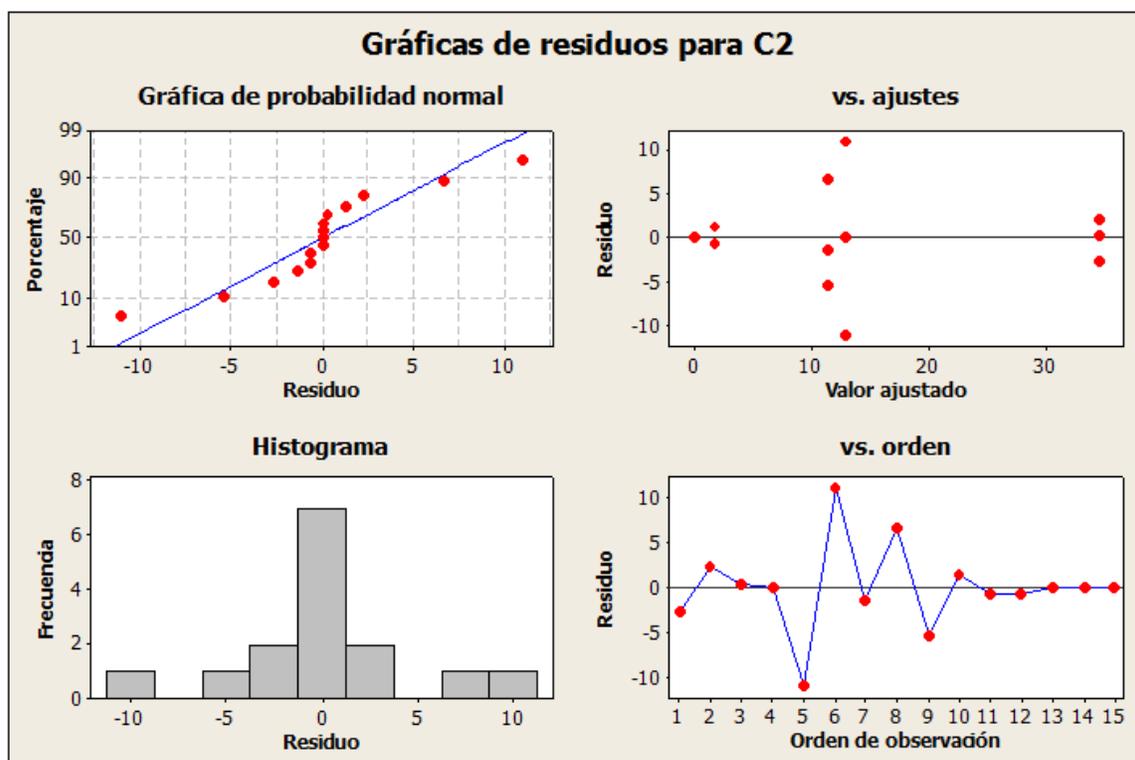


Ilustración 9. Gráficas de residuos de la capacidad biocida para *Pantoea sp.*
 (Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que los datos son dispersos pero tiene una concentración de datos en la región central de la distribución lo que nos indica una curva simétrica, además se observan valores atípicos esto es debido a la variabilidad de los datos. En la gráfica de residuos versus valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación inicial cerca de la línea cero o que tengan una

tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí, pero al final los datos se encuentran muy cerca de la línea cero esto se debe a que no existe crecimiento del *Pantoea sp.* en una concentración de agua activada de 10ppm.

c. Análisis para *Erwinia sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el agua activada tiene una acción biocida es decir si disminuye el crecimiento de *Erwinia sp.* para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H0= No existe ninguna actividad biocida del agua activada frente a *Erwinia sp.* presente en el tomate de mesa.

H1= Sí existe actividad biocida del agua activada frente a *Erwinia sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla3.

Se consideró las siguientes variables y niveles:

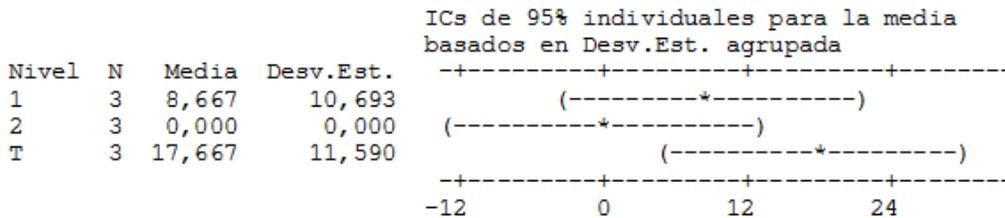
Variable de entrada	Unidad	Niveles	Variable de respuesta
Agua activada	ppm	0	# de colonias
		1	
		2	

Tabla 9. Variables para *Erwinia sp.*
(Fuente: las Autoras)

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	468,2	234,1	2,82	0,137
Error	6	497,3	82,9		
Total	8	965,6			

S = 9,104 R-cuad. = 48,49% R-cuad. (ajustado) = 31,32%



Desv.Est. agrupada = 9,104

Se puede observar que el valor de P en la tabla del ANOVA es de 0.137 siendo mayor al error considerado de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados no es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 48,49 que nos indica que el modelo realizado no es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que la mayor diferencia presentada es en el de 2ppm al tener los valores más bajos de crecimiento esto se debe a que en esta concentración ya no existe crecimiento de *Erwinia sp.* mientras que a 1ppm se ve una disminución en el crecimiento en relación al Testigo (0ppm).

