



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE AGROBIOLOGÍA "PRESIDENTE JUÁREZ"

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

METABOLITOS SECUNDARIOS DE TINGUARAQUE (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) CON PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS PRESENTA:

ING. FRANCISCO ANTONIO OLMEDO LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. PEDRO ANTONIO GARCÍA SAUCEDO

URUAPAN, MICHOACÁN, MÉXICO. MARZO DE 2017





UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE AGROBIOLOGÍA “PRESIDENTE JUÁREZ”

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

**METABOLITOS SECUNDARIOS DE TINGUARAQUE (*Solanum
lycopersicum* var. *cerasiforme*) CON PROPIEDADES
ANTIMICROBIANAS**

TESIS

QUE PRESENTA:

ING. FRANCISCO ANTONIO OLMEDO LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. PEDRO ANTONIO GARCÍA SAUCEDO

ASESORES:

DR. RAFAEL SALGADO GARCIGLIA

DRA. ROSA ELENA PÉREZ SÁNCHEZ

DR. EDGARDO FEDERICO HERNÁNDEZ VALDÉS

DR. JUAN FLORENCIO GÓMEZ LEYVA

URUAPAN, MICHOACÁN, MÉXICO. MARZO DE 2017





UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas

DRA. LILIANA MÁRQUEZ BENAVIDES
COORDINADORA GENERAL DEL PROGRAMA INSTITUCIONAL DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
P R E S E N T E

Por este conducto nos permitimos comunicarle que después de haber revisado el manuscrito final de la Tesis Titulada: "Metabolitos secundarios de tinguarake (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme) con propiedades antimicrobianas" presentado por el ING. Francisco Antonio Olmedo López, consideramos que reúne los requisitos suficientes para ser publicado y defendido en Examen de Grado de Maestro en Ciencias.

Sin otro particular por el momento, reiteramos a usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Morelia, Michoacán, a 08 de marzo de 2017

MIEMBROS DE LA COMISIÓN REVISORA



Dr. Pedro Antonio García Saucedo
Director de Tesis



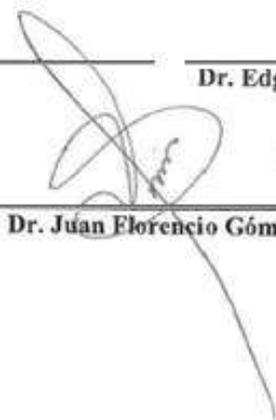
Dr. Rafael Salgado Garciglia



Dra. Rosa Elena Pérez Sánchez



Dr. Edgardo Federico Hernández Valdés



Dr. Juan Florencio Gómez Leyva

Este trabajo se realizó dentro del Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez" bajo la dirección general del Dr. Pedro Antonio García Saucedo, con el apoyo del Dr. Juan Florencio Gómez Leyva del Instituto Tecnológico de Tlajomulco, Jalisco (ITTJ); el Dr. Alejandro Morales Guerrero del Instituto Tecnológico Superior de Uruapan (ITSU); la Biol. Yolanda Magdalena García Rodríguez del Instituto de investigaciones de ecosistemas y sustentabilidad (IIES) de Morelia, Michoacán y el Dr. Jesús Herrera Basurto de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH)

Cada uno de mis logros tiene nombre y apellido,

cada victoria tiene un pasado del que me siento

emocionado de compartir. Es gracias a ustedes,

mis buenos padres, que pude alcanzar mis sueños

y hoy espero que se sientan orgullosos de mí. A

ustedes les dedico este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Al Conacyt (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) por financiar este proyecto.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por permitirme estar en su matrícula una vez más.

A la Facultad de Agrobiología Presidente Juárez por dejarme realizar mi trabajo dentro de sus instalaciones.

Al Instituto Tecnológico Superior de Tlajomulco y en específico al Laboratorio de Biología Molecular por permitirme realizar parte del trabajo dentro de sus instalaciones además de compartir su equipo y material conmigo.

Al Instituto de investigaciones de ecosistemas y sustentabilidad (IIES) de la ciudad de Morelia por permitirme realizar los análisis por cromatografía de gases dentro de sus instalaciones.

Al Instituto Tecnológico Superior de Uruapan y en específico al Centro de Investigaciones Aplicadas (CIA) por permitirme realizar parte del trabajo dentro de sus instalaciones además de compartir su equipo y material conmigo.

A mis padres y a mi hermana por darme su apoyo en todo lo que me he propuesto.

Al Dr. Pedro Antonio García Saucedo por ser mi asesor y profesor, por su confianza, por su apoyo y por darme la oportunidad de cursar esta maestría.

Al Dr. Rafael Salgado Garciglia, por ser mi profesor y por su apoyo en la resolución de problemas y confusiones suscitadas durante el curso de la maestría.

Al Dr. Juan Florencio Gómez Leyva por abrirme las puertas del Instituto Tecnológico Superior de Tlajomulco, Jalisco.

Al Dr. Jesús Herrera Basurto por apoyarme en la realización de los análisis estadísticos.

A la Dra. Rosa Elena Pérez Sánchez por sus observaciones y sugerencias que permitieron terminar y mejorar el trabajo.

Al Dr. Edgardo Federico Hernández Valdés por sus observaciones y consejos para proceder en la realización del trabajo.

Al M.C. Atahualpa Guzmán de Casa por ser mi profesor, por sus consejos y por darme ánimos para seguir adelante.

A la Biol. Yolanda Magdalena García Rodríguez por apoyarme en la realización del análisis químico de los extractos, con actividad biológica por cromatografía de gases-masas.

Al Dr. Alejandro Morales Guerrero, por todo su apoyo y por facilitarme el equipo del Instituto Tecnológico Superior de Uruapan (ITSU) para la determinación de proteínas y calorías.

A la M.C. (Próximamente Dra.) Teresita del Carmen Ávila, por compartir su conocimiento y experiencia conmigo durante la realización de este trabajo.

Al M.C. Juan Paulo Rojas Murillo y al M.C Octaviano Lemus León por convencerme de estudiar una maestría y por su disposición para brindarme su apoyo.

Al la Ing. Miriam Arzola, y al Ing. Emiliano Lucrecio, por apoyarme en todo lo que se me ocurrió a lo largo de la maestría y siempre estar conmigo haciéndome segunda.

Al M.C. Rodrigo Omar Mendoza Tafolla (Señor Guajolote) por apoyarme en diversos momentos donde me veía estancado con mi trabajo.

Al Ing. Alexander Basurto García por instruirme en la operación de equipos de laboratorio.

A la Q.F.B. Erendira Rubio Ochoa y a la Ing. Jeannette por apoyarme en la realización de pruebas preliminares *in vitro*.

A Lauro, Andrés, Kenia, Adriana, Clarie, Javier, Guadalupe, Luisa, Don Efra, Griselda, Armando, David, Daniel, Pedro, José, Rogelio, Aimara, Saraí y Rafael por ser buenos compañeros de trabajo.

A Denise, Ana, Maricruz y Alejandro por ser buenos compañeros de clase.

A todos los demás que me hicieron falta, también ¡muchas gracias!

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN GENERAL	v
GENERAL ABSTRACT	vii
I.-INTRODUCCIÓN GENERAL	1
II.- REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1.-EL TINGUARAQUE	3
2.2.-LOS METABOLITOS SECUNDARIOS	4
2.3.-EXTRACCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	5
2.4.-TIPOS DE BIOACTIVIDAD	6
2.5.-EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER	6
2.6.-IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS POR	
TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS	7
III.-JUSTIFICACIÓN	8
IV.-OBJETIVOS	9
4.1.-OBJETIVO GENERAL	9
4.2.-OBJETIVOS ESPECIFICOS	9
V.-HIPOTESIS	9
VI.-ESTRATEGIA METODOLOGICA GENERAL	9
VII.-BIBLIOGRAFIA	10
VIII.- RESCATE, ESTABLECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE UN JITOMATE SILVESTRE TIPO CHERRY: EL CASO DEL TINGUARAQUE	17
8.1.- RESUMEN	17
8.2.-ABSTRACT	18
8.3.- INTRODUCCIÓN	19
8.4.- OBJETIVOS	20
8.5.-MATERIALES Y MÉTODOS	20
8.5.1.-Obtención de material silvestre	20
8.5.2.- Establecimiento de plántulas	21
8.5.3.-Análisis fisicoquímicos del fruto	22
8.5.4.-Análisis sensorial de frutos	29
8.6.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
8.6.1.-Determinación de tasa de germinación (TG ₅₀)	29
8.6.2.-Factores agronómicos	30
8.6.4.-Análisis fisicoquímicos de frutos	33
8.6.5.-Análisis sensoriales de frutos	34
8.7.- CONCLUSIONES	36
8.8.-REFERENCIAS	37
IX.-ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE TINGUARQUE (<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>) E IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS	41
9.1.-RESUMEN	41
9.2.-ABSTRACT	42
9.3.-INTRODUCCIÓN	43
9.4.-OBJETIVOS	44
9.5.-MATERIALES Y MÉTODOS	44

9.5.1.-Material vegetal	44
9.5.2.-Preparación de extractos	45
9.5.3.-Material microbiológico	45
9.5.4.-Confrontaciones	46
9.5.5.-Selección de extractos	47
9.5.6.-Determinación de concentración letal media (CL ₅₀)	47
9.5.7.-Análisis por cromatografía de capa fina	49
9.5.8.-Elaboración de bioautografías	49
9.5.9.-Análisis por cromatografía de gases-masas (GC-MS)	49
9.6.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
9.6.1.-Evaluación de actividad antimicrobiana de extractos	50
9.6.2.-Determinación de concentración letal media (CL ₅₀)	58
9.6.3.-Análisis por cromatografía de capa fina	62
9.6.4.-Análisis por cromatografía de gases-masas	63
9.6.5.-Ensayos preliminares <i>in vitro</i>	66
9.7.-CONCLUSIONES	66
9.8.-REFERENCIAS	67
X.-DISCUSIÓN GENERAL	78
XI.-CONCLUSIONES	78
11.1.-CONCLUSIÓN GENERAL	78
11.1.1-Conclusiones específicas	79
XII.-PERSPECTIVA	79

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.- Planta de tinguaraque (<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>)	3
Figura 2.- Comparación de la germinación de semillas de tinguaraque (<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>) con la de jitomate comercial tipo Cherry (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) Se determinó que la tasa media de germinación (TG ₅₀) para tinguaraque es de 17 días después de establecido el almacigo, mientras que para la variedad comercial es de solo 13 días	30
Figura 3.- Etapas fenológicas del tinguaraque (<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>)	31
Figura 4.- Comparación de rangos totales de bloque de parámetros sensoriales obtenidos tras la evaluación de frutos de tinguaraque y jitomate cherry	35
Figura 5.- Sabor general percibido por los jueces para frutos de tinguaraque y jitomate cherry, destacando la predominancia del sabor “refrescante”	35
Figura 6.- Parámetros del tinguaraque que deberían mejorarse según el criterio de los jueces	36
Figura 7.- Efecto de factores individuales e interacción en la inhibición del hongo <i>Colletotrichum acutatum</i> por el método Kirby-Bauer en mm	51
Figura 8.- Efecto de factores individuales e interacción en la inhibición del	

	hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> por el método Kirby-Bauer en mm	51
Figura 9.-	Efecto de factores individuales e interacción en la inhibición de la bacteria <i>Clavibacter michiganensis</i> subespecie <i>michiganensis</i> por el método Kirby-Bauer en mm	52
Figura 10.-	Efecto de factores individuales e interacción en la inhibición de la bacteria <i>Pantoea stewartii</i> por el método Kirby-Bauer en mm	52
Figura 11.-	Efecto inhibitorio de extractos hexánicos (H), clorofórmicos (C) y metanólicos (M) de tejido radicular (TR) y aéreo (TA) obtenidos de plantas de “tinguaraque” (<i>Solanum lycopersicum</i> variedad <i>cerasiforme</i>) deshidratadas en etapa de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) sobre el hongo <i>Colletotrichum acutatum</i> . Se aplicaron 30 µl de cada extracto	55
Figura 12.-	Efecto inhibitorio de extractos hexánicos (H), clorofórmicos (C) y metanólicos (M) de tejido radicular (TR) y aéreo (TA) obtenidos de plantas de “tinguaraque” (<i>Solanum lycopersicum</i> variedad <i>cerasiforme</i>) deshidratadas en etapa de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) sobre el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> . Se aplicaron 30 µl de cada extracto	55
Figura 13.-	Efecto inhibitorio de extractos hexánicos (H), clorofórmicos (C) y metanólicos (M) de tejido radicular (TR) y aéreo (TA) obtenidos de plantas de “tinguaraque” (<i>Solanum lycopersicum</i> variedad <i>cerasiforme</i>) deshidratadas en etapa de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) sobre la bacteria <i>Clavibacter michiganensis</i> subespecie <i>michiganensis</i> . Se aplicaron 30 µl de cada extracto	56
Figura 14.-	Efecto inhibitorio de extractos hexánicos (H), clorofórmicos (C) y metanólicos (M) de tejido radicular (TR) y aéreo (TA) obtenidos de plantas de “tinguaraque” (<i>Solanum lycopersicum</i> variedad <i>cerasiforme</i>) deshidratadas en etapa de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) sobre la bacteria <i>Pantoea stewartii</i> . Se aplicaron 30 µl de cada extracto	57
Figura 15.-	Efecto de extractos sobresalientes sobre los microorganismos utilizados	58
Figura 16.-	Grafica empleada para determinar la concentración letal media del extracto hexánico elaborado con tejido radicular de planta en floración (HTRE2) sobre la bacteria <i>Clavibacter michiganensis</i> a partir del recuento celular	58
Figura 17.-	Grafica empleada para determinar la concentración letal media del de extracto hexánico elaborado con tejido aéreo de planta en producción (HTAE4) sobre la bacteria <i>Pantoea stewartii</i> a partir del recuento celular	59
Figura 18.-	Efecto de diferentes concentraciones de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (M TA E3) y control negativo sobre el hongo <i>Colletotrichum acutatum</i> empleando la técnica del medio envenenado. A: 0 µg/mL (Control positivo); B: 0.85 mg/mL; C: 1.7 mg/mL; D: 2.6 mg/mL; E: 3.4mg/mL; F: Azoxystrobin + Cu ₂ (OH) ₃ Cl 2 mg/ml + 6.25 mg/ml	60
Figura 19.-	Grafica empleada para determinar la concentración letal media del de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta	

	en fructificación (MHTE3) sobre el hongo <i>Colletotrichum acutatum</i> a partir de medición de crecimiento radial sobre medio envenenado con diferentes concentraciones	60
Figura 20.-	Efecto de diferentes concentraciones de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (MHTE3) y control negativo sobre el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> empleando la técnica del medio envenenado. A: 0 µg/mL (Control positivo); B: 0.42 mg/mL; C: 0.63 mg/mL; D: 0.84 mg/mL; E: 1.68 mg/mL; F: Azoxystrobin + Cu ₂ (OH) ₃ Cl 2 mg/ml + 6.25 mg/ml	61
Figura 21.-	Grafica empleada para determinar la concentración letal media del de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (MHTE3) sobre el hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> a partir de medición de crecimiento radial sobre medio envenenado con diferentes concentraciones	61
Figura 22.-	Cromatograma de compuestos polares y estándares presentes en el extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de plantas de tinguaraque (<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>) en fructificación, el extracto fue concentrado hasta que le fue retirado el 90% del solvente	63
Figura 23.-	Cromatograma obtenido tras el análisis del extracto HTRE2 por medio de cromatografía de gases acoplada a masas	64
Figura 24.-	Cromatograma obtenido tras el análisis de el extracto HTAE4 por medio de cromatografía de gases acoplada a masas	65
Figura 25.-	Plantas de zarzamora (<i>Rubus</i> sp.) inoculadas con <i>Rhizopus</i> sp. Cultivadas <i>in vitro</i> . A la izquierda: planta creciendo sobre medio MS adicionado con extracto MTAE3 (0.85mg/ml) no se observan signos del patógeno; a la derecha planta creciendo sobre medio MS sin tratar, se observa micelio creciendo sobre el medio y la planta	66

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág.
Tabla 1.-	Porcentaje de germinación de semillas de tinguaraque (<i>Solanum lycopersicum</i> var. <i>cerasiforme</i>) y de jitomate cherry (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) después de establecido el almácigo	29
Tabla 2.-	Factores agronómicos del tinguaraque y el jitomate cherry	33
Tabla 3.-	Análisis fisicoquímicos de frutos de tinguaraque y jitomate Cherry	34
Tabla 4.-	Nomenclatura abreviada de extractos	45
Tabla 5.-	Compuestos no polares de interés y/o mayoritarios presentes en el tejido radicular del tinguaraque durante la etapa de floración	64
Tabla 6.-	Compuestos no polares de interés y/o mayoritarios presentes en el tejido aéreo del tinguaraque durante la etapa de producción	65