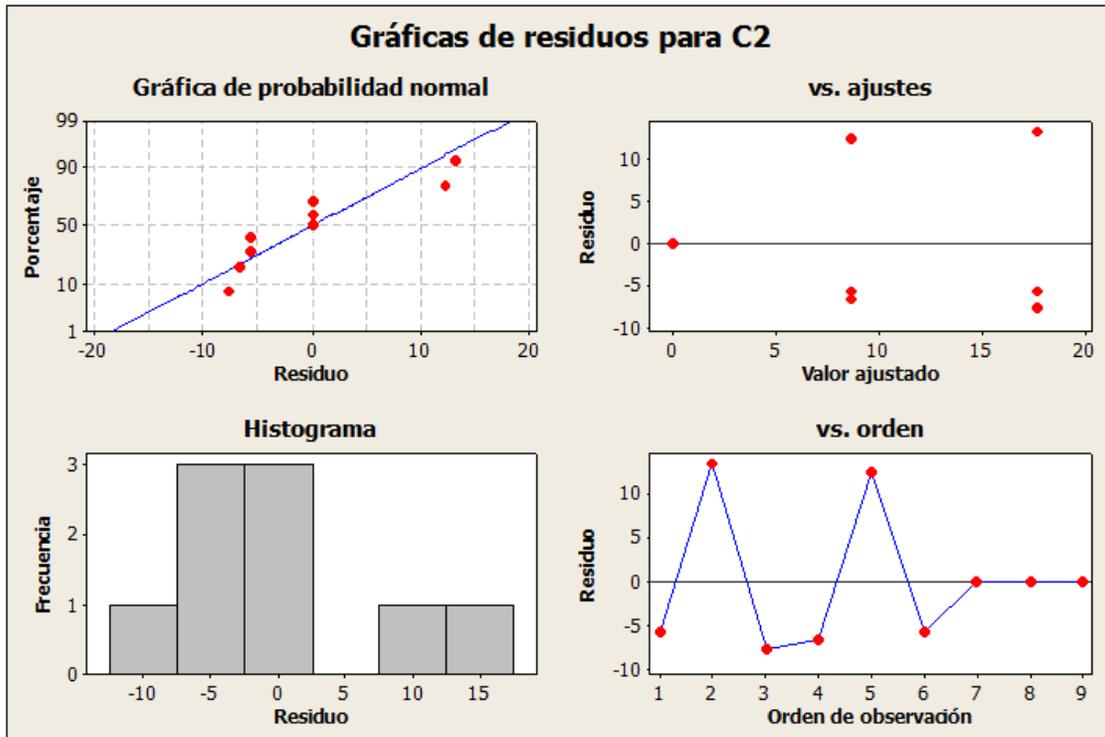


Ilustración 10. Gráficas de residuos de la capacidad biocida para *Erwinia sp.*
(Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia, pero se nota en la parte central un comportamiento diferente esto se debe a que la diferencia entre los resultados no es significativa y por lo tanto los valores de cero crean una nueva tendencia. En el histograma se nota que los datos son dispersos pero tiene una concentración de datos en la región central con una ligera inclinación hacia la izquierda de la distribución lo que nos indica una asimetría positiva, además se observan valores atípicos esto es debido a la gran diferencia del crecimiento que existe entre el testigo

y los tratamientos con agua activada. En la gráfica de residuos versus valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación cerca de la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí, con excepción del final donde los datos se encuentran en la línea cero esto se debe a que no existe crecimiento del *Erwinia sp.* en una concentración de agua activada de 2ppm.

d. Análisis para *Oidium sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el agua activada tiene una acción fungicida es decir si disminuye el crecimiento de *Oidium sp.* para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H₀= No existe ninguna actividad fungicida del agua activada frente a *Oidium sp.* presente en el tomate de mesa.

H₁= Sí existe actividad fungicida del agua activada frente a *Oidium sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla3.

Se consideró las siguientes variables y niveles:

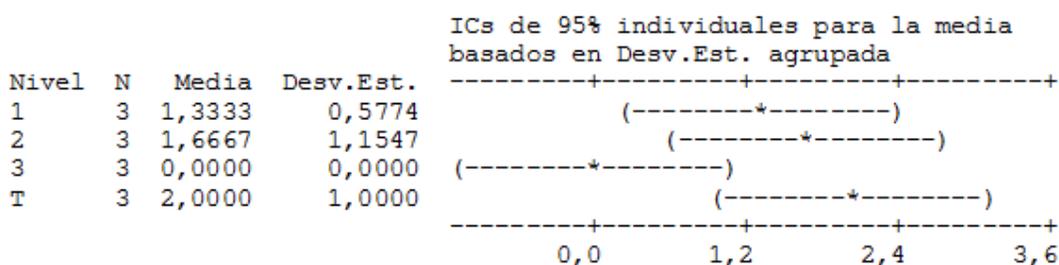
Variable de entrada	Unidad	Niveles	Variable de respuesta
Agua activada	ppm	0	# de colonias
		1	
		2	
		3	

Tabla 10. Variables para *Oidium sp.*
(Fuente: las Autoras)

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	3	6,917	2,306	3,46	0,071
Error	8	5,333	0,667		
Total	11	12,250			

S = 0,8165 R-cuad. = 56,46% R-cuad. (ajustado) = 40,14%



Desv.Est. agrupada = 0,8165

Se puede observar que el valor de P en la tabla del ANOVA es de 0.071 siendo mayor al error considerado de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados no es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 56,46 que nos indica que el modelo realizado no es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que la mayor diferencia presentada es en el de 3ppm al tener los valores más bajos de crecimiento esto se debe a que en esta concentración ya no existe

crecimiento de *Oidium sp.* mientras que a 1ppm y 2ppm se ve una ligera disminución en el crecimiento en relación al Testigo (0ppm).

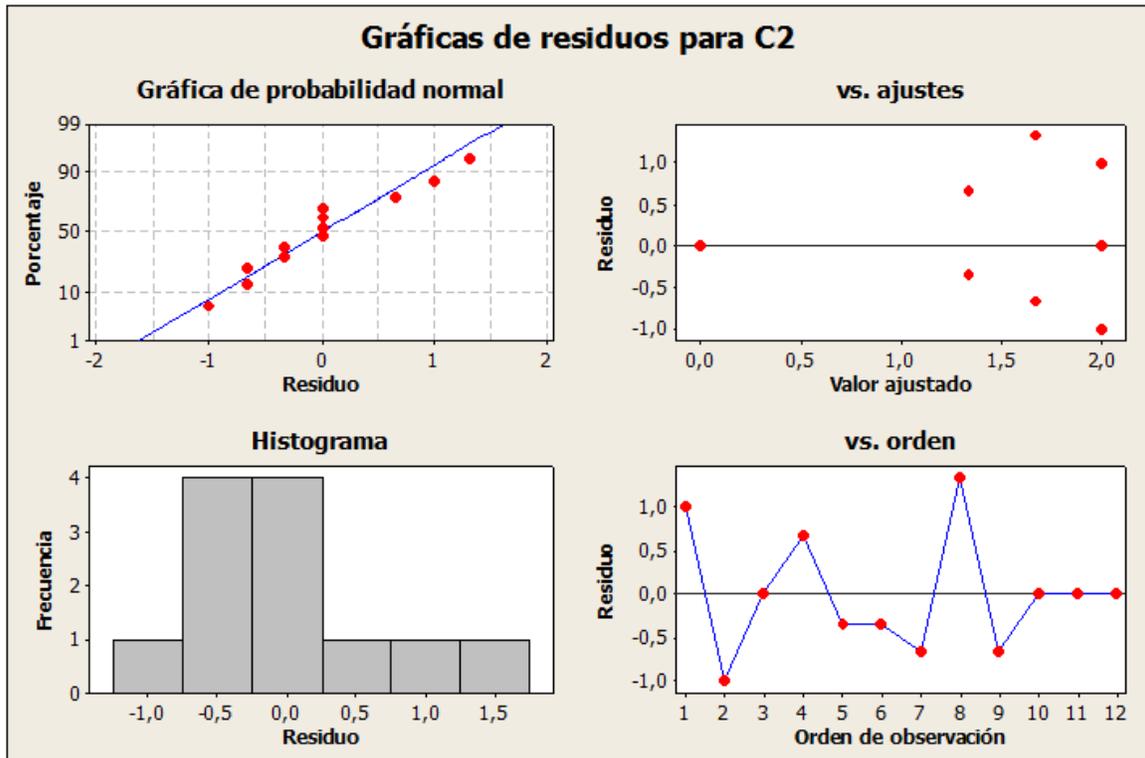


Ilustración 11. Gráficas de residuos del crecimiento de *Oidium sp.* en diferentes concentraciones de agua activada
(Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia, pero se nota en la parte central un comportamiento diferente esto se debe a que la diferencia entre los resultados no es significativa y por lo tanto los valores de cero crean una nueva tendencia. En el histograma se nota que los datos son

dispersos pero tiene una concentración de datos en la región central con una ligera inclinación hacia la izquierda de la distribución lo que nos indica una asimetría positiva, además se observa una distribución sesgada. En la gráfica de residuos versus valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación cerca de la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí, con excepción del final donde los datos se encuentran en la línea cero esto se debe a que no existe crecimiento del *Oidium sp.* en una concentración de agua activada de 3ppm.

e. Análisis para *Verticillium sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el agua activada tiene una acción fungicida es decir si disminuye el crecimiento de *Verticillium sp.* para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H0= No existe ninguna actividad fungicida del agua activada frente a *Verticillium sp.* presente en el tomate de mesa.

H1= Sí existe actividad fungicida del agua activada frente a *Verticillium sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla3.

Se consideró las siguientes variables y niveles:

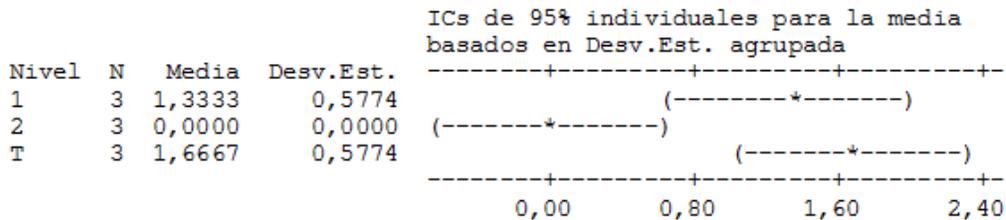
Variable de entrada	Unidad	Niveles	Variable de respuesta
Agua activada	ppm	0	# de colonias
		1	
		2	

Tabla 11. Variables para *Verticillium sp.*
(Fuente: las Autoras)

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	4,667	2,333	10,50	0,011
Error	6	1,333	0,222		
Total	8	6,000			

S = 0,4714 R-cuad. = 77,78% R-cuad. (ajustado) = 70,37%



Desv.Est. agrupada = 0,4714

Se puede observar que el valor de P en la tabla del ANOVA es de 0.011 siendo menor al error considerado de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 77,78 que nos indica que el modelo realizado es medianamente confiable. En la comparación de las medias se ve que la mayor diferencia presentada es en el de 2ppm al tener los valores más bajos de crecimiento esto se debe a que en esta concentración ya no

existe crecimiento de *Verticillium sp.* mientras que a 1ppm se ve una ligera disminución en el crecimiento en relación al Testigo (0ppm).