RESUMEN GENERAL

El jitomate silvestre o tinguaraque (*Solanum lycopersicum* variedad cerasiforme) es una planta silvestre perteneciente a la familia Solanaceae que se distribuye en zonas perturbadas y de transición. Produce pequeños frutos comestibles que toleran tanto a plagas como enfermedades relacionadas al jitomate comercial (*Solanum lycopersicum*). Esta tolerancia se ha relacionado con sus mecanismos de defensa, destacando los elementos bioquímicos, basados en la secreción y acumulación de metabolitos secundarios o fitoquímicos provenientes de distintas familias estructurales y cuya concentración cualitativa y cuantitativa varía según la etapa fenológica y el tejido que se analice. No obstante lo anterior, al momento no existen estudios acerca de los fitoquímicos presentes en el tinguaraque, así como el potencial uso como biocontroladores de patógenos de cultivos de interés agronómico. Por tal motivo el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antimicrobiana de extractos con diferente polaridad, obtenidos de tejido radicular y aéreo de tinguaraques (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) de cuatro etapas fenológicas cultivados bajo condiciones de invernadero. Para tal fin, en el **primer artículo**, se describe como se obtuvo, se propagó y se cultivó el tinguaraque bajo condiciones de invernadero, así como la comparación de su respuesta con la del jitomate comercial tipo cherry. Para tal fin se germinó semilla obtenida de frutos silvestres y se determinó la tasa media de germinación (TG_{50}). Se seleccionaron 20 plántulas y se establecieron sobre tierra de encino, se colocaron bajo malla sobre y se regaron diariamente hasta capacidad de campo. La fórmula general de fertilización fue 275-100-500-150-75 (N-P₂O₅-K₂O-CaO-S) dosificadas en aplicaciones semanales. Los frutos cosechados fueron analizados por los métodos internacionales propuestos por la AOAC para determinación de sólidos solubles totales, pH, volumen, extracto etéreo, porcentaje de cenizas, acidez titulable, porcentaje de humedad, porcentaje de materia seca, porcentaje de semilla, cantidad de semilla, porcentaje de jugosidad, pulpa, Kcal/gramo, factor °Hue, textura y cantidad de proteína con ligeras modificaciones. Adicionalmente se realizó un análisis sensorial, el cual se evaluó mediante la prueba de Friedman. El procedimiento se repitió con

especímenes de jitomate cherry. Los días transcurridos desde el trasplante hasta floración, fructificación y cosecha, así como rendimiento, y número de frutos se evaluaron bajo un diseño estadístico completamente al azar con 2 tratamientos y 20 repeticiones. Los resultados de los análisis fisicoquímicos se analizaron bajo un diseño estadístico completamente al azar con 2 tratamientos y 4 repeticiones. Como resultados, se determinó una TG_{50} de 17 días para el tinguaraque contra 13 días del cherry. Desde el punto de vista fenológico, la duración tanto de las etapas de ramificación, floración, fructificación y producción fueron similares para ambas plantas. El manejo agronómico empleado, mantuvo al tinguaraque en producción por 27 semanas que duró la evaluación, obteniendo un rendimiento promedio por planta de $1700 \text{ g} \pm 140$, equivalente a 34 ton/ha, con un peso promedio de fruto de $0.71 \text{ g} \pm 0.07$. Dentro de los análisis fisicoquímicos, los resultados mostraron que no hubo diferencia significativa en contenido energético, porcentaje de proteína y acidez titulable; mientras que en los parámetros de sólidos solubles, materia seca, cenizas y color, los valores del tinguaraque (13.53 ± 0.61 °Brix, 14.13 ± 0.06 %, 5.4 ± 0.27 % y 233.16 ± 2.63 °Hue, respectivamente) fueron mayores a los del cherry (8.93 ± 3.01 °Brix, 10.05 ± 0.94 %, $4.49.4 \pm 0.59$ % y 221.35 ± 2 °Hue, respectivamente). Finalmente, dentro del análisis sensorial de frutos, los participantes dieron calificaciones más altas a la dulzura y sabor del tinguaraque. Se concluyó que al ser el tinguaraque una planta silvestre y poseer un comportamiento agronómico similar al del jitomate cherry además de superar a este en diversos factores, es una planta con potencial agronómico y puede ser propuesta para integrar programas de conservación y mejoramiento genético. En el **segundo artículo**, se diseñó una estrategia para la búsqueda e identificación de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana. se obtuvieron extractos de tejido aéreo (TA) y tejido radicular (TR) de plantas de tinguaraque en las etapas de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) mediante maceración por barrido, con los solventes hexano (H), cloroformo (C) y metanol (M). El efecto antimicrobiano de los extractos se probó de manera preliminar por el método de difusión en agar. Mediante análisis estadístico fueron seleccionaron los mejores extractos, se determinó que los extractos HTRE2 y HTAE4 presentaron

actividad inhibitoria contra las bacterias *Clavibacter michiganensis* (CL₅₀: 5.6 mg/mL) y *Pantoea stewartii* (CL₅₀:5 mg/mL), respectivamente. Adicionalmente, el extracto MTAE3, resultó efectivo para controlar los hongos *Colletotrichum acutatum* y *Pleurotus ostreatus* (DL₅₀: 1.13 y 0.6 mg/mL respectivamente). Mediante el análisis de MTAE3 por cromatografía de capa fina, se separaron compuestos con RF similares a los estándares de los flavonoides quercetina (Rf = 0.875), ácido ferúlico (Rf = 0.579), rutina (Rf = 0.716) y ácido clorogénico (Rf = 0.341). El análisis por gases-masas (GC-MS) registró artemisia ketone (1.9 mg/g) para el extracto HTRE2; y para HTAE4 se encontró 4-Careno (10.48 mg/g), β-pineno (1.17 mg/g) y eugenol (1.99 mg/g), compuesto reportados como antimicrobianos por la literatura. Se concluyó que el tinguaraque produce metabolitos secundarios como terpenoides y flavonoides capaces de contrarrestar el desarrollo de microorganismos, que pueden ser patógenos de variedades comerciales de jitomate. Y que es preferente la colecta de materiales para la elaboración de extractos en las etapas de producción y fructificación.

Palabras clave: tomate silvestre, cromatografía, inhibición, flavonoide, terpenoide.

GENERAL ABSTRACT

The wild tomato or tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) is a wild plant belonging to the family Solanaceae that is distributed in zones disturbed and of transition. Produces small edible fruits that tolerate both pests and diseases related to commercial tomato (*Solanum lycopersicum*). This tolerance has been related to its defense mechanisms, emphasizing the biochemical elements, based on the secretion and accumulation of secondary metabolites or phytochemicals coming from different structural families and whose qualitative and quantitative concentration varies according to the phenological stage and the tissue being analyzed. Nevertheless, at the moment there are no studies on the phytochemicals present in tinguaraque, as well as the potential use as bio-controllers of pathogens of crops of agronomic interest. For this reason the objective of this research was to evaluate the antimicrobial activity of extracts with different polarity, obtained from root and aerial tissue of Tinguaraques of four

phenological stages cultivated under greenhouse conditions. For this purpose, in **first article**, describes how the tinguaraque was obtained, propagated and cultivated under greenhouse conditions, as well as the comparison of its response with that of commercial cherry tomato. For this purpose, seeds obtained from wild fruits were germinated and the mean germination rate (TG_{50}) was determined. Twenty seedlings were selected and settled on oak land, placed under leftover mesh and watered daily to field capacity. The general fertilization formula was 275-100-500-150-75 (N-P₂O₅-K₂O-CaO-S) dosed in weekly applications. The fruits harvested were analyzed by the international methods proposed by the AOAC for the determination of total soluble solids, pH, volume, ethereal extract, percentage of ash, titratable acidity, percentage of moisture, percentage of dry matter, percentage of seed, quantity of seed, Percentage of juiciness, pulp, Kcal / gram, °Hue factor, texture and quantity of protein with slight modifications. Additionally, a sensorial analysis was performed, which was evaluated by the Friedman test. The procedure was repeated with cherry tomato specimens. The days from transplanting to flowering, fruiting and harvesting, as well as yield, and number of fruits were evaluated under a completely randomized design with 2 treatments and 20 replicates. The results of the physico-chemical analyzes were analyzed under a completely randomized design with 2 treatments and 4 replicates. As results, a TG_{50} of 17 days for the tinguaraque was determined against 13 days of the cherry. From a phenological point of view, the duration of both branching, flowering, fruiting and production stages were similar for both plants. The agronomic management employed, kept the tinguaraque in production for 27 weeks during the evaluation, obtaining an average yield per plant of 1700 g ± 140, equivalent to 34 ton / ha, with an average fruit weight of 0.71 g ± 0.07. Within the physicochemical analyzes, the results showed that there was no significant difference in energy content, percentage of protein and titratable acidity; While in the parameters of soluble solids, dry matter, ash and color, the values of tinguaraque (13.53 ± 0.61 °Brix, 14.13 ± 0.06 %, 5.4 ± 0.27 % y 233.16 ± 2.63 °Hue, respectively) were higher than those of cherry (8.93 ± 3.01 °Brix, 10.05 ± 0.94 %, 4.49.4 ± 0.59 % y 221.35 ± 2 °Hue, respectively). Finally, within the sensory analysis of fruits, the

participants gave higher marks to the sweetness and flavor of the tinguaraque. It was concluded that because the tinguaraque is a wild plant and has an agronomic behavior similar to that of cherry tomatoes, besides overcoming it in several factors, it is a plant with agronomic potential and can be proposed to integrate conservation and breeding programs. In the **second article**, a strategy was designed for the search and identification of secondary metabolites with antimicrobial activity. Extracts of aerial (TA) and root tissue (TR) from Tinguaraque plants were obtained in the stages of branching (E1), flowering (E2), fruiting (E3) and production (E4) by sweeping maceration with solvents Hexane (H), chloroform (C) and methanol (M). The antimicrobial effect of the extracts was preliminarily tested by the agar diffusion method. The best extracts were selected by statistical analysis. The extracts HTRE2 and HTAE4 were found to have inhibitory activity against the bacteria *Clavibacter michiganensis* (LC₅₀: 5.6 mg / mL) and *Pantoea stewartii* (LC₅₀: 5 mg / mL), respectively. In addition, the MTAE3 extract was effective to control the fungi *Colletotrichum acutatum* and *Pleurotus ostreatus* (LC₅₀: 1.13 and 0.6 mg / mL, respectively). By the analysis of MTAE3 by thin layer chromatography, RF compounds similar to flavonoid standards quercetin (Rf = 0.875), ferulic acid (Rf = 0.579), rutin (Rf = 0.716) and chlorogenic acid (Rf = 0.341). Mass-gas analysis (GC-MS) recorded artemisia ketone (1.9 mg / g) for the extract HTRE2; And for HTAE4, 4-Carene (10.48 mg / g), β -pinene (1.17 mg / g) and eugenol (1.99 mg / g), reported as antimicrobial by the literature, were found. It was concluded that tinguaraque produces secondary metabolites such as terpenoids and flavonoids capable of counteracting the development of microorganisms, which may be pathogens of commercial varieties of tomato. And that the collection of materials for the preparation of extracts in the stages of production and fruiting is preferred.

Keywords: wild tomato, chromatography, inhibition, flavonoid, terpenoid.

I.-INTRODUCCIÓN GENERAL

Actualmente la agricultura convencional se encuentra ligada al uso de productos químicos artificiales que contaminan mantos acuíferos y suelos, también provocan la pérdida de biodiversidad y son nocivos para el ambiente (Pérez, 2010). Por ello, es importante buscar alternativas que puedan dar un enfoque ecológico a la agricultura, tal como el estudio de plantas silvestres, cuyos múltiples mecanismos de defensa les permiten adaptarse a medios hostiles y que no requieren de acción alguna del hombre para su supervivencia, que además pueden actuar como restauradoras del suelo y que, por otro lado, mediante la biotecnología se puedan aprovechar las estrategias desarrollados por ellas para mejorar la producción alimenticia (Benites-Jump, 2016).

Los mecanismos de defensa de las plantas se dividen estructurales y bioquímicos, dentro de los primeros destacan la presencia de ceras, cutícula, paredes celulares gruesas, la ubicación y forma de aperturas naturales, formaciones de capas corchosas, exudación de goma, etcétera; por otro lado, la defensa bioquímica consiste en la producción, acumulación y secreción de metabolitos secundarios como flavonoides, terpenoides, alcaloides, enzimas que degradan la pared celular de los patógenos y oxidan fenoles, entre otros (Pedrocchi-Renault, 1998; Lundstedt y Valdés, 2013)

La literatura reporta que metabolitos secundarios principalmente terpenoides, flavonoides y alcaloides están presentes en las solanáceas con la finalidad de participar en la defensa bioquímica, por ejemplo, en *Solanum pseudocapsicum* (cerezo de Jerusalén) se han identificado terpenos como α -pineno, 1,8-cineol, α -terpineno, acetato de bornilo, etcétera; por otro lado en *Solanum nigrum* (hierva mora) se encontraron flavonoides como el ácido isovainílico además de otros ácidos orgánicos como el isocitrónico y el tartárico; finalmente se ha reportado la presencia de alcaloides esteroidales en *Solanum melongena* (Berenjena). (Klocke *et al.*, 1987; Badui, 1988; Sepúlveda-Jiménez *et al.*, 2003; La Cantore *et al.*, 2004; Shan-Shan *et al.*, 2005; Aliero *et al.*, 2006;

Urban, 2007; Sfara *et al.*, 2009; Mulyaningsih *et al.*, 2010; Nissen *et al.*, 2010; Xiudong *et al.*, 2011; Kariyat *et al.*, 2013; Khaoukha *et al.*, 2014; Duke, 2015; Pandey, 2015; Saleh, 2015; Jilani-Khan *et al.*, 2016).

Los metabolitos secundarios, según su tipo, pueden ser extraídos con solventes de polaridad afín, técnicas como la maceración de material pulverizado, extracción Soxhlet, infusión, etc. han permitido obtener extractos con capacidad antimicrobiana, por ejemplo los de plantas silvestres como *Styrax ramirezii* (Styracaceae) tienen efectos antagónicos contra fitopatógenos como *Pantoea stewartii* y *Armillaria* sp. Entre otros. Por otra parte, dentro de lo reportado en solanáceas, se ha demostrado que extractos metanólicos de *Cestrum buxifolium* (Solanaceae) pueden inhibir bacterias patógenas como *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. A pesar de lo antes mencionado, existen numerosas especies de esta familia con potencial utilidad en la agronomía tales como el tinguaraque, de las que se desconoce su actividad antimicrobiana y los metabolitos responsables (Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006; Corzo-Barragán, 2012; Mendoza-Tafolla, 2016).

Especies como el tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) han sido estudiadas en múltiples aspectos, pero se desconoce la que metabolitos secundarios participan en sus mecanismos bioquímicos de defensa. Esta planta se distribuye en zonas de clima templado como bosques y áreas de transición, además es común encontrarle como planta pionera en áreas perturbadas. Su capacidad adaptativa y de resistencia a factores adversos, ha sido evaluada para emplearse como portainjerto de jitomate comercial (*Solanum lycopersicum* L.), dando como resultado tolerancia a patógenos del suelo como *Alternaria solani* y *Fusarium* sp., en contraste con plantas no injertadas, además descubrieron que mediante el injerto no se demeritan las características agronómicas y físico-químicas de frutos de la variedad comercial, por otra parte, se ha demostrado que el tinguaraque y jitomate que lo emplea como patrón presentan tolerancia a las principales plagas del jitomate como son: paratrioza (*Bactericera cockerelli*);

minadores (*Liriomyza* spp.); pulgones (Aphididae); y mosquitas blancas (Aleyrodidae) (Álvarez-Hernández *et al.*, 2009; Álvarez-Hernández, 2013).

II.-REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.-EL TINGUARAQUE

El tomate silvestre o tinguaraque (Figura 1) es una planta que pertenece a la familia *Solanaceae* y al género *Solanum*. Está reportada en el estado de Michoacán en las regiones del Valle de Apatzingán, el Valle de los Reyes y la Ciénaga de Chápala (Martínez, 1979; Álvarez-Hernández *et al.*, 2009).



Figura 1.- Planta de tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). A: planta creciendo de manera vertical apoyada por tutores; B: folíolos; C: inflorescencia racimosa; D: racimo de frutos; E: semillas extraídas de fruto.

Es una planta herbácea de apariencia similar a la del tomate comercial, anual, con pelos glandulares resinosos. Crece más de un metro de altura, con porte erecto o trepador. Sus hojas son alternas, de hasta 25 cm de largo, divididas en varios folíolos de diferentes tamaños que a su vez pueden estar

divididos principalmente en la base, sus ápices son puntiagudos y el margen es aserrado a ligeramente hendido. Las flores se disponen en forma de inflorescencias racimosas, ubicadas generalmente en las bifurcaciones de los tallos, o en los nudos; el cáliz de éstas es de cinco sépalos angostamente triangulares y puntiagudos; Los frutos son carnosos, jugosos y globosos, a veces alargados y de color rojo al madurar con numerosas semillas. La planta es aromática al someterse a daño mecánico, liberando el típico aroma a tomate (Correll y Johnston, 1970).

El tinguarake se distribuye desde los 0 hasta los 1200 msnm. En zonas templadas (asociado a plantas que le protegen del frío), cálidas (junto a especies que le brindan sombra) y áreas perturbadas. Se asocia a campos de cultivo donde es considerada “maleza”. Crece sin problemas en zonas infestadas por varias plagas asociadas al cultivo del tomate (García, 1988; Vargas *et al.*, 2005).

Las investigaciones previas de esta planta, se han encaminado en la caracterización de sus frutos, incidencias de enfermedades en su cultivo y su uso como portainjerto de plantas de tomate. Por otro lado, se desconoce la totalidad de sus análisis bromatológicos en frutos, Esta planta tiene la característica de poder sobrevivir en condiciones extremas y la literatura reporta que se ha evaluado la incidencia de enfermedades en su cultivo y su uso como portainjerto de plantas de jitomate las que confiere tolerancia a hongos como *Alternaria solani* y *Fusarium sp.* (Cortez-Madrigal, 2010; Álvarez-Hernández, 2013). Dentro de esta especie no hay reportas acerca de la bioactividad de sus extractos o el tipo de metabolitos secundarios presentes en sus tejidos (Álvarez-Hernández *et al.*, 2009).

2.2.-LOS METABOLITOS SECUNDARIOS

Los metabolitos secundarios son los fitoquímicos que participan en la defensa química de las plantas son compuestos orgánicos sin un aparente función directa en procesos relacionados con la fotosíntesis, respiración, asimilación de nutrientes, transporte de solutos y síntesis de macromoléculas (proteínas,

carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos), presentan distribución restringida, ya que generalmente un metabolito secundario en específico, no está presente en múltiples familias, estos compuestos suelen ser sintetizados en pequeñas cantidades y no de forma generalizada. Su naturaleza química es variable (Anaya-Lang, 2003).

Las principales rutas de biosíntesis de metabolitos secundarios derivan del metabolismo primario del carbono y los metabolitos secundarios como tales se pueden agrupar en cuatro grandes grupos: terpenos (entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales) compuestos fenólicos (cumarinas, flavonoides, lignina y taninos), glicósidos (por ejemplo saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos y glucosinolatos) y alcaloides. Entre sus funciones destacan la atracción de animales benéficos (por ejemplo insectos polinizadores), la repelencia a depredadores (produciendo en la planta un sabor u olor amargo, o creando toxicidad), pigmentación de tejidos, y participan en la defensa contra patógenos (Anaya-Lang, 2003; Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009).

Los diferentes metabolitos secundarios presentes en los tejidos de una planta pueden ser extraídos mediante técnicas como el reactor, Irradiación con microondas, infusión, extracción por Soxhlet y el proceso de maceración. Este último, al no emplear temperaturas elevadas es idóneo para extraer compuestos volátiles e inestables (Balcinde *et al.*, 2005).

2.3.-EXTRACCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS

El proceso de maceración comienza con el deshidratado y molido del material a evaluar, posteriormente se hace la extracción de compuestos con diferentes grados de polaridad al colocar los materiales en una proporción de 1 a 10 (1 g de material por 10 ml de solvente) Finalmente, pasado determinado tiempo el solvente es retirado empleando un rotavapor y el extracto es resuspendido en una solución al 10 % de dimetilsulfóxido, el cual se ha demostrado no tiene efectos adversos sobre las células. (García, 2001; Ríos y Aguilar-Guadarrama, 2006; Aguilar-Guadarrama y Ríos, 2007; Zavala-Núñez, 2009).

Los solventes extraen compuestos afines a su polaridad: los no polares son útiles para obtener terpenos de bajo peso molecular; por otro lado, solventes medianamente polares pueden separar terpenos de polaridad intermedia como lactonas, también alcoholes y ácidos carboxílicos; Finalmente, solventes polares pueden ser útiles para obtener compuestos polares como flavonoides, alcoholes y alcaloides entre otros (McNair y Miller, 1998; Hernández-Pérez, 2005; Zavala-Núñez, 2009).

2.4.-TIPOS DE BIOACTIVIDAD

Los extractos, se pueden analizar por diferentes métodos con el fin de conocer el tipo de bioactividad que poseen: ensayos como FRAP, ABTS, DPPH y ORAC se realizan para conocer la actividad antioxidante de los metabolitos secundarios que contienen; por otro lado, pruebas con animales y tejidos específicos se ejecutan para determinar cuestiones médicas; finalmente ensayos con microorganismos se realizan para verificar su capacidad antimicrobiana, para tal fin la técnica de Kirby-Bauer, es de las extendidas debido a su simplicidad y eficacia (Bauer *et al.*, 1966; Arroyo *et al.*, 2005; Pérez-Jiménez *et al.*, 2008; Corzo-Barragán, 2012).

2.5.-EL MÉTODO DE KIRBY-BAUER

La técnica de Kirby-Bauer también conocido como método por difusión en disco, se emplea en estudios para determinar susceptibilidad de microorganismos hacia determinada sustancia. Consiste en colocar discos de material absorbente con una cantidad específica (no concentración) de antimicrobiano sobre una superficie de agar inoculada con un microorganismo. El antimicrobiano difunde desde el disco al medio de cultivo, produciendo una zona de inhibición en la cual una concentración crítica de antimicrobiano inhibe el crecimiento bacteriano. La zona de inhibición entonces es medida y puede relacionarse inversamente con la CMI (Bauer *et al.*, 1966; Bernal y Guzmán, 1984; Vjera, 2000; Aguilar-Gonzales, 2007).

2.6.-IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS POR TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

La identificación de compuesto bioactivos es uno de los tantos análisis donde incursiona la cromatografía en sus distintas variantes, según la técnica, es posible identificar distintos tipos de metabolitos secundarios con un mismo equipo o una misma técnica. Dentro de lo realizado con cromatografía de capa fina hay números trabajos como el de Bravo-Sánchez y Acuña-Calle (2015) quienes identificaron flavonoides en hojas de “ficus” (*Ficus benjamina* L.), primero obtuvieron extractos con una mezcla de mezcla de agua: acetonitrilo: metanol, fueron filtrados y almacenados. Como fase móvil emplearon la mezcla de solventes denominada BAW (n-butanol: ácido acético: agua, en una proporción de 4:1:5). Para el revelado utilizaron una lámpara de luz UV con dos longitudes de onda. Sembraron el extracto en la placa sobre una línea de origen trazada a 0,5 cm sobre el borde inferior (5 gotas), y luego lo colocaron en la cuba cromatográfica la cual contenía un volumen de fase móvil y luego se esperó un promedio de 30 minutos para lograr el recorrido hasta el borde superior de la placa, pasado este tiempo se sacó de la cuba y se secó con ayuda de una secadora para finalmente llevarlo a una lámpara “UV”. Con base en la coloración observada, pudieron determinar que las hojas de “ficus” acumulan flavanonas y flavonas sin 5-OH libre y flavonoles con un 3-OH libre y con/sin 5-OH libre

Profundizando en el tema de cromatografía, se encontró que Ashraf *et al.* (2015) identificaron compuestos con capacidad antioxidante, antitumoral y antiinflamatoria de eucalipto rojo (*Eucalyptus camaldulensis*) mediante cromatografía de gases acoplada a masas, empleando una temperatura de ionización de 230 °C, emisión de electrones de 34.6 µA. el analizador se mantuvo a 150 °C. Se empleó helio con un flujo de 0.9 mL/min. La temperatura del inyector y de la interface fueron de 290 °C and 360 °C, respectivamente, el horno se trabajó a inicialmente a 50°C (1min) y después a 310 °C (20 min), aumentando 6 °C por minuto, los compuestos se identificaron mediante la comparación de los tiempos de retención y espectros de masas con la base de datos de la biblioteca NIST para sistemas de GC/MS. En extractos hexánicos encontraron ácido

palmitico; en clorofórmicos y metanólicos fue común observar eucaliptol, 5-Hydroxymethylfurfural, espatulenol, β -eudesmol, ácido esteárico, ácido succinámico e icosane.

Por otra parte, en estudios llevados a cabo con solanáceas y haciendo uso de GC Jilani-Khan *et al.* (2016) encontraron compuestos anticancerígenos en fracciones clorofórmicas de un extracto crudo metanólico elaborado con frutos de “hierba mora” (*Solanum nigrum*), el análisis se realizó en modo *splitless*, primeramente realizaron una derivatización inyectando 80 μ L de Clorhidrato de metoxiamina y 100 μ L de BSTFA (N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide) a 65 °C durante 1 hora, después se tomó como temperatura inicial 250 °C, la que se mantuvo por 2 minutos para después aumentarse a 290 °C, sin embargo el puerto de inyección se mantuvo a 250 °C, el tiempo total de corrida fue de 55 minutos en modo de escaneo completo, mediante la biblioteca del Instituto Nacional de Estándares y Tecnología ver.2.1 MS se pudo determinar que la muestra contenía ácidos orgánicos como el ácido isovainílico, isocitrico y tartárico entre otros.

III.-JUSTIFICACIÓN

Michoacán es el quinto lugar nacional en cuanto a diversidad vegetal, entre ellas destacan las solanáceas como el tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*), del que se ha documentado su resistencia a plagas y patógenos que atacan a su similar comercial. Aunque se han realizado algunos estudios referentes al uso de la planta como portainjertos para conferir resistencia a la variedad comercial, se desconoce el tipo de fitoquímicos presentes en la planta, la concentración y su efecto sobre plagas que afecten a cultivos agronómicos. Por otro lado, la agricultura convencional está respaldada por insumos químicos, formulados con moléculas artificiales, cuya presencia en el medio ambiente representa un riesgo, además de ser nocivas para el consumidor.

Por ello es importante contar con alternativas para el manejo de patógenos provenientes de fuentes naturales, tales como los compuestos químicos provenientes de plantas. Con base en lo antes mencionado, el presente trabajo

pretende aportar nuevas evidencias en el tipo de metabolitos secundarios presentes en el tinguaraque y su posible aplicación en el control de patógenos.

IV.-OBJETIVOS

4.1.-OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antimicrobiana de extractos con diferente polaridad y obtenidos de tejido radicular y aéreo de tinguaraques en diferentes etapas fenológicas (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*).

4.2.-OBJETIVOS ESPECIFICOS

1.-Evaluar la actividad antimicrobiana de extractos con diferente polaridad y obtenidos de tejido radicular y aéreo de tinguaraques (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*).

2.-Determinar el perfil fisicoquímico y sensorial de fruto de tinguaraque

3.-Obtener extractos con diferente polaridad a partir de tejido radicular y aéreo de tinguaraque y comparar su actividad antimicrobiana.

4.-Identificar por técnicas cromatográficas compuestos de importancia antimicrobiana presentes en los extractos sobresalientes.

V.-HIPOTESIS

El tinguaraque como planta silvestre, presenta compuestos fitoquímicos que dependiendo de la etapa fenológica de la planta, tendrán efectos antimicrobianos

VI.-ESTRATEGIA METODOLOGICA GENERAL

La investigación se dividió en dos artículos. Con la finalidad de obtener material vegetal para ambas investigaciones, se realizó una colecta de frutos en zonas aledañas de áreas agrícolas dentro de la población de Los Bancos, municipio de Parácuaro, Michoacán. México (19°10'00"N - 102°12'00"W) a los frutos colectados les fueron extraídas las semillas, estas se germinaron y se

cultivaron bajo invernadero dentro de las instalaciones de la Facultad de Agrobiología Presidente Juárez (UMSNH) en la ciudad de Uruapan (19°25'16"N - 102°03'47"W).

El **primer artículo**, fue un estudio comparativo entre el comportamiento fenológico y agronómico de plantas de tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) y jitomate cherry, (*Solanum lycopersicum* L.) de igual manera se compararon las características fisicoquímicas de los frutos de ambas plantas. Los datos obtenidos se evaluaron estadísticamente mediante un modelo completamente al azar con 20 repeticiones para las variables medidas en invernadero y 4 para las evaluadas en dentro del laboratorio, los análisis de varianza se sometieron a la prueba de Tukey (SAS, 2000); finalmente se llevo a cabo un análisis sensorial y este fue evaluado mediante la prueba de Friedman.

En el **segundo artículo**, mediante la maceración de tejido aéreo y radicular de platas en las etapas de ramificación, floración, fructificación y producción. Se realizó un escrutinio de los extractos obtenidos con n-hexano, cloroformo y metanol, estos fueron probados contra 4 microorganismos inicialmente por el método de difusión en disco. Tras realizarse un análisis estadístico factorial con tres niveles, se seleccionaron los mejores extractos para ser analizados por cromatografía de capa fina (TLC) y cromatografía de gases acoplada a masas (GC-MS), al final se plantearon los posibles usos de los extractos obtenidos.

VII.-BIBLIOGRAFIA

Aguilar-González, A. E. 2007. PREPARACIÓN DE DOS FORMAS FARMACÉUTICAS CON PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS A PARTIR DE EXTRACTOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), Tila (*Ternstroemia pringlei*) y Gordolobo (*Verbascum thapsus*). Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Universidad de las Américas Puebla. Trabajo presentado en Diciembre de 2007.

Aguilar-Guadarrama, A.B., Ríos, M.Y. 2007. TERPENOS Y FLAVONOIDES GLICOSÍDICOS DE *Tetrapteryx heterophylla* (GRISEB.) W.R. ANDERSON (MALPIGHIACEAE). Revista Cubana Plant Med, 12 (3).

Aliero, A.A., Asekun, O.T., Grierson, D.S., Afolayan, A.J. 2006. CHEMICAL COMPOSITION OF THE HEXANE EXTRACT FROM THE LEAVES OF *Solanum pseudocapsicum*. Asian Journal of Plant Sciences, 5: 1054-1056.

Álvarez-Hernández, J.C. 2013. COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO E INCIDENCIA DE ENFERMEDADES EN PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) INJERTADAS. Acta agronómica. 61 (2), p 117-125.

Álvarez-Hernández, J.C., Cortez-Madrigal, H., García-Ruiz, I. 2009. EXPLORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES SILVESTRES DE JITOMATE EN TRES REGIONES DE MICHOACÁN, MÉXICO. CIIDIR-IPN, Polibotánica, 28: 139-159

Anaya-Lang, A.L. 2003. Ecología química. Plaza y Valdés. 2003. 349 p.

Arroyo, J.A., Prashad, G.M., Vásquez, Y. B., Li, E.P. 3; Tomás, G.C. 2005. ACTIVIDAD CITOTÓXICA IN VITRO DE LA MEZCLA DE ANNONA MURICATA Y KRAMERIA LAPPACEA SOBRE CÉLULAS CANCEROSAS DE GLÁNDULA MAMARIA, PULMÓN Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. Rev. Perú. Med. Exp. Salud pública v.22, 4.

Ashraf, A., Adi-Sarfraz, R., Mahmood, A., Ud-Din, M. 2015. CHEMICAL COMPOSITION AND IN VITRO ANTIOXIDANT AND ANTITUMOR ACTIVITIES OF *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. LEAVES. Industrial Crops and Products 74 (2015) 241–248

Ávalos-García, A., Pérez-Urria, E. 2009. METABOLISMO SECUNDARIO DE PLANTAS. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145.

Badui, S. 1988. DICCIONARIO DE LOS ALIMENTOS, Editorial Alhambra Mexicana, 1ª ed.

Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TESTING BY A STANDARDIZED SINGLE DISK METHOD. Am J Clin Pathol; 45: 493- 496.

Balcinde, Y., Hung, B.R., Marrero, A., Tirado, T., Pérez, C., Falero, A., Martí, E., Águila, B., Fonseca, M., Lightbourne, E. 2005. COMPARACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE UNA FRACCIÓN RICA EN FITOSTEROLES A PARTIR DE LA CACHAZA DE CAÑA DE AZÚCAR. Revista CENIC Ciencias Químicas, Vol. 36, No. 1

Benites-Jump, J.R. 2016. LAS LEGUMINOSAS EN LA ALIMENTACIÓN Y EN LA FERTILIDAD DE LOS SUELOS. Leisa. Revista de Agroecología, 32: 2

Bernal, M., Guzmán, M. 1984. EL ANTIBIOGRAMA DE DISCOS. NORMALIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE KIRBY-BAUER. BIOMEDICA Vol. 4 (3).

Bravo, A., Acuña, D. 2015. EVALUACIÓN FITOQUÍMICA Y DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES EN HOJAS DE *Ficus benjamina* L. Revista Xilema de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Vol. 28, 2015.

Castillo, J., Hurtado, I., Chamorro, A. 2012. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL ALCALOIDE ESTEROIDAL SOLASODINA, DE LOS FRUTOS DEL *Solanum Wrightii* Benth Y *Solanum Pseudocapsicum* L. Ingenium, 6(13), 57-62.

Correll, D.S. Johnston, M.C. 1970. MANUAL OF THE VASCULAR PLANTS OF TEXAS. Texas Research Foundation, Renner, USA.

Cortez-Madrigal, H. 2010. VARIEDAD SILVESTRE DE JITOMATE, EMPLEADO PARA PROTEGER CULTIVOS COMERCIALES: DESARROLLO DE INJERTOS Y MICO-INSECTICIDAS PARA EL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL JITOMATE. CIIDIR, IPN, 03-DIC-2010.

Corzo-Barragán, D.C. 2012. EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF *Cestrum buxifolium* Kunth. Rev. mex. cienc. farm, 43 no.3

Crisanto-Juárez, A.U., Vera-Guzmán, A.M., Chávez-Servia, J.L., Carrillo-Rodríguez, J.C. 2010. CALIDAD DE FRUTOS DE TOMATES SILVESTRES (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* Dunal) DE OAXACA, MÉXICO. Revista Fitotecnia Mexicana, 33: 4, 7-13

Duke, J.A. 2015. DR. DUKE'S PHYTOCHEMICAL AND ETHNOBOTANICAL DATABASES. Base de datos en línea sustentada por el

Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América, Consulta electrónica <<http://www.ars-grin.gov/duke/>> 12 de Julio de 2015.

García, E., 1988. Modificaciones AL SISTEMA DE CLASIFICACIÓN CLIMÁTICA DE KÖPPEN, PARA ADAPTARLO A LAS CONDICIONES DE LA REPUBLICA MEXICANA. 4a. ed. México. 246 pp.

García, J. 2001. EFECTO DEL DIMETILSULFÓXIDO EN LA RESPUESTA QUIMIOLUMINISCENTE Y EL CONSUMO DE OXÍGENO DE NEUTRÓFILOS HUMANOS ACTIVADOS. Rev. costarric. cienc. méd vol.22 n.1-2.

Hernández-Pérez, J.M. 2005. CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA EFICACIA. Revista Educación continuada en el laboratorio clínico. Ed Cont Lab Clin 2005;8:49-62.

Jilani-Khan, H., Kaleem-Ahmad, M., Rahman-Khan, A., Rastogi, N., Ali-Mahdi, A., Akhtar-Ansari, J., Fatima, N., Satyanarayan, G.N.V. 2016. IDENTIFICATION OF ANTICANCER AND ANTIOXIDANT PHYTOCONSTITUENTS FROM CHLOROFORM FRACTION OF *Solanum nigrum* L. Indian Journal of Experimental Biology, 54: 774-782.

Kariyat, R.R., Mauck, K.E., Balogh, C.M., Stephenson, A.G., Mescher, M.C., De Moraes, C.M. 2013. INBREEDING IN HORSENETTLE (*Solanum carolinense*) ALTERS NIGHT-TIME VOLATILE EMISSIONS THAT GUIDE OVIPOSITION BY *Manduca sexta* MOTHS. Proc. Biol. Sci. 27, 280: 1757

Khaoukha, G., Ben-Jemia, M., Amira, S., Laouer, H., Bruno, M., Scandolera, E., Senatore, F. 2014. CHARACTERISATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF THE VOLATILE COMPONENTS OF THE FLOWERS OF *Magydaris tomentosa* (DESF.) DC. COLLECTED IN SICILY AND ALGERIA. Nat Prod Res. 2014; 28 (15): 1152-8.

Klocke, J.A., Darlington, M.V., Balandrin, M.F. 1987. 8-CINEOLE (EUCALYPTOL), A MOSQUITO FEEDING AND OVIPOSITIONAL REPELLENT FROM VOLATILE OIL OF HEMIZONIA FITCHII (*Asteraceae*). Journal of Chemical Ecology, 13 (12): 2131.

Lo Cantore, P., Lacobellis, N.S., De-Marco, A., Capasso, F., Senatore, F. 2004. ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF *Coriandrum sativum* L. and *Foeniculum*

vulgare Miller Var. *vulgare* (Miller) ESSENTIAL OILS. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2004-12-29.

Lundstedt, J. y Valdés, R. 2013. MECANISMOS DE DEFENSA DE LAS PLANTAS E INDUCCIÓN DE RESISTENCIA. ASP Chile. BOLETÍN TÉCNICO Nº11.

Martínez, M., 1979. CATÁLOGO DE NOMBRES VULGARES Y CIENTÍFICOS DE PLANTAS MEXICANAS. 1ra. ed. Fondo de Cultura Económica. México. 1247 pp.

Martínez, M., Rodríguez, A. Vargas, O., F. Chiang. 2011. CATÁLOGO NOMENCLATORIAL DE LAS SOLANACEAE DE MÉXICO. Universidad Autónoma de Querétaro. Informe Final SNIB-CONABIO. Proyecto HS004.

McNair, H.M. & Miller, J.M. 1998. BASIC GAS CHROMATOGRAPHY. Canada: John Wiley & Sons, Inc. 256 p.p.

Mendoza-Tafolla, R.O. 2016. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DE FRUTO Y ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE MAMUYO (*Styrax ramirezii* Greenm). Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, facultad de Agrobiología Presidente Juárez. Trabajo presentado en marzo de 2016.

Mulyaningsih, S., Sporer, F., Zimmermann, S., Reichling, J., Wink, M. 2010. SYNERGISTIC PROPERTIES OF THE TERPENOIDS AROMADENDRENE AND 1,8-CINEOLE FROM THE ESSENTIAL OIL OF *Eucalyptus globulus* AGAINST ANTIBIOTIC-SUSCEPTIBLE AND ANTIBIOTIC-RESISTANT PATHOGENS. Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology; 17(13):1061-6.

Nissen, L., Zatta, A., Stefanini, I., Grandi, S., Sgorbati, B., Biavati, B. 2010. CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF INDUSTRIAL HEMP VARIETIES (*Cannabis sativa* L.). Fitoterapia 81: 413–419.