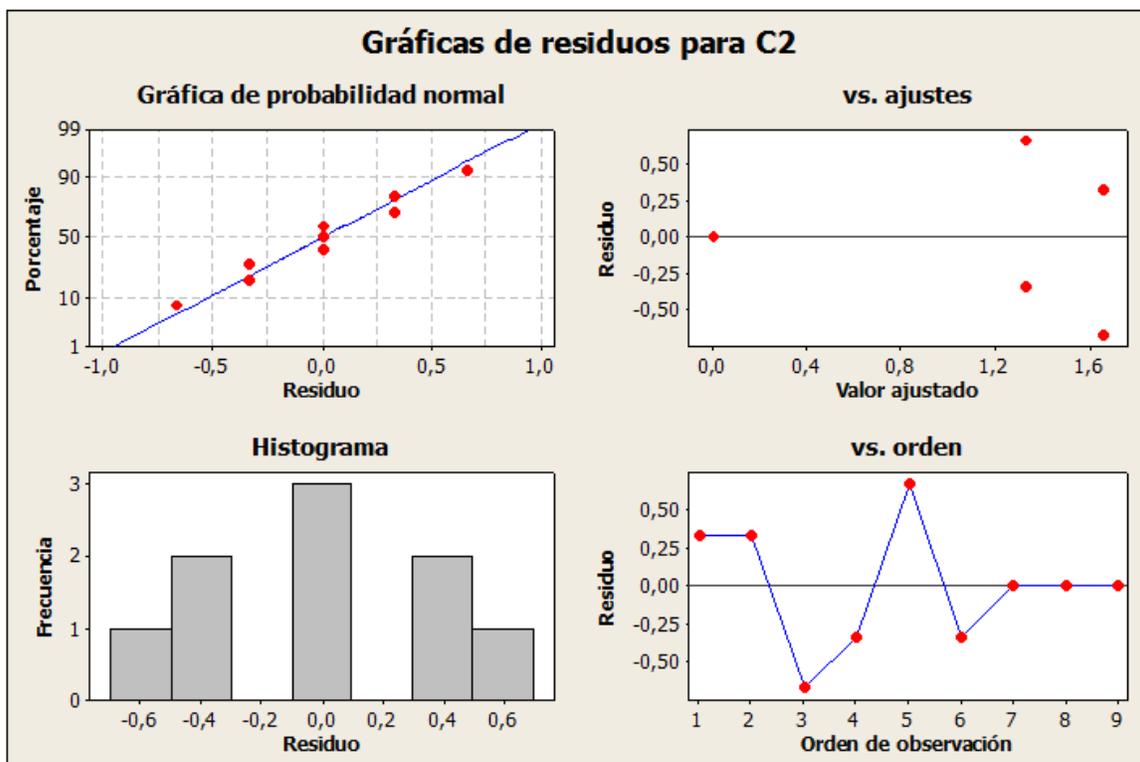


Ilustración 12. Gráficas de residuos del crecimiento de *Verticillium sp.* en diferentes concentraciones de agua activada. (Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia. En el histograma se nota que los datos son dispersos pero tiene una concentración de datos en la región central generando una tendencia en forma campanoide y simétrica, además se observan valores atípicos debido a la variabilidad de los datos. En la gráfica de residuos versus valores ajustados se nota un

patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación cerca de la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí, con excepción del final donde los datos se encuentran en la línea cero esto se debe a que no existe crecimiento del *Verticillium sp.* en una concentración de agua activada de 2ppm.

f. Análisis para *Alternaria sp.*

El objetivo de este análisis es determinar si el agua activada tiene una acción fungicida es decir si disminuye el crecimiento de *Alternaria sp.* para lo cual nos planteamos las siguientes hipótesis:

H0= No existe ninguna actividad fungicida del agua activada frente a *Alternaria sp.* presente en el tomate de mesa.

H1= Sí existe actividad fungicida del agua activada frente a *Alternaria sp.* presente en el tomate de mesa.

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla3.

Se consideró las siguientes variables y niveles:

Variable de entrada	Unidad	Niveles	Variable de respuesta
Agua activada	ppm	0	# de colonias
		8	
		9	

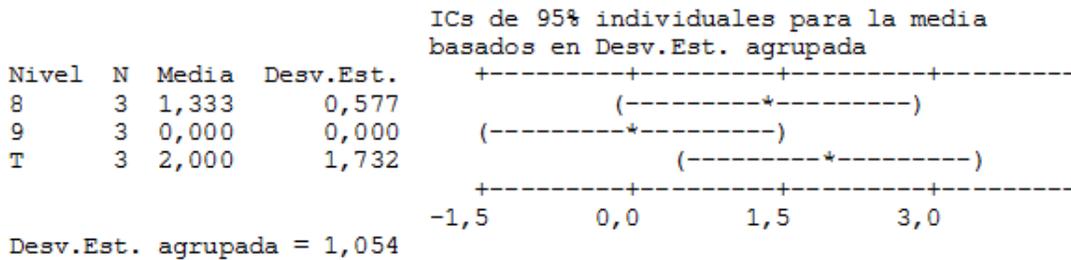
Tabla 12. Variables para *Alternaria sp.*

(Fuente: las Autoras)

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C1	2	6,22	3,11	2,80	0,138
Error	6	6,67	1,11		
Total	8	12,89			

S = 1,054 R-cuad. = 48,28% R-cuad. (ajustado) = 31,03%



Se puede observar que el valor de P en la tabla del ANOVA es de 0.138 siendo mayor al error considerado de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados no es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 48,28 que nos indica que el modelo realizado no es muy confiable. En la comparación de las medias se ve que la mayor diferencia presentada es en el de 9ppm al tener los valores más bajos de crecimiento esto se debe a que en esta concentración ya no existe crecimiento de *Alternaria sp.* mientras que a 8ppm se ve una ligera disminución en el crecimiento en relación al Testigo (0ppm).

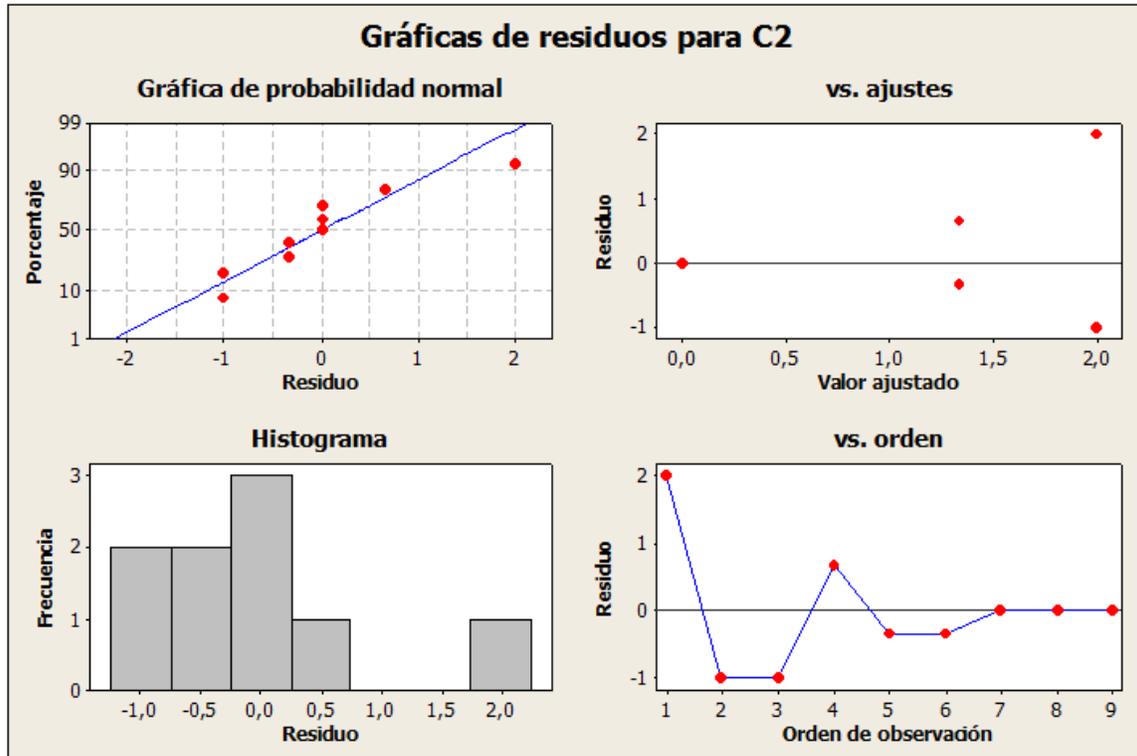


Ilustración 13. Gráficas de residuos del crecimiento de *Alternaria sp.* en diferentes concentraciones de agua activada.
(Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable es normal ya que los datos no se encuentran muy distantes de la línea de tendencia, pero se nota en la parte central un comportamiento diferente esto se debe a que la diferencia entre los resultados no es significativa y por lo tanto los valores de cero crean una nueva tendencia. En el histograma se nota que los datos son dispersos pero tiene una concentración de datos en la región central con una inclinación hacia la izquierda generando una asimetría positiva. En la gráfica de residuos versus valores ajustados se nota un patrón

aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación cerca de la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí, con excepción del final donde los datos se encuentran en la línea cero esto se debe a que no existe crecimiento del *Alternaria sp.* en una concentración de agua activada de 9ppm.

4.1.2.2.1. Comparación del porcentaje de disminución en el crecimiento de los hongos en estudio con una concentración de 1ppm de agua activada.

Se ha notado que la concentración de agua activada varía según el microorganismo estudiado para lo cual se ha planteado definir un modelo estadístico que compruebe la diferencia del crecimiento entre especies en una concentración de agua activada de 1ppm.

Con esta finalidad se ha planteado las siguientes hipótesis para el análisis del crecimiento de los hongos estudiadas.

H0= Se disminuye el crecimiento de los hongos estudiadas en igual proporción con una concentración de 1ppm de agua activada.

H1= No se disminuye el crecimiento de los hongos estudiadas en igual proporción con una concentración de 1ppm de agua activada.

Se han calculado los porcentajes de disminución del crecimiento de cada especie, los mismos que se expresan en la siguiente tabla.

MICROORGANISMO	%DISMINUCIÓN EN EL CRECIMIENTO
Oidium	0,00
Oidium	50,00
Oidium	0,00
Verticillium	50,00
Verticillium	0,00
Verticillium	0,00
Alternaria	0,00
Alternaria	0,00
Alternaria	0,00

Tabla 13. Porcentaje de disminución del crecimiento con 1ppm de agua activada. (Fuente: las Autoras)

Para determinar si existe una diferencia significativa en los resultados se realizó el ANOVA de un solo factor para los datos indicados en la tabla 6.

Se consideró las siguientes variables y niveles:

Variable de entrada	Unidad	Niveles	Variable de respuesta
Microorganismo	Especie	Oidium	% disminución del crecimiento
		Verticillium	
		Alternaria	

Tabla 14. Variables para determinar la disminución del crecimiento (Fuente: las Autoras)

ANOVA

Fuente	GL	SC	MC	F	P
C4	2	556	278	0,50	0,630
Error	6	3333	556		
Total	8	3889			

S = 23,57 R-cuad. = 14,29% R-cuad. (ajustado) = 0,00%

Nivel	N	Media	Desv.Est.	ICs de 95% individuales para la media basados en Desv.Est. agrupada
Alternaria	3	0,00	0,00	(-----*-----)
Oidium	3	16,67	28,87	(-----*-----)
Verticillium	3	16,67	28,87	(-----*-----)

-25 0 25 50

Desv.Est. agrupada = 23,57

Se puede observar que el valor de P en la tabla del ANOVA es de 0.630 siendo mayor al error considerado de 0.05, lo que nos demuestra que la diferencia entre los resultados no es significativa, también tenemos un valor de R-cuad. igual a 14,29 que nos indica que el modelo realizado no es confiable esto se da porque la disminución en el crecimiento casi es nula. En la comparación de las medias se ve que la mayor diferencia presentada es en *Alternaria sp.* al no tener una disminución en el crecimiento, mientras que para la *Oidium sp.* y *Verticillum sp.* el porcentaje de disminución es similar.

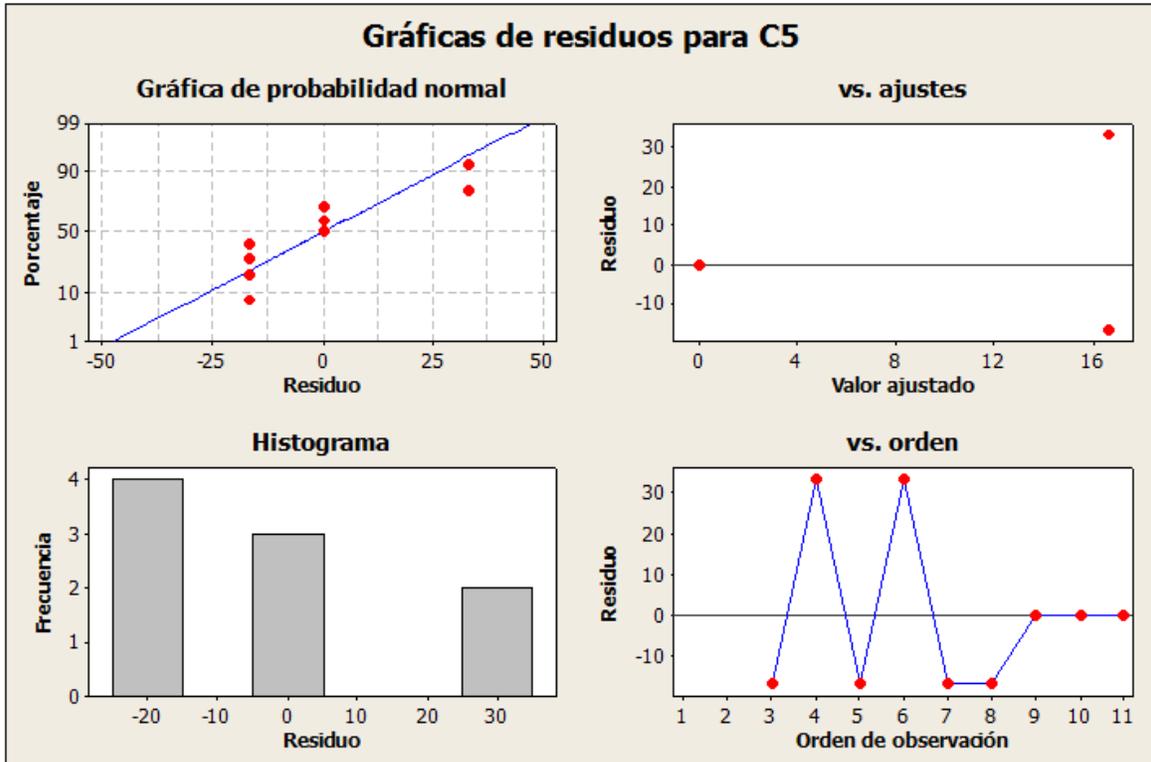


Ilustración 14. Gráficas de residuos de la disminución del crecimiento de hongos en 1ppm de agua activada.
(Fuente: las Autoras)