Pandey, A. 2015. CATALOGO DE PRODUCTOS DE AOS PRODUCTS PRIVATE LIMITED. Proveedor Mr. Abhilash Pandey. Ghaziabad, La India. Consulta electrónica: 12 de Julio de 2015. <<http://spanish.alibaba.com/product-tp/natural-geranyl-acetate-114619765.html>>

Pedrocchi-Renault, C. 1998. ECOLOGÍA DE LOS MONEGROS. La paciencia como estrategia de supervivencia. 430 pp. Instituto de Estudios Altoaragoneses y Centro de Desarrollo de Monegros, Huesca.

Pérez, M.U. 2010. CRECIENTE FOBIA CAMPESINA AL USO DE AGROQUÍMICOS. Diario La Jornada, sección política, sub-sección ecología. Sábado 17 de julio.

Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Tabernero, M., Díaz- Rubio, M.A., Serrano, J., Goñi, I., Saura-Calixto, F. 2008. UPDATED METHODOLOGY TO DETERMINE ANTIOXIDANT CAPACITY IN PLANT FOODS, OILS AND BEVERAGES: EXTRACTION, MEASUREMENT AND EXPRESSION OF RESULTS. Food Research International, 41 (3), 274–285.

Ramírez-Gómez, M. y Rodríguez, A. 2012. MECANISMOS DE DEFENSA Y RESPUESTAS DE LAS PLANTAS EN LA INTERACCIÓN MICORRÍCICA: UNA REVISIÓN. Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. 15, No. 1, 2012 271-284.

Ríos, M.Y., Aguilar-Guadarrama, A.B. 2006. ALCALOIDES INDÓLICOS, TERPENOS, ESTEROLES Y FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE *Hamelia patens* Jacquin. Rev. Cubana Plant Med. v.11 n.1.

Sepúlveda-Jiménez, G. Porta-Ducoing, H., Rocha-Sosa, M. 2003. LA PARTICIPACIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS EN LA DEFENSA DE LAS PLANTAS. Revista Mexicana de Fitopatología, 21, 3, 355-363.

Sfara, V., Zerba, E. N., Alzogaray, R.A. 2009. FUMIGANT INSECTICIDAL ACTIVITY AND REPELLENT EFFECT OF FIVE ESSENTIAL OILS AND SEVEN MONOTERPENES ON FIRST-INSTAR NYMPHS OF *Rhodnius prolixus*. Journal of Medical Entomology 46, 3: 511–515

Saleh, G.S. 2015. CHEMICAL DETECTION OF SOME ACTIVE COMPOUNDS IN EGG PLANT (*Solanum melongena*) CALLUS AS COMPARED WITH FRUIT AND ROOT CONTENTS. Int.J.Curr. Microbiol.App.Sci (2015) 4(5): 160-165.

Shan-Shan, Y., Wen-Fei, G., Yi, L., Yuan-Xun J. 2005. FLAVOR CHARACTERISTICS OF LAPSANG SOUCHONG AND SMOKED LAPSANG

SOUCHONG, A SPECIAL CHINESE BLACK TEA WITH PINE SMOKING PROCESS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: (22).

Urban, P. 2007. BRETHERICK'S HANDBOOK OF REACTIVE CHEMICAL HAZARDS 1.7^oedición. Butterworth-Heinemann. p. 1154.

Vargas, C.D., E. Rodríguez G., J.J. Sánchez G., S. Montes H., A. Ruiz C., R. Lápiz I., P. Puente O., J.L. Martínez R., 2005. ADAPTACIÓN CLIMÁTICA DE LYCOPERSICUM EN EL OCCIDENTE DE MÉXICO. *Avances en la Investigación Científica en el CUCBA*, pp. 207–210.

Vjera, V. 2000. SUPLEMENTO: TERAPIA ANTIMICROBIANA. *Rev. Chil. Infect*, 17: 33-34.

Xiudong, Y., Min-Cheol, K., Ki-Wan, L., Sung-Myung, K., Won-Woo, L., You-Jin J. 2011. ANTIOXIDANT ACTIVITY AND CELL PROTECTIVE EFFECT OF LOLIOLIDE ISOLATED FROM *Sargassum ringgoldianum* subsp. *Coreanum*. *The Korean Society of Phycology. Algae*, 26(2): 201-208.

Zavala-Núñez, A. 2009. ESTUDIOS ETNOBOTÁNICOS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO. ENTREVISTA. *Revista digital universitaria*. Vol. 10, No. 9.

VIII.-RESCATE, ESTABLECIMIENTO Y PRODUCCIÓN DE UN JITOMATE SILVESTRE TIPO CHERRY: EL CASO DEL TINGUARAQUE

8.1.-RESUMEN

La expansión de las áreas cultivadas hacia zonas vírgenes, históricamente ha sido una de las acciones que se han empleado para aumentar la producción agrícola ante la demanda de alimentos. Tal aumento ha contribuido a la pérdida de la biodiversidad vegetal; como consecuencia especies nativas como el jitomate silvestre o tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) se han visto amenazadas, con ello, ingredientes presentes en la alimentación de antaño que pudiesen ser fuentes importantes de nutrientes y nutraceuticos desaparecen. Por lo anterior, resulta necesario coleccionar y estudiar los atractivos agronomicos de plantas silvestres con importancia alimenticia. En el presente trabajo se evaluó la respuesta del tinguaraque al cultivo bajo condiciones de invernadero y se comparó el rendimiento con un fruto comercial tipo cherry (*Solanum lycopersicum* L.), así como la comparativa entre perfiles fisicoquímicos de sus frutos. Para tal fin se germinó semilla obtenida de frutos silvestres y se determinó la tasa media de germinación (TG_{50}). Las plántulas se desarrollaron en tierra de encino, se colocaron bajo malla sombra y se aplicó riego diario hasta capacidad de campo. La fórmula general de fertilización fue 275-100-500-150 -75 (N-P₂O₅-K₂O-CaO-S) dosificada en aplicaciones semanales, los datos obtenidos se evaluaron mediante un diseño completamente al azar. Como resultados: se determinó la TG_{50} del tinguaraque a los 17 días de establecido el almácigo, y una supervivencia de 100% de plántulas transferidas al sustrato. A partir de la fecha de trasplante, al tinguaraque le toma 49 días para la formación de frutos y 48 días después, alcanzan el grado de madurez de consumo. El manejo agronomico empleado, mantuvo al tinguaraque en condiciones óptimas por 27 semanas que duró la evaluación, obteniendo un rendimiento promedio por planta de 1700 g \pm 140, equivalente a 34 ton/ha, con un peso promedio de fruto de 0.71 g \pm 0.07. Dentro de los análisis fisicoquímicos, los resultados mostraron que no hubo diferencia significativa en contenido energético, porcentaje de proteína y acidez titulable;

mientras que los parámetros de sólidos solubles, materia seca, cenizas y color, los valores del tinguaraque (13.53 ± 0.61 °Brix, 14.13 ± 0.06 %, 5.4 ± 0.27 % y 233.16 ± 2.63 °Hue, respectivamente) fueron mayores a los del cherry (8.93 ± 3.01 °Brix, 10.05 ± 0.94 %, $4.49.4 \pm 0.59$ % y 221.35 ± 2 °Hue, respectivamente). Finalmente. Estos resultados colocan al fruto del tinguaraque como una frutilla atractiva para incluirla en programas de fitomejoramiento

Palabras clave: jitomate silvestre, rescate, cultivo protegido, manejo agronómico.

8.2.-ABSTRACT

The expansion of cultivated areas to virgin areas has historically been one of the actions that have been used to increase agricultural production in response to food demand. Such an increase has contributed to the loss of plant biodiversity; As a consequence native species such as wild tomato or tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) have been threatened, with it, ingredients present in the diet of yesteryear that could be important sources of nutrients and nutraceuticals disappear. Due to the above, it is necessary to collect and study the agronomic attractions of wild plants of alimentary importance. In the present work the tinguaraque response to the crop under greenhouse conditions was evaluated and the yield was compared with a commercial fruit type cherry (*Solanum lycopersicum* L.), as well as the comparison between physicochemical profiles of its fruits. For this purpose, seeds obtained from wild fruits were germinated and the mean germination rate (TG₅₀) was determined. The seedlings were developed in oak land, placed under shade mesh and applied daily irrigation to field capacity. The general fertilization formula was 275-100-500-150 -75 (N-P₂O₅-K₂O-CaO-S) dosed in weekly applications, the data obtained were evaluated by a completely randomized design. As results: the TG₅₀ of tinguaraque was determined at 17 days of establishment of the nursery, and a survival of 100% of seedlings transferred to the substrate. From the date of transplant, the tinguaraque takes 49 days for the formation of fruits and 48 days later, reach the degree of maturity of consumption. The agronomic management employed maintained the tinguaraque in optimum conditions for 27 weeks during the evaluation, obtaining an average yield per plant

of 1700 g (± 140), equivalent to 34 ton / ha, with an average fruit weight of 0.71 g \pm 0.07). In the physicochemical analyzes, the results showed that there was no significant difference in energy content, percentage of protein and titratable acidity; while the values of soluble solids, dry matter, ash and color for tinguaraque (13.53 \pm 0.61 °Brix, 14.13 \pm 0.06 %, 5.4 \pm 0.27 % y 233.16 \pm 2.63 °Hue, respectively) were higher than those of the cherry (8.93 \pm 3.01 °Brix, 10.05 \pm 0.94%, 4.49.4 \pm 0.59% and 221.35 \pm 2 °Hue, respectively). Finally. These results place the fruit of Tinguaraque as an attractive berry to be included in plant breeding programs.

Key words: wild tomato, Rescue, protected cultivation, agronomic management.

8.3.-INTRODUCCIÓN

La familia de las solanáceas cuenta con 98 géneros y 2700 especies (Yadav-*et al.*, 2016), algunas de ellas poseen importancia comercial, ya que están ligadas a la alimentación humana y por ello, son cultivadas en todo el mundo. El jitomate, tomate, papa y chile son solanáceas importantes dentro de la agricultura mexicana. Sin embargo, también existen solanáceas silvestres consideradas como malezas y difícilmente se cuenta con estudios detallados sobre su potencial aprovechamiento. Michoacán, ocupa el quinto lugar nacional en diversidad de especies de la familia Solanaceae (Martínez *et al.*, 2011), los géneros más comunes en la entidad son: *Cestrum*, *Datura*, *Jaltomata*, *Lycianthes*, *Physalis*, *Lycopersicon* y *Solanum* (Medina, 2007.; Álvarez *et al.*, 2009). Tal diversidad se encuentra en constante riesgo debido a la expansión humana y al cambio de uso de suelos y cada vez son más escasas a pesar de que muchas forman parte de la dieta tradicional y al reducirse su disponibilidad, se fomenta la homogeneización de la alimentación, y pasan a ser plantas olvidadas (Gálvez-Mariscal, 2013). Además, es conveniente indagar sobre las ventajas que plantas tolerantes a plagas y patógenos, que no dependen de agroquímicos para su subsistencia pueden aportar a la agricultura actual. Por ello, para evitar la pérdida de materiales silvestres con potencial agronómico, se debe contar con un programa de rescate, y propagación vegetativa (incluyendo semillas) (Roldán-Estrada *et al.*, 1999), con el fin de obtener propágulos y posteriormente su multiplicación. El material

colectado se mantiene, por medio del cultivo de plantas, semillas, embriones, órganos, explantes, células y protoplastos sobre un medio nutritivo en condiciones estériles a través de técnicas de cultivo *in vitro*; por otro lado, existe también la propagación por técnicas de cultivo *ex situ*, que consiste en preservar materiales en los bancos de semillas, jardines botánicos e invernaderos (Gold *et al.*, 2004; Mroginski *et al.*, 2010)

Por lo anterior, esta parte del trabajo se enfocó en el rescate, establecimiento, propagación y cultivo de una especie silvestre, la solanácea *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* o tinguaraque.

8.4.-OBJETIVOS

Los objetivos de este estudio fueron: (i) establecer el tinguaraque bajo condiciones de invernadero; y (ii) comparar la fenología y el rendimiento del tinguaraque con plantas de jitomate comercial tipo cherry.

8.5.-MATERIALES Y MÉTODOS

8.5.1.-Obtención de material silvestre

La colecta de frutos maduros se realizó en el poblado de Los Bancos, municipio de Parácuaro, Mich. Mex. (19°10'00"N - 102°12'00"W) durante los meses de agosto y septiembre. Las semillas se extrajeron del fruto y fueron secadas a 22 °C en condiciones de obscuridad, posteriormente se almacenaron en tubos de ensayo sellados hasta su utilización en un ambiente fresco y seco (Lesur, 2006).

Un espécimen deshidratado fue depositado en el Herbario del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-BAJÍO) ubicado en la ciudad de Pátzcuaro, Michoacán, México. Donde se le otorgó el número de referencia **254838**.

8.5.2.-Establecimiento de plántulas

La germinación se llevó a cabo en una charola de poliestireno marca Hortiblock^R de 242 cavidades empleando fibra de coco triturada como sustrato. Se colocaron tres semillas por cavidad a una profundidad de medio centímetro. El almácigo fue regado y se envolvió con plástico negro, enseguida se colocó a temperatura ambiente donde recibió la luz del sol durante 2 días, posteriormente se retiró la cubierta de plástico y se mantuvo resguardada bajo maya antiáfido, con la finalidad de evitar el ataque plagas. Se aplicó riego diario hasta saturación de sustrato durante 50 días, el mismo procedimiento se realizó con semillas de jitomate comercial tipo cherry variedad Cereza (Vita^R). (Lesur, 2006; FAO, 2013). La emergencia de plántulas, se evaluó mediante la tasa media de germinación (TG₅₀).

Una vez que las plántulas de tinguaraque bifurcaron su crecimiento apical (etapa de ramificación) se establecieron dentro de un invernadero en las instalaciones de la Facultad de Agrobiología Presidente Juárez ubicada en Uruapan, Michoacán. Mex. (19°25'16"N - 102°03'47"W). A una densidad de siembra de 20,000 plantas por ha (0.5x1m). Para ello se raleó el almácigo hasta mantener al individuo que visualmente se percibiera más vigoroso. Después aleatoriamente, se tomaron 20 plantas y se trasplantaron en bolsas de uso forestal (40x60cm) empleando tierra de encino tratada con sulfato de cobre pentahidratado como sustrato; las plantas fueron sujetadas sobre tutores de rafia y se colocó malla-sombra Raschel^R 35% de color verde para evitar el contacto con la radiación solar. Se aplicaron riegos diarios y fertilizaciones semanales con diferentes fuentes con la fórmula general de fertilización 268N-1047P₂O₅-170K₂O-270CaO-23S-8B-2Zn (Tjalling-Holwerda, 2006).

Durante el ciclo fenológico, se determinaron los días de germinación; así como los de trasplante a floración, fructificación y cosecha. Así como el rendimiento, diámetro de frutos y número de frutos cosechados por planta (Escobar y Lee, 2009). Los factores agronómicos se analizaron mediante un arreglo completamente al azar con 20 repeticiones, bajo el modelo:

$$y_{ij} = M + T_i + E_{ij}$$

Donde:

y= variable de respuesta

i= numero de tratamientos

j= número de repeticiones

M= media de la población

T_i= efecto de los tratamientos

E_{ij} = error experimental

8.5.3.-Análisis fisicoquímicos del fruto

El conjunto de análisis fisicoquímicos para los frutos maduros de tinguaraque se realizó según las recomendaciones de la AOAC (2012) para frutos frescos con algunas modificaciones. Los factores evaluados fueron: cantidad de sólidos solubles totales, pH, volumen, extracto etéreo, porcentaje de cenizas, acidez titulable, porcentaje de humedad, porcentaje de materia seca, porcentaje de semilla, cantidad de semilla, porcentaje de jugosidad, pulpa, Kcal/gramo, factor °Hue, textura y cantidad de proteína. Los valores obtenidos se compararon con los arrojados por el análisis de frutos de jitomate tipo cherry comercial.

La determinación de sólidos solubles totales se llevó a cabo empleando un refractómetro manual (Atago^R), agregando tres gotas de zumo de tinguaraque extraído al momento.

El pH del jugo se determinó empleando un potenciómetro (Oakton^R) en el cual se colocaron 100 ml de material líquido.

El volumen de los frutos se determinó empleando una probeta de 10 ml, en la que se midió la cantidad de agua desplazada al colocar un fruto, tomando como base la equivalencia de 1mL de agua a 1cm³.

El contenido de extracto etéreo se determinó empleado 5 g de materia seca colocada en un dedal de celuloide y en un equipo extractor discontinuo tipo Soxhlet (Allihn^R) de 6 posiciones, empleando 200 ml de éter de petróleo La temperatura se reguló hasta obtener una gota por segundo, el extracto se concentró en un Rotavapor (Heidolph^R). Las muestras se colocaron en desecadores con sílica hasta obtenerse un peso constante. Finalmente el porcentaje de extracto etéreo se obtuvo con la fórmula;

$$\% \text{ extracto etéreo} = \frac{(100) (\tilde{n} - n)}{m}$$

Donde:

\tilde{n} = peso del matraz con extracto etéreo

n = peso del matraz sin grasa

m = peso de la muestra

El porcentaje de cenizas se determinó empleando crisoles con 5 g de materia seca, los cuales fueron calcinados y posteriormente se depositaron en una mufla (Novatech^R) a 550-600 °C durante 5 horas, una vez consumado el tiempo las muestras se trasladaron a un desecador de cristal con gel de sílica, donde se enfriaron a temperatura ambiente, finalmente se pesaron y los datos se obtuvieron con la fórmula:

$$\% \text{ de ceniza} = \frac{(100) (\tilde{n} - n)}{m}$$

Donde:

\tilde{n} = peso del crisol con ceniza

n = peso del crisol vacio

m = peso de la muestra

La acidez titulable se determinó empleando 25 ml de solución de pulpa de de tinguaraque que previamente se preparó triturando 300 g fruta y disolviendo en 800 ml de agua destilada, después se calentó a 70 °C y finalmente se filtró con algodón. A la muestra de 25 ml y le fueron adicionadas 3 gotas de fenolftaleína al 1%. La titulación se llevó a cabo utilizando NaOH al 0.1 normal, con apoyo de una bureta (Brand^R), la solución se adicionó gradualmente hasta que la muestra se tornó a un color rosado se utilizó la fórmula:

$$\% \text{ de acidez} = \frac{(100) (N) (v)}{m}$$

Donde:

v= volumen en cm³ de solución NaOH gastada en la determinación

N= normalidad de la solución de NaOH

m= masa en gramos de la muestra

El porcentaje de humedad se determinó empleando 3 gramos de fruta fresca, que se colocaron en un deshidratador eléctrico para frutas (Hiking^R) a 45 °C durante 5 días, posteriormente las muestras se pesaron hasta alcanzar un peso constante, empleando la fórmula:

$$\% \text{ de humedad} = \frac{(100) (m)}{n}$$

Donde:

m= gramos de materia seca

n= gramos de materia fresca

Por diferencia se obtuvo también el porcentaje de materia seca, empleado la formula:

$$\% \text{ de materia seca por fruta} = \frac{\text{Peso seco} - \text{Peso del papel} \times 100}{\text{Peso húmedo neto}}$$

El porcentaje de semilla por peso, se obtuvo pesando 10 gramos pulpa (15 frutos) de frutos frescos, a los que les fueron retiradas las semillas. La semilla seca se llevó a peso constante y se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de semilla} = \frac{\text{Peso de semillas secas} \times 100}{\text{Peso de frutas}}$$

El promedio de semilla por fruto se obtuvo extrayendo la semilla de 100 frutos y realizando su conteo manual, una vez realizado, se calculó una media.

El porcentaje de jugosidad, se obtuvo empleando 10 gramos de fruta molida, utilizando una ultracentrífuga (Solbat^R), el complejo pulpa-jugo se centrifugó por 1 hora a 2500 rpm, el volumen de líquido extraído se midió en una probeta graduada y el sólido se pesó para obtener el porcentaje de pulpa

El contenido energético se determinó empleando 2 g de materia seca pulverizada y utilizando un calorímetro (Parr Instrument^R) con chaqueta estática y bomba de oxígeno manual. La ignición se llevó a cabo empleado filamento de tungsteno como alambre fusible. Se registró la temperatura inicial y cada 30 segundos hasta los 300 segundos, para aplicar la ignición, a partir de entonces la temperatura se registró cada 20 segundos hasta llegar a 900. La curva de la variación de la temperatura se construyó con la ecuación:

$$t = t_c - t_a - r_1 (b - a) - r_2 (c - b)$$

Donde:

a= tiempo de ignición

b= tiempo de incremento de temperatura al 60%

c= tiempo cuando el incremento de temperatura es constante

ta= temperatura en el momento de ignición

tc= temperatura en tiempo c

r₁= tasa (unidad de temperatura por minuto) en el que la temperatura iba de aumento durante los 5 min anteriores a la ignición

r₂= tasa (unidad de temperatura por min) a la q la temperatura iba en aumento durante los 5 min tiempo después del periodo de cocción

El valor de b se obtiene mediante la fórmula:

$$b = y + [(y_1 - y) / (x_1 - x)] (tb - x)$$

Donde:

tb= temperatura en punto b

y= tiempo anterior al tiempo de tb

y₁= tiempo posterior al tiempo de tb

x= temperatura anterior a tb

x₁= temperatura posterior tb

El calor total de combustión o calorías por gramo se obtienen mediante la fórmula:

$$HG = (tW - e_1 - e_2 - e_3) / M = \text{Calorias / g}$$

Donde:

t= incremento de la temperatura en °C

W= energía equivalente del calorímetro en estandarización (calor de combustión de tableta de ácido benzoico)

M= masa de la muestra en gramos

e₃= corrección en calorías de calor de combustión del alambre fusible

c₃= centímetros de alambre fusible q se consume durante la ignición

Con la finalidad de simplificar los resultados, los valores obtenidos se dividieron entre 1000 y se expresaron en Kcal/g.

El color externo de los frutos se evaluó empleando un colorímetro portátil (Lovibond^R) con el que se obtuvieron los términos L*, a*, b*, c* y h*. La medición se realizó sobre un conjunto de frutos contenidos en un recipiente negro. Con base en tales mediciones se calculó el ángulo de color °Hue (Watada, 1980):

$$\text{Hue}^* = \text{Tg}^{-1} (b^* / a^*)$$

El porcentaje de proteína se obtuvo empleado un equipo micro Kjeldahl (Buchi^R), se empleó 1 g de materia seca de muestra pulverizada este se digirió con 20 ml de ácido sulfúrico acompañado de dos tabletas Wieninger (96.5% Na₂SO₄, 1.5% CuSO₄, 2% Se) como catalizador. Las muestras se calentaron por 5 horas a 450 °C momento en que se tornaron de color verde limón, enseguida se trasladaron al destilador el cual adicionó solución alcalina concentrada (33 % NaOH) y mediante vapor de agua extrae el componente volátil amoniacal de la solución de digestión. Posteriormente se agregaron 5 gotas de rojo de metilo por muestra y se llevó a cabo una titulación con ácido sulfúrico 0.5N hasta que la muestra se tornó rojiza. Con base en los mililitros de solución ácida empleada se utilizó la siguiente fórmula (Gerhardt, 2015):

$$\% \text{ de nitrógeno} = \frac{ (V_2 - V_1) (N) (0.014) (100) }{ M }$$

Donde:

V_2 = volumen de ácido sulfúrico gastado en la muestra

V_1 = volumen de ácido sulfúrico gastado en el blanco

N = normalidad de la solución de ácido sulfúrico

M = masa de la muestra en gramos

Al conocer el porcentaje de nitrógeno, el porcentaje de proteína se obtuvo multiplicando en nitrógeno total por el factor de correlación 6.25:

Finalmente la textura o consistencia se evaluó empleando un Penetrómetro de manual (Koehler Instrument^R), midiendo en mm la distancia recorrida por la aguja estándar después de 5 segundos sobre un grupo de frutos contenidos en un recipiente.

Las pruebas fisicoquímicas se realizaron por cuadruplicado y los resultados fueron analizados mediante un arreglo completamente al azar, bajo el modelo:

$$y_{ij} = M + T_i + E_{ij}$$

Donde:

y = variable de respuesta

i = número de tratamientos

j = número de repeticiones

M = media de la población

T_i = efecto de los tratamientos

E_{ij} = error experimental

8.5.4.-Análisis sensorial de frutos

Con la finalidad de conocer la opinión de consumidores potenciales con respecto al color, brillo, tamaño, forma, olor, sabor general, dulzura, acidez, amargor, saladez y consistencia. Se realizaron pruebas sensoriales tomando como base lo recomendado por Watts *et al.* (1992) y Hernández (2005), el jurado constó de 30 jueces no entrenados provenientes de diferentes sectores poblacionales, a los que les fueron suministradas tres frutos de tinguaraque, tres frutos de jitomate cherry y agua para lavado bucal entre degustación. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente mediante la prueba de Friedman (Berlanga-Silvente y Rubio-Hurtado, 2012) bajo un diseño aleatorio, considerando a cada individuo como un bloque experimental. Finalmente, se consultó entre los jueces acerca del sabor predominante del fruto del tinguaraque, así como la característica que preferirían se mejorara.

8.6.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.6.1.-Determinación de tasa de germinación (TG₅₀)

Se determinó que la población de tinguaraque con la que se trabajó, registró emergencia a partir del quinto día y que son necesarios 17 días para obtener un 50% de germinación (TG₅₀), mientras que al jitomate cherry solo le tomó 13 días (Figura 2); también se encontró que las semillas silvestres de tinguaraque poseen baja viabilidad comparas con las comerciales, pues únicamente se logró un 56% de su germinación después de 50 días de observaciones, lapso en el que el jitomate cherry alcanzó un 83% de emergencia (Tabla 1).

Tabla 1.-Porcentaje de germinación de semillas de tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) y de jitomate cherry (*Solanum lycopersicum* L.) después de establecido el almácigo

Días de almácigo	5	10	20	30	40	50
Tinguaraque	12%	43%	54%	56%	56%	56%
Jitomate Cherry	10%	40%	79%	79%	79%	79%

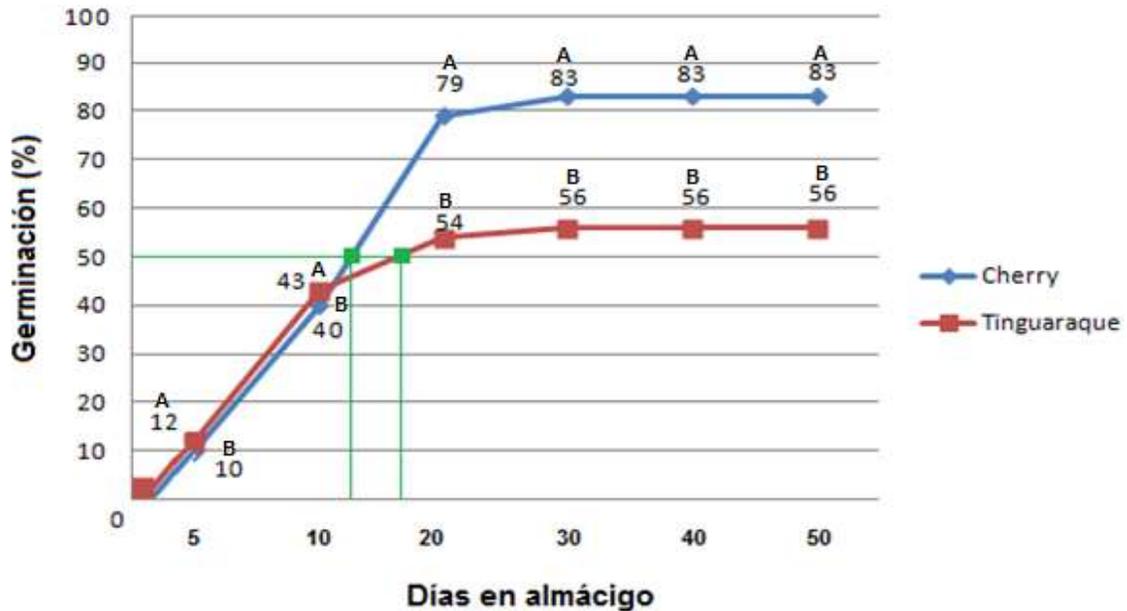


Figura 2.- Comparación de la germinación de semillas de tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) con la de jitomate comercial tipo Cherry (*Solanum lycopersicum* L.) Se determinó que la tasa media de germinación (TG_{50}) para tinguaraque es de 17 días después de establecido el almácigo, mientras que para la variedad comercial es de solo 13 días.

Al comparar los datos obtenidos con lo documentado por Álvarez-Hernández *et al.* (2009) quien reportó que a diversos grupos de tinguaraque les toma de 3 a 11 días alcanzar la TG_{50} al ser cultivados por medio de hidroponía, se pudo determinar que la población de Los Bancos, Parácuaro posee un tiempo más amplio, aunque muy similar a lo mostrado por el jitomate cherry con que se comparó.

8.6.2.-Factores agronómicos

De las plantas establecidas dentro del invernadero, se registró un 100 % de supervivencia y de igual manera, la totalidad de éstas se desarrollaron hasta la etapa de producción (Figura 3). Se encontró que a partir de la fecha del establecimiento definitivo, al tinguaraque le tomó 34 días comenzar su plena floración, mientras que al jitomate cherry 36 ± 2 . Los tiempos para ambas plantas son inferiores a lo reportado por la literatura para variedades comerciales de jitomate como la Maravilla (UNAPAL), plantas a las que les toma 47 días entrar en

floración (Figura 3 C) después de ser trasplantadas (Restrepo-Salazar *et al.*, 2008); una vez iniciada la floración, al tinguaraque le tomó 15 ± 2 días (49 después del trasplante) comenzar a formar frutos (Figura 3 D) mientras que al jitomate cherry solo le tomó 11 ± 2 días (47 después del trasplante) llegar a tal instancia, al compararse con lo reportado en la literatura, se puede afirmar que ambas plantas son precoces en estas instancias, pues a la mayor parte de las variedades de jitomate indeterminado (como Titán F1 de Sakata^R), les toma en promedio 30 días (Jaramillo-Noreña *et al.*, 2006; Tjalling-Holwerda, 2006). Finalmente, los frutos de tinguaraque y de cherry alcanzaron el grado de madurez de consumo 48 y 50 días, respectivamente, después del inicio del periodo de fructificación (Figura 3 E) o 97 después del trasplante, por lo que comienza la etapa productiva de la planta. En investigaciones previas (datos no mostrados), se encontró que a variedades de tomate determinado como Serengeti (Harris Moran^R) y Sheena (Hazera Genetics^R) les toma alrededor de 80 días producir frutos con madurez comercial desde que son trasplantados, por lo que con respecto a este tipo de variedades, es más tardío el tinguaraque (Olmedo-López, 2012).

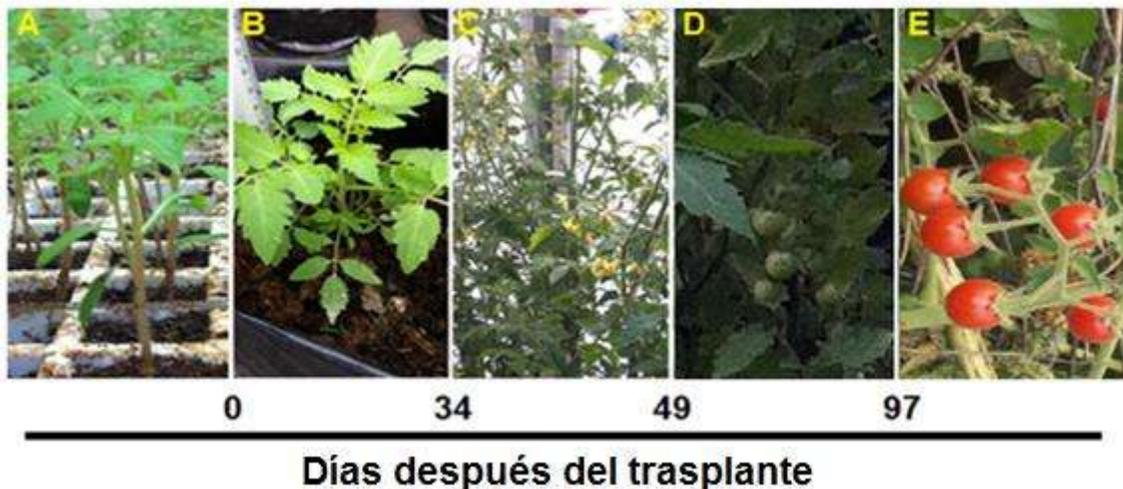


Figura 3.- Etapas fenológicas del tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*). A) plántulas en etapa de emergencia y desarrollo de hojas; B) plantas en etapa de ramificación; C) plantas en etapa de floración; D) frutos inmaduros de plantas en fructificación; E) Frutos maduros de plantas adultas en etapa de producción.

Los niveles de nitrógeno aplicados fueron similares a los propuestos para jitomate comercial por las empresas YARA y CROPKIT [275-100-500-150-75 (N-P₂O₅-K₂O-CaO-S)], sin embargo la cantidad de penta-óxido de fósforo se desfasó en más de 1000 %, solo se aplicó un 34% del óxido di potásico recomendado, se aplicó un 80% más de óxido de calcio y apenas un 3% del azufre recomendado (Tjalling-Holwerda, 2006). La fórmula general de fertilización empleada no provocó síntomas de intoxicación en las plantas.

La etapa de producción del tinguaraque tuvo una duración de 27 semanas (seis meses y tres semanas). Se determinó que de forma individual, cada planta tiene un rendimiento promedio de 1.7 kg \pm 0.2 distribuido en 2861 \pm 637 frutos de 0.71 g \pm 0.7 c/u; en lo colectivo, se obtuvo un rendimiento total equivalente a 34.7 ton/ha; por otro lado, el jitomate cherry se mantuvo en producción por el mismo lapso, individualmente, cada planta tuvo un rendimiento promedio de 3.7 kg \pm 0.8 dividido en 1161 \pm 164 frutos con un peso promedio de 3.17 g \pm 0.28, en conjunto una hectárea cultivada con jitomate cherry bajo las condiciones en las que se realizó este trabajo podría producir 74 toneladas, rendimiento ligeramente superior al doble de lo que una hectárea sembrada con tinguaraque podría generar y similar al reportado por Ríos (2009), para tal cultivo (70 \pm 0.5 ton/ha). El amarre de frutos por parte de ambos materiales, resulta de interés, puesto que variedades para invernadero de jitomate tipo Saladette como Astona F1 (Impulse semillas^R), únicamente amarran en promedio 44 frutos por planta según lo reportado por Jaramillo-Noreña *et al.* (2006), por lo que el tinguaraque se encontraría sobre el 6500% de tal valor y el Cherry en un 2500%.

A lo largo de la etapa de cosecha, el diametro de los frutos presentó poca variabilidad. De forma general, el diámetro longitudinal promedio fue de 10.9mm \pm 0.6 mientras que el ecuatorial de 10.1mm \pm 0.5, por otro lado los frutos de cherry superaron al tinguaraque al presentar un diámetro longitudinal promedio de 17.4 mm \pm 0.3 y uno ecuatorial de 18.2 mm \pm 0.2. El resumen de los factores agronómicos se puede ver en la Tabla 2

Tabla 2.- Factores agronómicos del tinguaraque y el jitomate cherry

Parámetro	Tinguaraque	±		Cherry	±
Germinación total	56%	0.00	B	83%	0.00
Supervivencia al trasplante	100%	0.00	A	100%	0.00
Trasplante a floración	34 días	0.00	B	36 días	2.00
Trasplante a fructificación	49 días	2.00	A	47 días	2.00
Trasplante a cosecha	48 días	0.00	B	50 días	0.00
Número de frutos por planta	2681 frutos	637	A	1161 frutos	164
Peso por fruto	0.71	0.70	B	3.17 g	0.28
Rendimiento por planta	1.7 kg	0.20	B	3.7 kg	0.80
Estimado en ton /ha	34,7 ton/ha	n/a		3.7 ton/ha	n/a
Diámetro longitudinal	10.9 mm	0.60	B	17.5 mm	0.30
Diámetro ecuatorial	10.1 mm	0.50	B	18.2 mm	0.05
Tiempo de producción	27 semanas	0.00	A	27 semanas	0.00

8.6.4.-Análisis fisicoquímicos de frutos

El conjunto de análisis fisicoquímicos efectuados (Tabla 3), arrojó resultados estadísticamente diferentes, donde valores del tinguaraque son mayores sobre los del jitomate Cherry en múltiples factores, tales como el contenido total de sólidos solubles, donde los frutos de la planta silvestre presentaron 13.5 ± 0.6 °Brix sobre los 8.9 ± 3 de la variedad comercial; también resultaron ser menos ácidos al tener un pH de 4.24 ± 0.06 sobre los 4.07 ± 0.05 del comercial; también demostraron tener mayor contenido de minerales al encontrarse un $5.4\% \pm 0.3$ de cenizas por gramo de materia seca con respecto a los $4.49\% \pm 0.59$ del jitomate cherry; presentaron también contenidos de materia seca del $14.13\% \pm 0.6$ sobre los $10.5\% \pm 0.9$ del comercial; a su vez, se obtuvo un porcentaje de jugo del $54.93\% \pm 8.2$ contra $43.63\% \pm 7.26$; se determinó además que en el fruto de tinguaraque un porcentaje más alto de su peso corresponde a semillas, al determinarse que $6.73\% \pm 1.37$ con respecto al $3.53\% \pm 0.35$ del cherry.

Adicionalmente el tinguaraque obtuvo valores más altos que cherry en otros parámetros, sin ser estadísticamente diferentes, tales como el contenido energético de $5.05 \text{ Kcal/g} \pm 0.4$ superior a las $4.88 \text{ Kcal/g} \pm 0.1$ del cherry y l

contenido de proteínas, donde el tinguaraque presentó 17.53% \pm 2.25 con respecto a 16.61 \pm 0.62 de los frutos comerciales.