En la gráfica de normalidad se puede observar que el comportamiento de nuestra variable no es normal ya que los datos tienen una tendencia vertical y no siguen la línea de tendencia. En el histograma se nota que los datos son dispersos con valores atípicos, con una distribución asimétrica positiva. En la gráfica de residuos versus valores ajustados se nota un patrón aleatorio lo que nos indica que existe una varianza constante entre los datos y en la gráfica de residuo versus orden se observa que no hay una agrupación en la línea cero o que tengan una tendencia marcada lo que nos comprueba que los datos no se correlacionan entre sí a excepción de los últimos valores que se

encuentran en la línea cero esto se debe a que no existe ninguna disminución en el crecimiento de *Alternaria sp.* en una concentración de 1ppm de agua activada.

Con esto se puede concluir que el porcentaje de disminución del crecimiento en los hongos estudiados no es igual, rechazando la hipótesis H_0 y aceptando la hipótesis H_1 .

4.2. Conclusiones

- Se determinó que para el crecimiento de las bacterias fitopatógenas estudiadas el agar TSA es el mejor medio de cultivo.
- Se determinó que para el crecimiento de los hongos fitopatógenos estudiados el agar PDA es el mejor medio de cultivo.
- De acuerdo a los resultados obtenidos se acepta la H1 ya que sí existe actividad biocida y fungicida del agua activada frente a los 6 microorganismos fitopatógenos presentes en el tomate de mesa.
- En concentraciones mayores a 9ppm la actividad biológica de los microorganismos estudiados se ve totalmente inhibida al no existir crecimiento de ninguna colonia, por lo que las concentraciones planteadas de 200ppm, 400ppm, y 600ppm son extremadamente altas al no tener ningún crecimiento de los microorganismos estudiados.
- Con una concentración de 1ppm de agua activada no se elimina ninguno de los microorganismos estudiados pero si disminuye su crecimiento a excepción de la *Alternaria sp.* donde no hubo diferencias con el crecimiento del testigo.

- Los microorganismos estudiados no reaccionan de igual forma ante la presencia del agua activada necesitando diferentes concentraciones para eliminarlos.

4.3. Recomendaciones

- Determinar que los microorganismos aislados sean los requeridos mediante varios muestreos selectivos.
- Utilizar el agua activada fresca preparada el mismo día en que se van a realizar las pruebas.
- Realizar las diluciones de los microorganismos según la capacidad de crecimiento de cada uno.
- Establecer las condiciones de cultivo específicas para cada microorganismo a ser estudiado.
- Las pruebas realizadas en laboratorio deberían ser aplicadas en el campo para determinar la concentración de agua activada necesaria para eliminar los microorganismos fitopatógenos, ya que en nuestro estudio las concentraciones fueron bajas lo que podría representar una alternativa segura para eliminarlos.

Bibliografía

- RODRIGUEZ F. Humberto; MUÑOZ L. Sergio; ALCORTA G. Efraín. "El Tomate Rojo", Cap. 3, pp. 43-76
- J.B. Edmond; T.L. Senn; F.S. Andrews. "Principios de Horticultura", pp. 487-491
- ALONSO de la PAZ; Francisco Javier; SOUZA Virginia; SÁNCHEZ Egipsy. "Guía Completa de Hortalizas y Verduras", La Huerta Bella, pp. 82-85
- Dr. TAMARO D. "Manual de Horticultura y Fruticultura", tomo II, pp. 375-393
- POLLOCK Michael. "Enciclopedia del cultivo de frutas y Hortalizas", pp. 113
- Descriptores para el Tomate (*Lycopersicon* spp), pp. 37-39
- WRIGHT E. R.; RIVERA M. C. "Guía para el reconocimiento de enfermedades de las plantas".
- Traducción y adaptación española de VELASTEGUI S. José Ramiro. "Clasificación de los hongos fitopatógenos". Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- SCHAAD N. W.; JONES J.B.; and CHUN W. "Laboratory Guide for Identification of PLANT PATHOGENIC BACTERIA". Third Edition, 2001, pp. 3-10
- BREVIS A. Pedro; PADILLA E. Carlos. "Manual de Microbiología General", Universidad de Talca, 1996, pp. 24-111
- BARNETT H. L.; HUNTER B. "Illustrated Genera of Imperfect Fungi", Library of Congress Catalog Card Number 71-163710, pp. 53-209
- UNAM, "Diluciones seriales", Manual de Técnicas de Laboratorio, pp. 200-205, 2005.
- <http://www.alimentacionsana.com.ar/informaciones/novedades/tomate1.htm>
- <http://fichas.infojardin.com/hortalizas-verduras/tomate-tomatera-jitomate.htm>
- http://redescolar.ilce.edu.mx/redescolar/publicaciones/publi_reinos/flora/tomate/tomate.htm

- <http://es.wikipedia.org/wiki/Fitopat%C3%B3geno>
- <http://articulos.infojardin.com/huerto/cultivo-tomate-tomates.htm>
- <http://articulos.infojardin.com/huerto/Fichas/tomate-enfermedades.htm>
- <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/340/1/613.pdf>
- http://www.cubavibra.es/admin/viewPDF.php?PDF=/documentos/agricultores/Manual_para_tomates.pdf
- http://www.darwinnet.org/docs/guia_control_organico_plagas.pdf
- <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/9111/1/Alternativas%20de%20mejora%20en%20el%20manejo%20postcosecha%20de%20Tomate%20Ri%C3%B1%C3%B3n.pdf>
- <http://repository.unm.edu/bitstream/handle/1928/11199/El%20cultivo%20de%20tomate%20ri%C3%B1%C3%B3n%20en%20invernadero.pdf?sequence=1>
- <http://html.rincondelvago.com/plagas-y-enfermedades-en-el-cultivo-del-tomate.html>
- www.Aguaactivada.es/shop/page/1?shop_param=
- www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/340/1/613.pdf
- www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/3666/1/6193.pdf
- <http://vegetalespopayan.jimdo.com/prod-vegetales/tomate/>
- redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/932/93213303.pdf
- <http://es.thefreedictionary.com/abarquillar>
- <http://ciencia.glosario.net/agricultura/agroqu%C3%A9mica-10617.html>