Por otro lado parámetros como la acidez titulable son idénticos en ambos materiales al ajustarse a 1 Meq Ac. Cítrico; finalmente, frutos de tinguaraque demostraron ser menos densos, tener menor cantidad de humedad, grasa y semillas que su contraparte comercial.

Tabla 3.- Análisis fisicoquímicos de frutos de tinguaraque y jitomate Cherry

Parámetro	Tinguaraque	±	Cherry	±
Densidad	0.49 g/cm ³	0.06 B	0.92 g/cm ³	0.03 A
Volumen	2.66 cm ³	0.37 B	4.81 cm ³	0.25 A
% Materia seca	14.13	0.60 A	10.5	0.94 B
% Humedad	85.9	0.62 B	89.5	0.94 A
% Jugosidad	54.93	8.19 A	43.63	7.26 A
% Cenizas	5.4	0.27 A	4.49	0.59 B
Acidez titulable	0.01 Meq Ac. Cítrico	0.00 A	0.01 Meq Ac. Cítrico	0.00 A
% extracto etéreo	7.4	1.71 A	9.28	0.80 A
pH	4.25	0.06 A	4.07	0.05 B
Sólidos solubles	13.53 °Brix	0.61 A	8.93 °Brix	3.01 B
Numero de semilla por fruto	41.75 unidades	7.50 B	71.25 unidades	11.70 A
% de peso de semilla	6.73	1.37 A	3.53	0.35 B
% de pulpa	40.05	7.60 A	46.95	8.19 A
Contenido energético	5.05 Kcal/g	0.37 A	4.88 Kcal/g	0.14 A
Color	233.16 °Hue	2.63 A	221.35 °Hue	2.00 B
Textura	1.88 mm	0.08 A	1.24 mm	0.08 B
	penetrados		penetrados	
% Proteína	17.53	2.25 A	16.61	0.62 A

8.6.5.-Análisis sensoriales de frutos

Tras analizarse los resultados de los parámetros sensoriales (Figura 4), se encontró que la mayor parte de los valores del tinguaraque y cherry fueron similares, sin embargo los evaluadores prefirieron el brillo percibido en el tinguaraque, al obtener un rango total de bloque de 9 sobre los 8.3 del cherry, así como el sabor (9.1>7.1), el que fue calificado de forma general como refrescante por el 67% de los participantes (Figura 5).

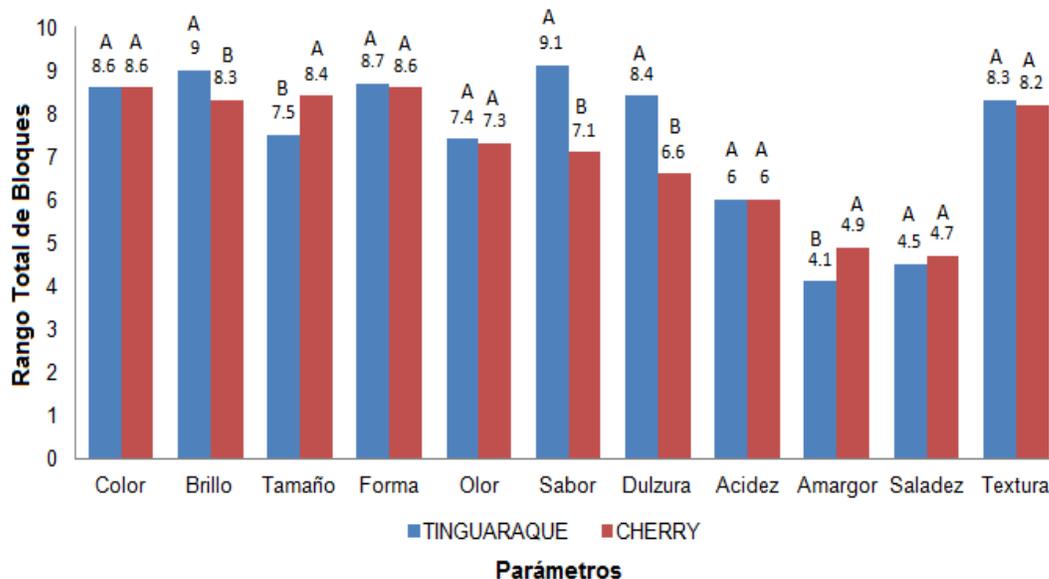


Figura 4.- Comparación de rangos totales de bloque de parámetros sensoriales obtenidos tras la evaluación de frutos de tinguaraque y jitomate cherry.

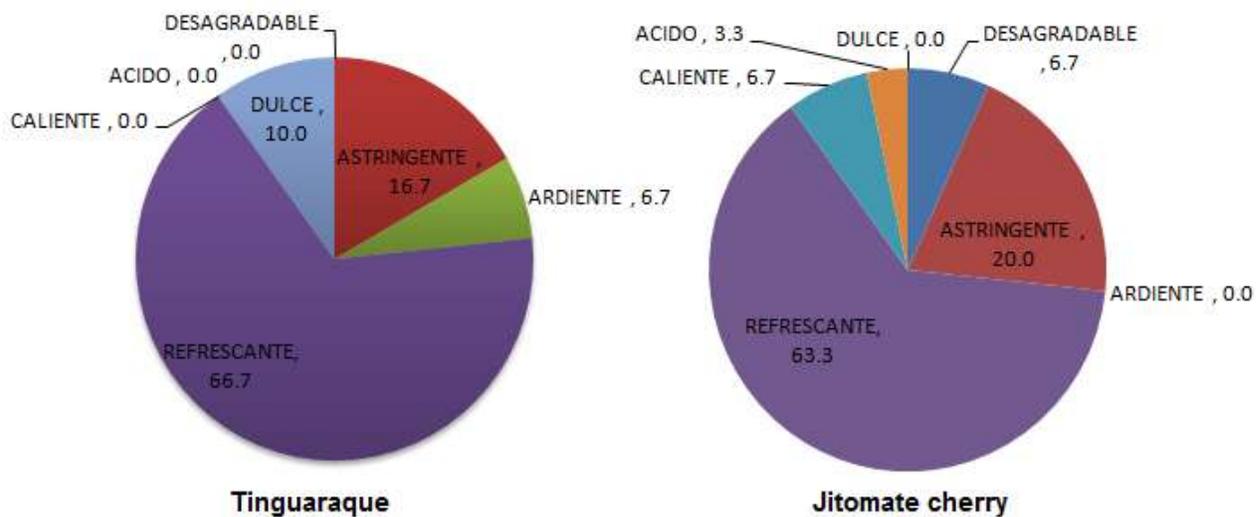


Figura 5.- Sabor general percibido por los jueces para frutos de tinguaraque y jitomate cherry, destacando la predominancia del sabor “refrescante”.

En la percepción de dulzura, el tinguaraque también fue superior (8.4>6.6); además se percibió como menos amargo que el cherry, pero en general, a los jueces les desagradó el tamaño reducido de la fruta y un 63% de ellos manifestó su deseo porque éste se incrementara (Figura 6).

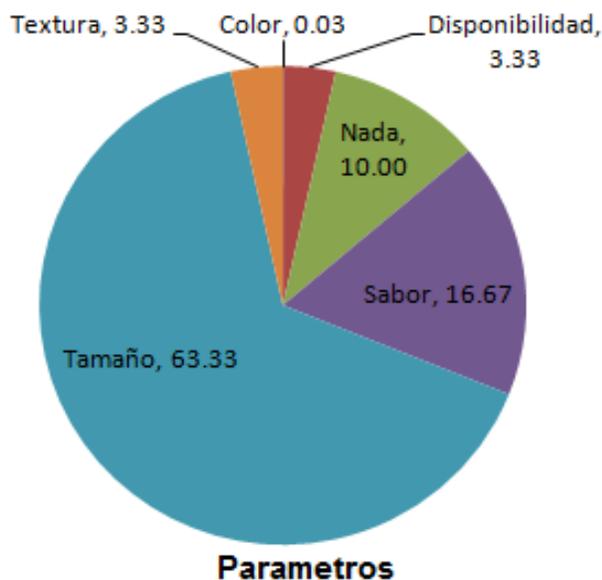


Figura 6.- Parámetros del tinguaraque que deberían mejorarse según el criterio de los jueces.

Considerando que el tinguaraque es un fruto silvestre y se comparó con frutos de una planta mejorada genéticamente es posible que este pueda competir en el mercado contra frutillas (UNECE, 2010) como el arándano (*Vaccinium corymbosum* L.), la zarzamora (*Rubus* spp) y la frambuesa (*Rubus idaeus*), e incluso de lograr aumentar su contenido de sólidos soluble totales hasta los 18 °Brix puede ser útil como materia prima para la elaboración de vinos (Sotomayor-Soler, 1984). Adicionalmente mantendría las aplicaciones culinarias del jitomate cherry.

8.7.-CONCLUSIONES

La metodología empleada permitió propagar el tinguaraque, establecerlo en condiciones de invernadero y mantenerle en producción por casi 7 meses.

Los análisis fisicoquímicos, realizados a frutos de tinguaraque y de jitomate cherry, mostraron que la especie silvestre es estadísticamente igual en los parámetros de contenido energético, porcentaje de proteína y acidez titulable; mientras que en los parámetros de sólidos solubles, materia seca, cenizas y color, prevalecieron los valores del tinguaraque, tales resultados colocan al fruto del

tinguaraque como una frutilla atractiva para incluirla en programas de fitomejoramiento

La germinación de los tinguaraques autóctonos de los Bancos municipio de Parácuaro, Michoacán es más retardada con respecto a poblaciones de otras regiones, además sus semillas poseen baja viabilidad.

A pesar de que la población estudiada demostró ser más tardío que otras poblaciones según lo reportado por la literatura, es posible obtener hasta 4 filiales anualmente, lo que facilitaría la creación de una variedad comercial.

Las etapas de desarrollo del tinguaraque son equiparables a las del jitomate cherry, por ende programas de fertilización formulados para este son aptos para la solanácea silvestre.

8.8.-REFERENCIAS

Álvarez-Hernández, J.C. 2013. COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO E INCIDENCIA DE ENFERMEDADES EN PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) INJERTADAS. Acta agronómica. 61 (2), p 117-125.

Álvarez-Hernández, J.C., Cortez-Madrigal, H., García-Ruiz, I. 2009. EXPLORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES SILVESTRES DE JITOMATE EN TRES REGIONES DE MICHOACÁN, MÉXICO. CIIDIR-IPN, Polibotánica No.28.

AOAC. 2012. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMIST. (19th ed.) Washington, DC. Association of Analytical Chemist.

Berlanga-Silvente, V. & Rubio-Hurtado, J.M. 2012. CLASIFICACIÓN DE PRUEBAS NO PARAMÉTRICAS. CÓMO APLICARLAS EN SPSS. REIRE, Vol. 5, núm. 2, 2012

Cortez-Madrigal, H. 2010. VARIEDAD SILVESTRE DE JITOMATE, EMPLEADO PARA PROTEGER CULTIVOS COMERCIALES: DESARROLLO DE INJERTOS Y MICO-INSECTICIDAS PARA EL MANEJO NTEGRADO DE

PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL JITOMATE. CIIDIR, Unidad Michoacán. Instituto Politécnico Nacional Publicado 03-DIC.

Crisanto-Juárez, A.U., Vera-Guzmán, A.M., Chávez-Servia, J.L., Carrillo-Rodríguez, J.C. 2010. CALIDAD DE FRUTOS DE TOMATES SILVESTRES (*Lycopersicon esculentum* var. *cerasiforme* Dunal) DE OAXACA, MÉXICO. Revista Fitotecnia Mexicana, vol. 33, núm. 4, pp. 7-13

Escobar, H., Lee, R. 2009 MANUAL DE PRODUCCIÓN DE TOMATE BAJO INVERNADERO. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, 2009. pp.180

FAO, 2014. PRINCIPIOS Y AVANCES SOBRE POLINIZACIÓN COMO SERVICIO AMBIENTAL PARA LA AGRICULTURA SOSTENIBLE EN PAÍSES DE LATINOAMÉRICA Y EL CARIBE. Primera edición. FAO

Galvez-Mariscal, A. 2013. LA DIETA TRADICIONAL MEXICANA, ELEMENTO CLAVE EN LA LUCHA CONTRA LA MALA NUTRICIÓN. Boletín UNAM-DGCS-284 Ciudad Universitaria. 06:00 hrs. 7 de mayo.

García, J. 2001. EFECTO DEL DIMETILSULFÓXIDO EN LA RESPUESTA QUIMIOLUMINISCENTE Y EL CONSUMO DE OXÍGENO DE NEUTRÓFILOS HUMANOS ACTIVADOS. Rev. costarric. cienc. méd vol.22 n.1-2

García-Macareno, M.A. 2011. PRODUCCIÓN ECOLÓGICA DE TOMATE SILVESTRE (*Lycopersicum esculentum* Mill var. *cerasiforme* Dunal) EN DIFERENTES SUSTRATOS. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Facultad de Agronomía. Soledad de Graciano Sánchez, S. L. P. Trabajo presentado en Agosto.

Gerhardt, C. 2015. ANÁLISIS DE NITRÓGENO: EL MÉTODO DE JOHAN KJELDAHL. Compendio de C. GERHARDT GMBH & CO. KG KG Cäsariusstraße 9753639 Königswinter,.

Gold, K., León-Lobos, P., Way, M. 2004. MANUAL DE RECOLECCIÓN DE SEMILLAS DE PLANTAS SILVESTRES: PARA CONSERVACIÓN A LARGO PLAZO Y RESTAURACIÓN ECOLÓGICA. Boletín INIA N° 110.

Hernández-Alarcón, E. 2005. EVALUACION SENSORIAL. Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD. CURSO TECNOLOGIA DE CEREALES Y OLEAGINOSAS GUÍA DIDÁCTICA. Primera Edición.

INIFAP, 2001. EL MINADOR DE LA HOJA *Liriomyza* spp Y SU MANEJO EN LA PLANICIE HUAASTECA. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Centro Regional de Investigación del Noreste, Campo Experimental Ébano. Folleto técnico No 5.

Jaramillo-Noreña, J., Rodríguez, V.P., Guzmán, M., Zapata, M.A. 2006. EL CULTIVO DE TOMATEBAJO INVERNADERO. CORPO. Boletín Técnico No 21.

Lesur, L. 2006. MANUAL DEL CULTIVO DEL TOMATE, 3ª REIMPRESIÓN. Editorial Trillas.

Martínez, M., Rodríguez, A. Vargas, O., F. Chiang. 2011. CATÁLOGO NOMENCLATORIAL DE LAS SOLANACEAS DE MÉXICO. Universidad Autónoma de Querétaro. Informe Final SNIB-CONABIO. Proyecto HS004.

Medina, C. 2007. LA FLORA: RIQUEZA, DIVERSIDAD Y SUS RELACIONES FITOGEOGRÁFICAS. Instituto nacional de ecología.

Martínez, M., 1979. CATÁLOGO DE NOMBRES VULGARES Y CIENTÍFICOS DE PLANTAS MEXICANAS. 1ra. ed. Fondo de Cultura Económica. 1247 pp.

Mroginski, L., Sansberro, P., Flaschland, E. 2010. ESTABLECIMIENTO DE CULTIVOS DE TEJIDOS VEGETALES EN BIOTECNOLOGÍA Y MEJORAMIENTO VEGETAL II, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. pp. 17-25.

Olmedo-López, F.A. 2012. EVALUACIÓN DE 5 VARIEDADES DE JITOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Y 2 COLORES DE ACOLCHADO EN LOS BANCOS, PARÁCUARO, MICH. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, facultad de Agrobiología Presidente Juárez. Trabajo presentado en julio.

Restrepo-Salazar, E.W., Vallejo-Cabrera, F.A., Lobo-Arias, M. 2008. FENOLOGÍA DE LA FLORACIÓN EN TOMATE CULTIVADO Y ESPECIES SILVESTRES RELACIONADAS. Acta agronómica Vol. 57, Núm. 2.

Ríos, R. 2009. TOMATE CHERRY. Diario ABC Color. 4 de noviembre.

Roldán-Estrada, A., Aguirre-Paleo, S., Barcenas-Ortega A.E., Hernández-Tovar, I., Verduzco-Ortega, R.M., Pérez- Zavala, M., Gutiérrez-Segovia, Y. 1999. RESCATE DE ECOTIPOS CRIOLLOS Y SILVESTRES DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.) EN TACÁMBARO, MICHOACÁN, MÉXICO. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 69-71.

SEMINIS. 2016. POLINIZACIÓN EN LA PRODUCCIÓN DE HORTALIZAS. Boletín informativo. Lunes, 24 de octubre de 2016.

Sotomayor-Soler, J.P. 1984. DETERMINACIÓN DE MADUREZ EN UVAS PARA VINIFICAR. IPA, Quilamapu N° 22.

Tjalling-Holwerda, H. 2006. CROPKIT GUÍA DE MANEJO: NUTRICIÓN VEGETAL DE ESPECIALIDAD TOMATE. SQM S.A. En colaboración con YARA. Sociedad Química y Minera de Chile.

UNECE, 2010. UNECE STANDARD FFV-57 CONCERNING THE MARKETING AND COMMERCIAL QUALITY CONTROL OF BERRY FRUITS. FFV-57: Berry Fruits.

Vademécum, 2016. CATALOGO ELECTRONICO DE AGROQUIMICOS. Consultado 12 de febrero de 2015 <http://www.agrosiembra.com/nc=CYRUX_25_EC-158>

Vargas, C.D., E. Rodríguez G., J.J. Sánchez G., S. Montes H., A. Ruiz C., R. Lápiz I., P. Puente O., J.L. Martínez R., 2005. ADAPTACIÓN CLIMÁTICA DE LYCOPERSICUM EN EL OCCIDENTE DE MÉXICO. CUCBA, pp. 207–210.

Watada, A.E. 1980. QUALITY EVALUATION OF HORTICULTURAL CROPS- THE PROBLEM. HortScience; VOL. 15(1).

Watts, B.M., Ylimaki, G.L., Jeddery, L.E., Elias, L.G.1992. METODOS BÁSICOS PARA LA EVALUACIÓN DE ALIMENTOS. CIID, 1992. 170 p.

Yadav, R., Rathi, M., Pednekar A., Rewachandani, Y. 2016. A DETAILED REVIEW ON SOLANACEAE FAMILY. European journal of pharmaceutical and medical research. 2016,3(1), 369-378

IX.-ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE TINGUARQUE (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) E IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS

9.1.-RESUMEN

La familia Solanaceae tiene representantes cultivados y silvestres en todo el territorio mexicano, el tomate rojo silvestre o “tinguaraque” (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) es una planta que habita zonas boscosas y de transición. En áreas perturbadas actúa como pionera gracias a la presencia de metabolitos secundarios que le ayudan a defenderse de agentes adversos en medios hostiles. Esta cualidad ha sido evaluada usando la planta como portainjerto y confiriendo resistencia al injerto de jitomate comercial contra patógenos del suelo. No obstante este resultado, no se ha dado mayor importancia al tinguaraque, ni se ha evaluado los compuestos vegetales, como flavonoides o terpenos, mismos que pudieran ser usados contra otros patógenos de cultivos comerciales. Por tal motivo y con base en lo anterior, se planteó como objetivo, diseñar una estrategia para la búsqueda e identificación de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana. Para tal fin se obtuvieron extractos de tejido aéreo (TA) y tejido radicular (TR) de plantas de tinguaraque en las etapas de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) mediante maceración de barrido con los solventes hexano (H), cloroformo (C) y metanol (M). Los extractos fueron filtrados y resuspendidos en solución de dimetilsulfóxido con agua destilada 1:10 v/v para probar su efecto antimicrobiano de manera preliminar por el método de difusión en agar. Mediante análisis estadístico, se seleccionaron los mejores extractos y se determinó la dosis letal media para bacterias por recuento con cámara de Neubauer y mediante la técnica del medio de cultivo envenenado para hongos. Finalmente, estos fueron analizados por cromatografía de capa fina (TLC) y cromatografía de gases-masas (GC-MS). Los extractos hexánicos HTRE2 y HTAE4 registraron actividad inhibitoria sobresaliente contra bacterias las *Clavibacter michiganensis* (CL_{50} = 5.6 mg/mL) y *Pantoea stewartii* (CL_{50} = 5 mg/mL), respectivamente; bioactividad corroborada por bioautografías en placas de sílica F₂₅₄. Por otro lado, el extracto metanólico de MTAE3, resultó efectivo para controlar los hongos *Colletotrichum*

acutatum (DL₅₀= 1.13 mg/mL) y *Pleurotus ostreatus* (CL₅₀= 0.6 mg/mL). El análisis preliminar del extracto MTAE3 por cromatografía de capa fina, presentó Rf similares a los estándares de los flavonoides quercetina (Rf = 0.875), ácido ferúlico (Rf = 0.579), rutina (Rf = 0.716) y ácido clorogénico (Rf = 0.341). El análisis por GC-MS registraron los compuestos artemisia cetona (1.9 mg/g) para el extracto HTRE2; y para HTAE4 se encontró 4-Careno (10.48 mg/g), β-pineno (1.17 mg/g) y eugenol (1.99 mg/g), compuesto reportados como antimicrobianos.

Palabras clave: tomate silvestre, maceración, difusión en disco, inhibición, cromatografía.

9.2.-ABSTRACT

The Solanaceae family has cultivated and a wild representative throughout the Mexican territory, the wild red tomato or “tinguaraque” (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) is a plant that inhabits wooded and transitional areas. In disturbed areas it acts as a pioneer thanks to the presence of secondary metabolites that help it to defend against adverse agents in hostile environments. This quality has been evaluated using the plant as a rootstock and conferring resistance to commercial tomato grafting against soil pathogens. Notwithstanding this result, no major importance has been attached to tinguaraque, nor has it evaluated plant compounds, such as flavonoids or terpenes, which could be used against other commercial crop pathogens. For this reason and based on the above, the objective was to design a strategy for the search and identification of secondary metabolites with antimicrobial activity. For this purpose, extracts of aerial (TA) and root (TR) tissue of Tinguaraque plants were obtained in the stages of branching (E1), flowering (E2), fruiting (E3) and production (E4) by maceration of sweeping The solvents hexane (H), chloroform (C) and methanol (M). The extracts were filtered and resuspended in dimethylsulfoxide solution with 1:10 v / v distilled water to test their antimicrobial effect preliminarily by the agar diffusion method, by statistical analysis, the best extracts were selected and the lethal dose Mean for bacteria by counting with a Neubauer chamber and by means of the culture medium poisoned for fungi. Finally, these were analyzed by thin layer chromatography (TLC) and gas-mass chromatography (GC-MS). The hexane extracts HTRE2 and HTAE4 recorded outstanding inhibitory activity against bacteria *Clavibacter michiganensis* (LC₅₀ = 5.6 mg / mL) and *Pantoea stewartii* (LC₅₀ = 5 mg / mL), respectively; Bioactivity corroborated by bioautographs on F254 silica plates. On the other hand, the methanolic extract of MTAE3 was effective to control the fungi *Colletotrichum acutatum* (LC₅₀ = 1.13 mg / mL) and

Pleurotus ostreatus (LC50 = 0.6 mg / mL). The preliminary analysis of the extract MTAE3 by thin layer chromatography presented Rf similar to flavonoid standards quercetin (Rf = 0.875), ferulic acid (Rf = 0.579), rutin (Rf = 0.716) and chlorogenic acid (Rf = 0.341). Analysis by GC-MS recorded artemisia ketone (1.9 mg / g) for the extract HTRE2; And for HTAE4 where found, 4-Careno (10.48 mg / g), β -pinene (1.17 mg / g) and eugenol (1.99 mg / g), reported as antimicrobial.

Key words: wild tomato, maceration, disk diffusion, inhibition, chromatography.

9.3.-INTRODUCCIÓN

La bioactividad de extractos vegetales, se debe a la presencia y efecto de los metabolitos secundarios o fitoquímicos, compuestos derivados del metabolismo primario y de naturaleza variable que se acumulan cualitativa y cuantitativamente dependiendo de la etapa fenológica, épocas del año y tipo de estímulo en la planta. Entre sus funciones, participan en la defensa contra herbívoros, patógenos y factores abióticos, por ello son los artífices de las estrategias químicas que emplea la planta para sobrevivir (Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009).

Las plantas silvestres se encuentran en lucha constante, por lo tanto sus mecanismos de defensa se encuentran más desarrollados que los de especies cultivadas (Zavala, 2010). Por ello, es de esperarse que extractos elaborados con materiales silvestres, sean útiles para diferentes aplicaciones. La literatura reporta numerosos trabajos donde se evalúa la bioactividad de extractos vegetales procedentes de plantas silvestres: se ha documentado que los obtenidos con metanol y etanol a partir de maqui (*Aristotelia chilensis*) y murtila (*Ugni molinae*) poseen capacidad antioxidante con aplicaciones industriales (Avello *et al.*, 2009); también existen estudios en los que se demuestra la eficacia de extractos metanólicos de higuera (*Ricinus communis*) y acuyo (*Piper auritum*) como repelentes e insecticidas (Perales-Segovia *et al.*, 2015); por otro lado, se reporta que extractos acuosos e hidroalcohólicos de la acacia (*Acacia farnesiana*) poseen capacidad antifúngica (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2012).

Las solanáceas son una familia que abarca 98 géneros con 2700 especies (Yadav-*et al.*, 2016), Michoacán (México) ocupa el quinto lugar nacional en diversidad de plantas de esta familia, las cuales se han adaptado a variedad de ecosistemas presentes en el estado, lo que podría indicar que los metabolitos secundarios sintetizados por estas pueden ser útiles para el hombre en múltiples aplicaciones, por ejemplo: se ha reportado que extractos hexánicos y metanólicos de trompillo (*Solanum eleagnifolium*) pueden ser repelentes alternativos en el control de plagas (Sánchez-Chopa *et al.*, 2009); por otro lado, extractos metanólicos de *Cestrum buxifolium* se reportan como antibióticos (Corzo-Barragán, 2012), mientras que los acuosos se han empleado como analgésicos y antiinflamatorios (Gómez-Barrios *et al.*, 2008).

En el presente trabajo, se evaluó y comparó la actividad antimicrobiana de extractos de diferente polaridad de plantas cultivadas en invernadero de tinguarque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) y con ello aportar nuevas evidencias del tipo de fitoquímicos presentes y sus posibles aplicaciones.

9.4.-OBJETIVOS

Los objetivos de este estudio fueron: (i) Desarrollar un protocolo para la obtención de extractos con diferente polaridad y comparar la actividad antimicrobiana e (ii) Identificar por técnicas cromatográficas los compuestos de importancia antimicrobiana presentes en los extractos.

9.5.-MATERIALES Y MÉTODOS

9.5.1.-Material vegetal

Para la obtención de extractos, se emplearon plantas de tinguarque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* D.M. Spooner, G.J. Anderson & R.K. Jansen), número de referencia **254838**, (Herbario del Instituto de Ecología, A.C., México (IE-BAJÍO), Pátzcuaro, Michoacán, México), en las etapas fenológicas de ramificación, floración, fructificación y producción.

9.5.2.-Preparación de extractos

El tejido aéreo (TA) y tejido radicular (TR) de plantas de tinguaraque en las etapas de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4), fueron deshidratados durante 24 horas a 45 °C empleando un deshidratador eléctrico para frutas (Hiking^R); posteriormente se pulverizaron y se colocaron en contacto con n-hexano (H), en proporción de un gramo de materia deshidratada por mililitro de solvente, durante seis días a 7 °C ±2. La mezcla se filtró en un sistema de embudo acoplado a una bomba de vacío (Evans^R) con discos de papel filtro Whatman #40. Empleando un rotavapor (Heidolph^R) se retiró el solvente y los extractos fueron resuspendidos en solución de dimetilsulfóxido con agua destilada 1:10 v/v. El material vegetal seco se sometió a una segunda y tercera maceración con cloroformo (C) y metanol (M) respectivamente, con modificaciones a lo reportado Aguilar-Guadarrama y Ríos (2007), de tal manera que al final fuera posible la obtención de 24 extractos distintos (Tabla 4).

Tabla 4.- Nomenclatura abreviada de extractos

RAMIFICACIÓN			FLORACIÓN			FRUCTIFICACIÓN			PRODUCCIÓN		
H	TR	E1	H	TR	E2	H	TR	E3	H	TR	E4
C	TR	E1	C	TR	E2	C	TR	E3	C	TR	E4
M	TR	E1	M	TR	E2	M	TR	E3	M	TR	E4
H	TA	E1	H	TA	E2	H	TA	E3	H	TA	E4
C	TA	E1	C	TA	E2	C	TA	E3	C	TA	E4
M	TA	E1	M	TA	E2	M	TA	E3	M	TA	E4

9.5.3.-Material microbiológico

Los microorganismos empleados para realizar las pruebas de actividad antimicrobiana de los extractos, fueron los siguientes:

Clavibacter michiganensis subespecie *michiganensis* (Gram positiva): material donado por el Dr. Víctor Olalde Portugal de CINVESTAV Irapuato, afecta el jitomate provocando el cancro bacteriano (Borboa-Flores *et al.*, 2009).

Pantoea stewartii (Gram negativo): material donado por la Dra. Maribel Gutiérrez Contreras de la UMSNH, está relacionado con la marchitez del maíz, pero afecta a múltiples hospederos, entre ellos solanáceas (Pataky *et al.*, 2000; Narayanasamy, 2001).

Colletotrichum acutatum (Ascomycota): Material donado por Dr. Edgardo Federico Hernández Valdés de la UMSNH, es un patógeno cosmopolita, provoca la antracnosis del tomate entre otras enfermedades (Víchová *et al.*, 2012).

Pleurotus ostreatus (Basidiomycota): Material facilitado por la M.C. Lizette Chávez Meza del Colectivo Simbioikos, hongo de importancia comercial cuyas cepas silvestres provocan pudrición blanca en especies forestales (Cedano *et al.*, 1993).

9.5.4.-Confrontaciones

La actividad antimicrobiana de los extractos en general se evaluó por el método de Kirby-Bauer (Bauer *et al.*, 1966), empleando discos de papel absorbente de 6.59 mm de diámetro (Bio-Rad^R) impregnados con 30 µl de cada extracto y cajas Petri conteniendo medio *Potato-Dextrosa-Agar* (PDA). Las bacterias fueron inoculadas empleando 10 µl de solución bacteriana, distribuidor y varilla de vidrio triangular; los hongos se sembraron utilizando discos de 7mm extraídos de cultivos previos con sacabocados. Las pruebas se realizaron por triplicado. Los halos inhibitorios o barreras inducidos (para hongos se midió la distancia desde disco impregnado hasta el cuerpo del hongo para tomarse como radio y posteriormente se convirtió a diámetro) por los extractos sobre cada microorganismo fueron medidos con un vernier digital (Truper^R).

Los datos obtenidos se evaluaron mediante un diseño experimental factorial con tres niveles (Tejido, etapa de desarrollo y solvente empleado) bajo el modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_j + \gamma_k + (\tau\beta)_{ij} + (\tau\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\tau\beta\gamma)_{ijk} + u_{ijkl}$$

Donde:

Y_{ijkl} = variable de respuesta a los factores

μ = media poblacional

T_i = primer factor

B_j = segundo factor

Y_k = tercer factor

$(\tau\gamma)_{ik}$ = interacción entre primer y segundo factor

$(\tau\beta)_{ij}$ = interacción entre primer y tercer factor

$(\beta\gamma)_{jk}$ = interacción de segundo y tercer factor

$(\tau\beta\gamma)_{ijk}$ = interacción entre los tres factores

u_{ijkl} = error experimental

9.5.5.-Selección de extractos

Con base en el análisis estadístico y en la observación directa de la bioactividad presentada, Los extractos que indujeron mayor inhibición fueron seleccionados para ser analizados por técnicas cromatográficas. Adicionalmente, por separado, cada extracto seleccionado se empleó para calcular la concentración letal media (CL_{50}) contra el organismo que presentó mayor actividad.

9.5.6.-Determinación de concentración letal media (CL_{50})

Las concentraciones letales medias (CL_{50}) para bacterias fueron determinadas cultivando los microorganismos en medio Mueller-Hinton Broth bajo agitación con diferentes concentraciones de extracto y un antibiótico como control negativo que se seleccionó previamente en pruebas con antibiogramas (Bio-Rad^R), la toma de datos se efectuó a través de recuento celular con cámara de Neubauer y empleado la formula:

$$\text{part. por } \mu\text{l volumen} = \frac{\text{partículas contadas}}{\text{sup.cont.}(\text{mm}^2) \cdot \text{prof. cámara}(\text{mm}) \cdot \text{Tít dil.}}$$

Para determinar la CL₅₀ con hongos, se utilizó la técnica del medio de cultivo envenenado, empleando PDA con diferentes concentraciones de extracto, además de un control negativo conformado por la mezcla de azoxystrobin y oxiclóruo de cobre.

Los datos obtenidos fueron graficados y con las curvas obtenidas se generaron funciones matemáticas a partir de puntos 2 conocidos, tomando a “Y” como cantidad de organismo (número de células por μl y mm de diámetro micelial), Para obtener los valores de CL₅₀, se despejó “X” para un 50% de supervivencia, literal que representó el valor de concentración de extracto (Cañedo y Ames, 2004; Rivero-González *et al.*, 2009; Bastidas, 2016), la formula empleada y despejada es la siguiente:

$$y = ae^{bx} \therefore x = \frac{\ln(y/a)}{b}$$

Donde:

Y= cantidad de organismo presente (células por μl y mm de diámetro)

X= concentración de extracto

e= numero irracional aproximado a 2.71828 (constante)

a= primer valor del eje Y (Y₁) conocido en grafico de la curva

b= $(\ln(Y_2 / Y_1)) / X_2$

9.5.7.-Análisis por cromatografía de capa fina

Los extractos sobresalientes fueron concentrados empleando una campana de flujo horizontal marca Novatech^R hasta que se retiró el 90% del solvente, después se utilizaron placas de sílica F₂₅₄ (Merck^R) de 20x20 cm. A cada placa empleada se le aplicaron 1 y 2 µL de extracto concentrado y se comparó con 1 µL de diferentes estándares (ácido gálico, crisina, 3,4-ácido dimetoxicinámico, naringenina, quercetina, rutina, ácido, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico y ácido trans-cinámico), las separaciones se realizaron en una cámara cromatográfica (Lamag^R) con capacidad de 15 mL empleando una mezcla de butanol, ácido acético y agua (BAW) en relaciones de 4:1:5 (V/V), las corridas se realizaron por triplicado y los cromatogramas obtenidos fueron revelados con luz ultravioleta a 365 nm.

9.5.8.-Elaboración de bioautografías

Tras el análisis con estándares, se elaboraron cromatogramas para elaborar bioautografías con bacterias cultivadas en medio Mueller-Hinton Broth, siguiendo la metodología de Colorado *et al.* (2007) con la finalidad de comprobar su actividad biológica.

9.5.9.-Análisis por cromatografía de gases-masas (GC-MS)

Los extractos hexánicos sobresalientes fueron analizados en un cromatógrafo de gases (Agilent^R modelo HP6890) con espectrómetro de masas acoplado (Agilent^R modelo HP5973N) siguiendo el procedimiento utilizado por Gutiérrez y Droguet (2002) con ligeras modificaciones: se empleó una columna medianamente polar HP-5MS de 30m x 20mm x 20µm, utilizando helio como gas acarreador a una presión de 7.48 psi y a 1 mL/min. La cantidad de muestra inyectada por cada extracto, además del estándar tetradecano fue de 1 µL en la modalidad de "split" o flujo dividido 1: 60.3, a una temperatura de 250 °C. La temperatura inicial del horno empleada fue de 50 °C, ésta se aumentó 20 °C por minuto transcurrido hasta llegar a 200 °C, enseguida se aumento 15 °C por minuto hasta llegar a 280 °C. Finalmente se aumentaron 20 °C mas cada minuto hasta

alcanzar los 300 °C. El espectrómetro de masas se operó con ionización eléctrica a 70 electrón-volts, a un flujo de 1mL/min, una temperatura de interface de de 280 °C y en la modalidad de Full Scan (50-550 m/z). Los compuestos detectados se compararon mediante su espectro con la base de datos de la biblioteca virtual NIST del Departamento de Comercio de EEUU. Finalmente la concentración relativa de los compuestos de interés se obtuvo mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Concentración relativa} = \frac{\text{Concentración de compuesto}}{\text{Concentración de todos los compuestos}}$$

9.6.-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

9.6.1.- Evaluación de actividad antimicrobiana de extractos

La realización de los bioensayos y el análisis estadístico demostraron, que de forma general los extractos obtenidos con metanol (M) presentaron mayor actividad contra hongos *Colletotrichum acutatum* y *Pleurotus ostreatus* (Figuras 7 y 8); en comparación con los hexánicos (H) quienes a su vez, tuvieron una tendencia a ser mejores sobre bacterias (Figuras 9 y 10). Estos resultados concuerdan con lo reportado por Moreno-Limón *et al.* (2011) encontraron que la actividad de extractos polares de *Larrea tridentata* (gobernadora) fue eficaz contra los hongos *Aspergillus niger* y *Penicillium*. Así mismo Niño *et al.* (2007), encontraron que extractos polares de las plantas *Syzigium aromaticum* y *Commelina difusa* poseen un efecto antifúngico considerable y atribuyeron esta bioactividad a alcaloides, esteroides, fenoles, flavonoides, saponinas y taninos, entre otros compuestos, que es posible se encuentren en el tinguarake. En lo referente a los extractos polares, Luna-Cazares y González-Esquinca (2008), encontraron una actividad selectiva dependiendo de la polaridad del extracto, ya que los extractos no polares de tejidos específicos de *Annona purpurea* fueron más efectivos contra *Salmonella typhi* que los polares, también concuerda con lo reportado por Córdova-Guerrero *et al.* (2016) quienes determinaron que extractos hexánicos de *Salvia apiana* fueron efectivos contra bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, pero ineficaces contra hongos;

los autores además atribuyen la actividad antibacteriana a los metanolitos secundarios cineol, tujona y alcanfor, compuestos de la familia de los terpenoides.