ANEXOS

Anexo 1

Aislamiento de hongos endófitos

Preparar un terreno de cultivo con ágar nutritivo, 6gr de ágar en 150ml de agua destilada en un matraz de 500ml. Se coloca el ágar nutritivo y el agua destilada en el matraz, donde estos son agitados y calentados hasta diluir el ágar, es decir que quede sin grumos, evitando que la solución hierva, el medio es calentado y agitado de forma intercalada, posteriormente se coloca la solución en el autoclave con una temperatura de 100°C por 15 minutos para que se esterilice. De forma alterna la cámara de flujo laminar se enciende y desinfecta con alcohol para en ella realizar la siembra en las cajas petri.

De forma alterna se esteriliza la muestra de la planta (hoja), para ello primero se lava la hoja con agua, luego de ello se consideran las partes sanas de la misma. La muestra es lavada con agua destilada y luego se sumerge en hipoclorito de sodio por un cierto tiempo, de igual manera se lo hace con el etanol al 75%, el tiempo que estará la muestra sumergida dependerá de la contextura de la hoja, en este caso en específico fue de 50 y 30 segundos respectivamente. Teniendo en cuenta las condiciones estériles se cortan las muestras de la hoja entre

unos 3 a 4 mm², tratando de cortar entre la nervadura central y el borde de la hoja. Posteriormente las muestras son colocadas en la caja petri que contiene ágar nutritivo en forma de estrella.

Anexo 2

Cámaras de humedad

En una caja petri se coloca en forma triangular palillos de tal forma que el porta objetos no esté en contacto con la caja petri, posteriormente se coloca un gota de agar nutritivo sobre el porta objetos, al secarse este se procede a sembrar el microorganismo, luego de ello se coloca 5ml de agua destilada en la caja petri distribuida uniformemente, las cajas serán llevas hacia la estufa con una temperatura 27°C hasta el crecimiento de los microorganismos; observar al microscopio durante su desarrollo y de igual forma revisar periódicamente la presencia del agua destilada, en caso de faltar añadir más.

Anexo3

Tinción de gram

- Hacer el frotis
- Colorear con cristal violeta al 1% o violeta genciana durante 60 segundos, cuidando que el colorante cubra toda la preparación.
- Eliminar el exceso de colorante y lavar rápidamente con un chorro suave de agua, manteniendo la lámina en posición inclinada

- Cubrir la preparación con solución de lugol, dejándola actuar durante 60 segundos. Lavar nuevamente con agua.
- Decolorar con alcohol acetona al 95% durante 30 segundos, y lavar con agua.
- Colorear con el colorante de contraste que es la safranina durante 10 segundos.
- Lavar con agua, secar y observa al microscopio utilizando el objetivo de inmersión.

Las bacterias que retienen el colorante se denominan gram positivas y se observan de color azul.

Las bacterias que se decoloran con el alcohol y se tiñen con la safranina se denominan gram negativas y se observan de color rojo.

Anexo 4

Formación de esporas:

Suspender la colonia de bacterias crecida en un medio agar en una gota de agua en una lámina y secar al aire libre. Colorear la lámina con una solución acuosa de verde malaquita al 5%, colorar un pedazo de papel filtro sobre el frotis y llevarlo a baño maría, colocar continuamente el verde malaquita con el fin de que permanezca húmedo el frotis, realizar

esto durante por 10 minutos. Lavar en agua corriente y secar cerca del fuego. Cubrir el frotis con una solución de safranina al 15% durante 15 segundos. Enjuagar con agua y secar. Observar las células con el lente de 40x, las células se tiñen de rojo y las esporas de color verde.

Anexo5

En un medio de agar PCA sembrar la muestra de la bacteria y colocar otra capa del mismo agar sobre dicha muestra. Esperar a que solidifique y colocar en forma invertida en la jarra de anaerobiosis, donde se colocará una placa anaerocult A que produce CO₂. Dejar cerrado herméticamente la jarra por 48 horas en la estufa a 37°C, observar si existe crecimiento.

Anexo6

Para obtener un medio de color blanco de apariencia lechosa, el CaCO₃ debe formarse por la mezcla de una parte líquida y un precipitado al fondo. Autoclavar a 10 PSI por 1 hora o autoclavar la dextrosa en 100ml de agua separadamente. El medio autoclavado debe estar hasta unos 50°C en un agitador quedando el CaCO₃ suspendido por la agitación producida antes de colocar en las cajas. Para los tubos un mezclador de vórtice debe usarse para mezclar el CaCO₃ completamente, después de

quitar los tubos del waterbath. Al estar sólido el medio se procede a sembrar una muestra del microorganismo en estudio, se incuba a 37°C, hasta el crecimiento de las colonias (24 a 48h). Si se observan colonias de coloración amarilla su resultado es positivo a Pantoea.

GLOSARIO

Abarquillamiento.- Encorvar un cuerpo plano y delgado como si fuera un barquillo.

Abscisión de flores.- Separación o caída normal de un órgano, ya sea una rama, una hoja o un fruto, al deshacerse las paredes celulares en la base de dicho órgano.

Agar PDA.- Agar dextrosa de patata

Agar TSA.- Agar trypticase soja

Agar YDC.- Yeast extract-dextrose-CaCO₃

Agroalimentario.- Producto agrícola que ha recibido tratamiento industrial.

Agroquímicos.- Parte de la química aplicada que trata de la utilización de productos químicos en la agricultura; tales como abonos, herbicidas, etc. y de uso industrial de materias orgánicas procedentes de explotaciones agrarias: como aceites, residuos, etc.

Aire enrarecido.- Dilatar un gas haciéndolo menos denso.

Angulosos.- Que tiene ángulos o esquinas

Bacteriófagos.- Tipo de virus que infecta y solo se reproduce en el interior de las bacterias provocando su lisis. También se denomina fago.

Bacteriosis.- Enfermedades causadas por las bacterias.

Baya.- Fruto carnoso y jugoso, de forma redondeada, que contiene semillas rodeadas de pulpa, como la uva y el tomate.

Biocida.- De la sustancia que, introducida en el medio ambiente, destruye formas de vida no deseadas. Existen biocidas de tres clases: insecticidas, herbicidas y fungicidas.

Caldo bordelés.- Es una combinación de sulfato cúprico y cal hidratada, inventado por los viñateros de la región de Bordeaux, Francia, y conocida localmente como *Bouillie Bordelaise*. Se fabrica por neutralización de una solución de sulfato cúprico con la cal.

Carpelos.- Órgano sexual femenino de las plantas fanerógamas que sostiene y protege los óvulos; en las angiospermas forma el ovario, y su porción apical se prolonga, dando lugar al estilo y al estigma.

Coalescen.- Es la posibilidad de dos o más materiales de unirse en un único cuerpo.

Defoliación.- Caída prematura de las hojas de los árboles y plantas, producida por diversas causas

Eczema.- Enfermedad de la piel que se caracteriza por la aparición de descamación, manchas rojas y picores.

Electrodo.- Conductor eléctrico a través del cual puede entrar o salir una corriente eléctrica en un medio, ya sea una disolución electrolítica, un sólido, un gas o el vacío.

Elongadas.- Alargamiento que sufre un cuerpo que se somete a esfuerzo de tracción.

Epinastia.- Crecimiento más fuerte en la superficie superior que en la inferior de una planta, que provoca que una parte de la planta, como una hoja, se curve hacia abajo.

Estreptomicina.- Antibiótico que se usa para el tratamiento de la tuberculosis.

Etiologías.- Estudio de las causas de enfermedades en un orden determinado de efectos.

Exudado.- Es el conjunto de elementos extravasados en el proceso inflamatorio, que se depositan en el intersticio de los tejidos o cavidades del organismo. Provoca el edema inflamatorio.

Mucilaginoso.- El mucílago es una sustancia vegetal viscosa, coagulable al alcohol. También es una solución acuosa espesa de una goma o dextrina utilizada para suspender sustancias insolubles y para aumentar la viscosidad. Los mucílagos son análogos, por su composición y sus propiedades, a las gomas, dan con el agua disoluciones viscosas o se hinchan en ellas para formar una pseudo disolución gelatinosa. Proceden de las degradaciones de la celulosa, calosa, lignina y de las materias pécticas.

Fitopatógeno.- Se denomina fitopatógeno a un organismo, en general microorganismo, que causa enfermedades en las plantas por medio de disturbios en el metabolismo celular causado por la secreción de enzimas, toxinas, fitorreguladores y otras sustancias y, además, por la absorción de nutrientes de la célula para su propio crecimiento. Algunos fitopatógenos pueden causar también enfermedades por crecer y multiplicarse en el xilema y en el floema de la planta y, por ende, por bloquear el transporte de agua y nutrientes desde la raíz hacia las hojas o el flujo de savia desde las hojas hacia el resto de la planta. Los organismos fitopatógenos pueden ser nematodos, bacterias, virus, protozoarios, moluscos y hongos.

Fitorreguladores.- Es un producto regulador del crecimiento de las plantas; normalmente se trata de hormonas vegetales (fitohormonas), y sus principales funciones son estimular o paralizar el desarrollo de las raíces y las partes aéreas.

Frotis.- Se denomina frotis a la extensión que se realiza sobre un portaobjetos de una muestra o cultivo con objeto de separar lo más posible los microorganismos, ya que si aparecen agrupados en la preparación es muy difícil obtener una imagen clara y nítida. Este frotis debe ser posteriormente fijado al vidrio del portaobjetos para poder

aplicar los métodos habituales de tinción que permiten la observación al microscopio de las bacterias sin que la muestra sea arrastrada en los sucesivos lavados. La fijación de una extensión bacteriana hace que las bacterias queden inactivadas y adheridas al vidrio alterando lo menos posible la morfología bacteriana y las posibles agrupaciones de células que pudiera haber.

Fungicida.- Se entiende como tal las moléculas que actúan sobre hongos patógenos que producen enfermedades criptogámicas.

Fungosis.- Es una infección de la piel ocasionada por hongos que invaden y viven dentro del huésped.

Inóculo.- Suspensión de microorganismos que se transfieren a un ser vivo o a un medio de cultivo a través de la inoculación.

Lóculos.- Cada uno de los compartimientos en que están encerradas las semillas de un fruto

Microorganismo.- También llamado microbio, es un ser vivo que sólo puede visualizarse con el microscopio. Son organismos dotados de individualidad que presentan, a diferencia de las plantas y los animales,

una organización biológica elemental. En su mayoría son unicelulares, aunque en algunos casos se trate de organismos cenóticos compuestos por células multinucleadas, o incluso multicelulares. Dentro de los microorganismos se encuentran organismos unicelulares procariotas, como las bacterias, y eucariotas, como los protozoos, una parte de las algas y los hongos, e incluso los organismos de tamaño ultramicroscópico, como los virus.

Moteado.- Que está salpicado con lunares o manchas de distintos colores.

Organismo cosmopolita.- Organismo común en muchos lugares del mundo.

Ovario sincárpico.- Compuesto de gran cantidad de carpelos los cuales se unen estrechamente entre sí para formar una estructura compacta y de forma por lo general redondeada.

Patógenos.- Produce enfermedad.

Pecioladas.- Es el rabillo que une la lámina de una hoja a su base foliar o al tallo.

Pedícelos.- Es la estructura que une a la flor o al fruto con la rama que la sostiene o con otra estructura más compleja. También se le conoce como pedúnculo.

Pedúnculo.- La ramita o rabillo que sostiene una inflorescencia o un fruto tras su fecundación.

Pericarpio.- La parte del fruto que recubre su semilla y consiste en el ovario fecundado.

Raíces adventicias.- Son aquellas que no provienen de la radícula del embrión, sino que se originan en cualquier otro lugar de la planta, como por ejemplo en alguna porción del vástago, en tallos subterráneos y en raíces viejas. Pueden tener o no ramificaciones, pero tienen una forma y un tamaño relativamente homogéneo, formando sistemas radicales fibrosos.

Raquis.- Es el nombre para la parte axial de numerosas estructuras compuestas en animales, hongos y vegetales.

Reniformes.- De forma de riñón

Tricomas.- Apéndice de la epidermis de las plantas formado por una o varias células y con forma de pelo.