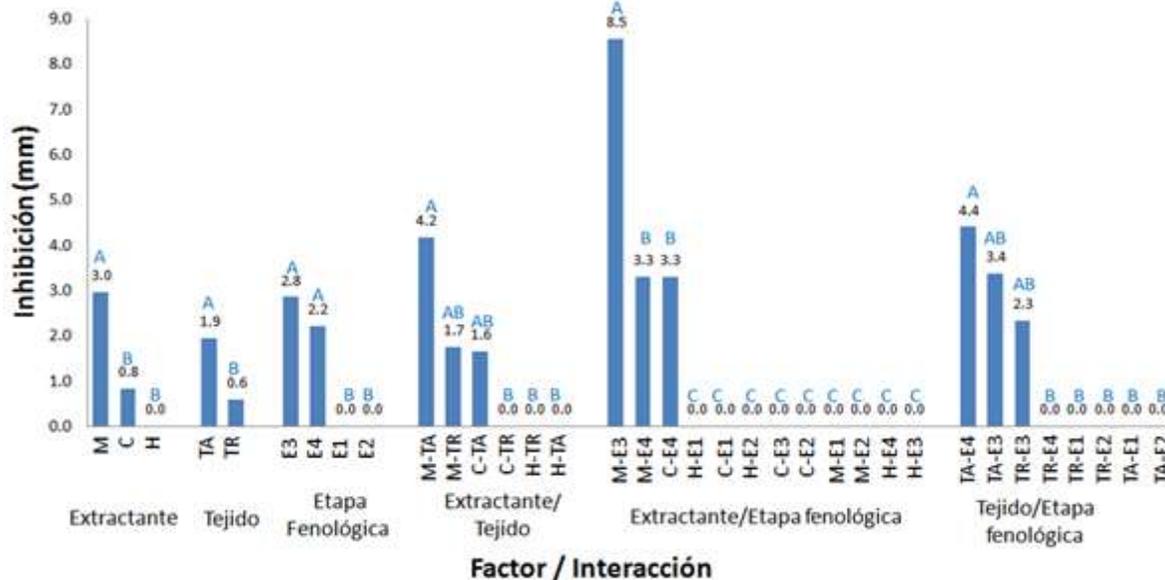


Figura 7.- Efecto de factores individuales e interacción en la inhibición del hongo *Colletotrichum acutatum* por el método Kirby-Bauer en mm.

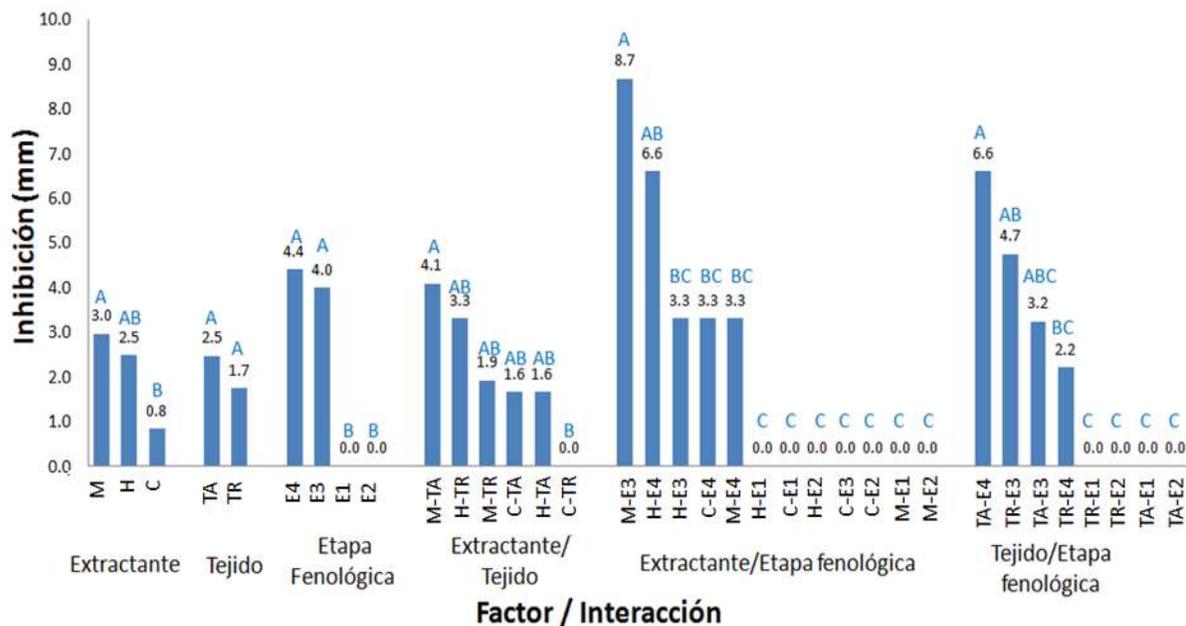


Figura 8.- Efecto de factores individuales e interacción en la inhibición del hongo *Pleurotus ostreatus* por el método Kirby-Bauer en mm.



Figura 9.- Efecto de factores individuales e interacción en la inhibición de la bacteria *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis* por el método Kirby-Bauer en mm.

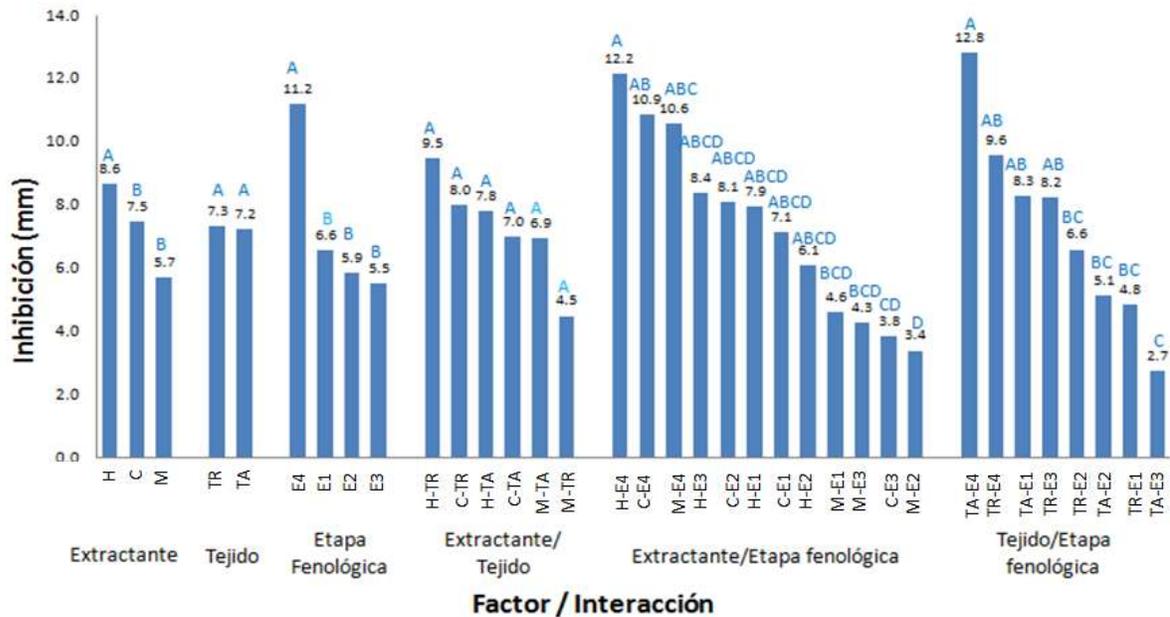


Figura 10.- Efecto de factores individuales e interacción en la inhibición de la bacteria *Pantoea stewartii* por el método Kirby-Bauer en mm.

Con base en los resultados obtenidos, también se pudo determinar extractos obtenidos a partir de tejido aéreo (TA) tendieron a ser efectivos contra hongos (Figuras 7 y 8); por otro lado extractos de tejido radicular (TR), de forma general surtieron un mejor efecto contra bacterias (Figuras 9 y 10). Lo observado concuerda con lo reportado por Rodríguez-Pedroso *et al.* (2012) quienes encontraron que extractos de tejido aéreo (específicamente hojas) de *Acacia farnesiana* fueron efectivas contra el hongo como *Fusarium oxysporum* y atribuyeron tal bioactividad a flavonoides, fenoles, taninos, triterpenos, saponinas, etc. Compuestos que junto con los terpenos pueden estar presentes en el tejido aéreo de tinguaraque. Lo encontrado en el presente trabajo también es congruente con lo reportado por Monroy-Pulido y Valencia-Ciprés (2016), quienes observaron que extractos obtenidos con tejido radicular de *Echinacea purpurea* (equinacea) poseen capacidad antimicrobiana y fueron probados con éxito contra *Staphylococcus aureus*, superando a extractos de tejido aéreo (específicamente floral) entre otros órganos.

Adicionalmente, se encontró que extractos elaborados con material vegetal en las etapas E4 y E3 (producción y fructificación respectivamente) tuvieron de forma generalizada mayor capacidad antimicrobiana que el resto de las etapas, esto en parte puede deberse a la acumulación de metabolitos que la planta experimenta durante estas, pues como menciona Villareal *et al.* (2014) la presencia y concentración de estos compuestos dependen en parte de la edad del espécimen, esto puede suceder debido a la necesidad que la planta tiene de proteger su descendencia, tal objetivo es logrado sintetizando metabolitos mayoritariamente tóxicos o repelentes. Lo ya mencionado se puede comparar con lo reportado por Baumann y Meier (1993) quienes encontraron que los compuestos químicos de defensa (fitoalexinas) de *Physalis peruviana* registraron un aumento significativo cuando esta planta comienza a desarrollar frutos.

Al analizar las interacciones entre factores, se pudo determinar que dentro de las combinaciones entre extractante (solvente) y tejido no existió diferencia

significativa ($\alpha = 0.05$), por lo tanto es necesaria la intervención con un tercer factor para marcar una diferencia contundente.

Desde otra perspectiva, al comparar las interacciones extractante-etapa de desarrollo, se encontró que para hongos son en general más efectivos extractos metanólicos (M) de plantas en fructificación (E3) que los obtenidos por otras combinaciones (Figuras 7 y 8), esto posiblemente se debe a que los compuestos sintetizados y acumulados en el tejido aéreo durante la etapa de formación de frutos (momento en que las plantas aumentan la síntesis de compuestos antifúngicos) son altamente polares, por ello su extracción con metanol es factible; posteriormente estos son expulsados o trasladados a otros tejidos y para facilitar el transporte requieren volverse biológicamente inactivos, probablemente transformándose en glicosidos (Sepúlveda Jiménez *et al.*, 2003; Repetto-Jiménez y Repetto-Kuhn, 2009; Rincón-Pérez, 2013).

Por otro lado, mediante la comparación de interacciones entre tejido y etapa fenológica, se determinó que extractos obtenidos con TRE4, TRE2 Y TAE4 fueron efectivos contra *Clavibacter michiganensis* (Figura 9); mientras que los obtenidos con TAE4, TRE4, TAE1 Y TRE3, fueron efectivos con *Pantoea stewartii* (Figura 10) y hongos (Figuras 7 y 8), se refuerza lo reportado por Villareal *et al.* (2014) puesto que la presencia y concentración de metabolitos estaría variando con el estado de madurez de los tejidos.

Adicionalmente, al analizar la acción conjunta de los tres factores o extractos íntegros como tal, se encontró que para los hongos *Colletotrichum acutatum* y *Pleurotus ostreatus* la mayor inhibición fue lograda por el extracto elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (E3) (10.07mm \mp 0.48 para *C. acutatum* y 9.70mm \mp 1.45 para *P. ostreatus* respectivamente) (Figuras 11 y 12). Cabe recalcar que *C. acutatum* presentó inmunidad a 20 de los 24 extractos obtenidos, mientras que tres más apenas perturbaron su crecimiento y al compararse con fungicidas comerciales se requirió la combinación de 2 productos para su control). Con base en lo observado, se puede afirmar que posiblemente los metabolitos secundarios con mayor actividad antifúngica se sintetizan en el

tejido aéreo durante el periodo formativo de los primeros frutos y posteriormente emigren hacia otros tejidos, sean transformados o inactivados.

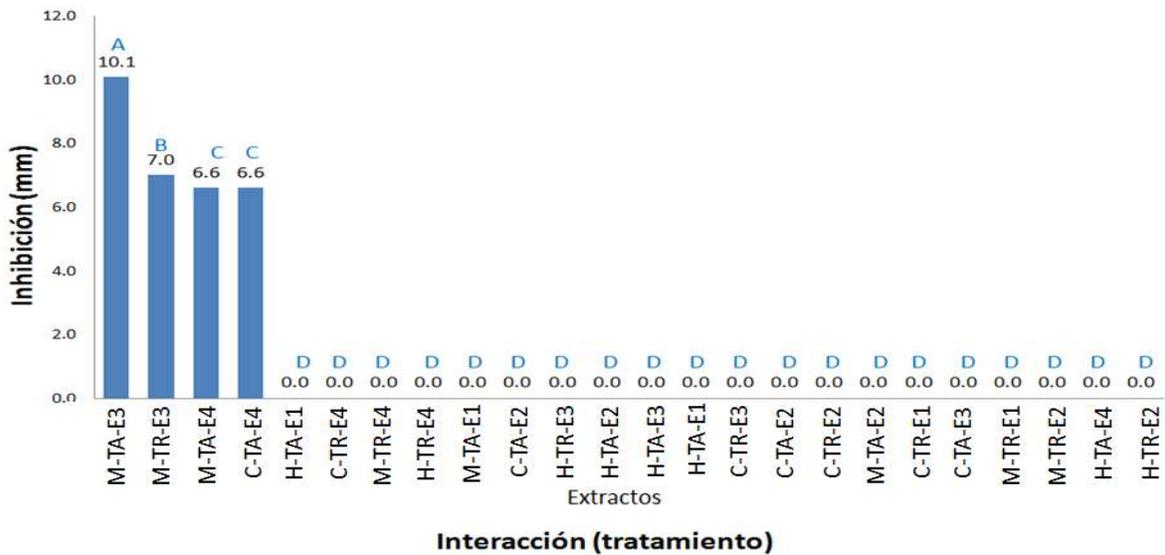


Figura 11.- Efecto inhibitorio de extractos hexánicos (H), clorofórmicos (C) y metanólicos (M) de tejido radicular (TR) y aéreo (TA) obtenidos de plantas de “tinguaraque” (*Solanum lycopersicum* variedad *cerasiforme*) deshidratadas en etapa de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) sobre el hongo *Colletotrichum acutatum*. Se aplicaron 30 µl de cada extracto.

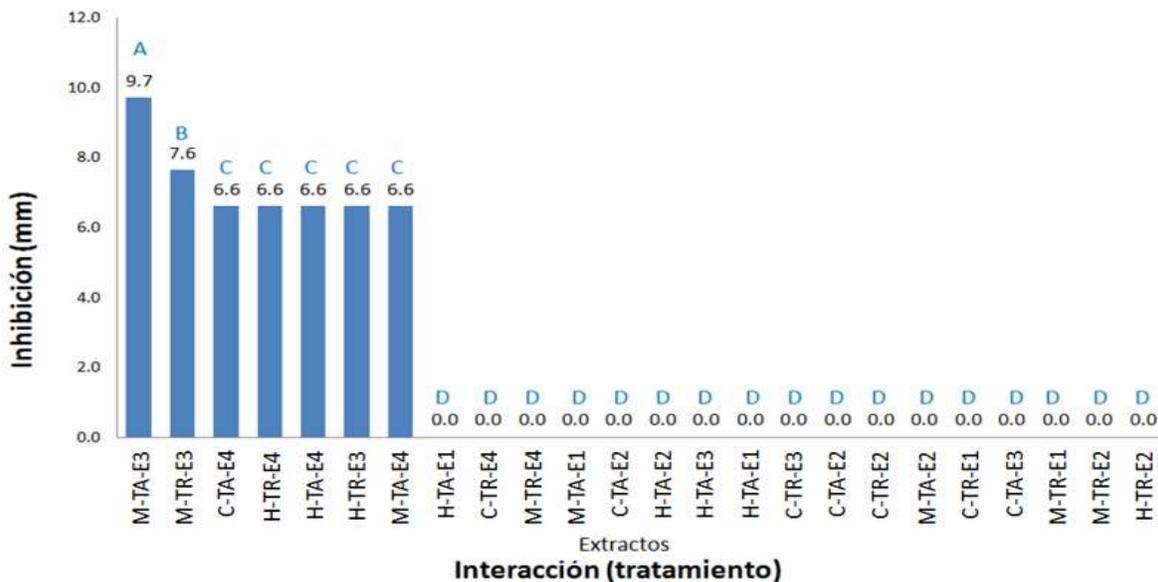


Figura 12.- Efecto inhibitorio de extractos hexánicos (H), clorofórmicos (C) y metanólicos (M) de tejido radicular (TR) y aéreo (TA) obtenidos de plantas de “tinguaraque” (*Solanum lycopersicum* variedad *cerasiforme*) deshidratadas en etapa de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) sobre el hongo *Pleurotus ostreatus*. Se aplicaron 30 µl de cada extracto.

Por otro lado, los halos inhibitorios más grandes sobre *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis*, fueron inducidos por los extractos hexánicos elaborados con tejido radicular de planta en floración (E2) (21.9 mm \mp 1.79) y en producción (E4) (19.91 mm \mp 3.07) (Figura 13); para *Pantoea stewartii* Los halos inhibitorios más grandes se lograron con el extracto hexánico de hoja/tallo de planta en producción (15.03mm \mp 1.72.) y el hexánico de raíz de planta en floración (12.17mm \mp 0.49) (Figura 14); es posible que compuestos antibacterianos sean sintetizados en el tejido radicular, y comiencen su acumulación durante la etapa de floración, pero posteriormente al iniciara la etapa de fructificación, el gasto energético que representa la formación de frutos provoque la reducción en la producción de tales compuestos, la cual se ve reanudada durante la etapa de producción pues el gasto energético se ve compensado con el aumento de tamaño de la planta (Arias-Zabala *et al.*, 2009; Ávalos-García y Pérez-Urria, 2009; Prado-Montes de Oca, 2009; Pérez-Alonso y Jiménez, 2011; Rojas-Idrogo *et al.* 2014).

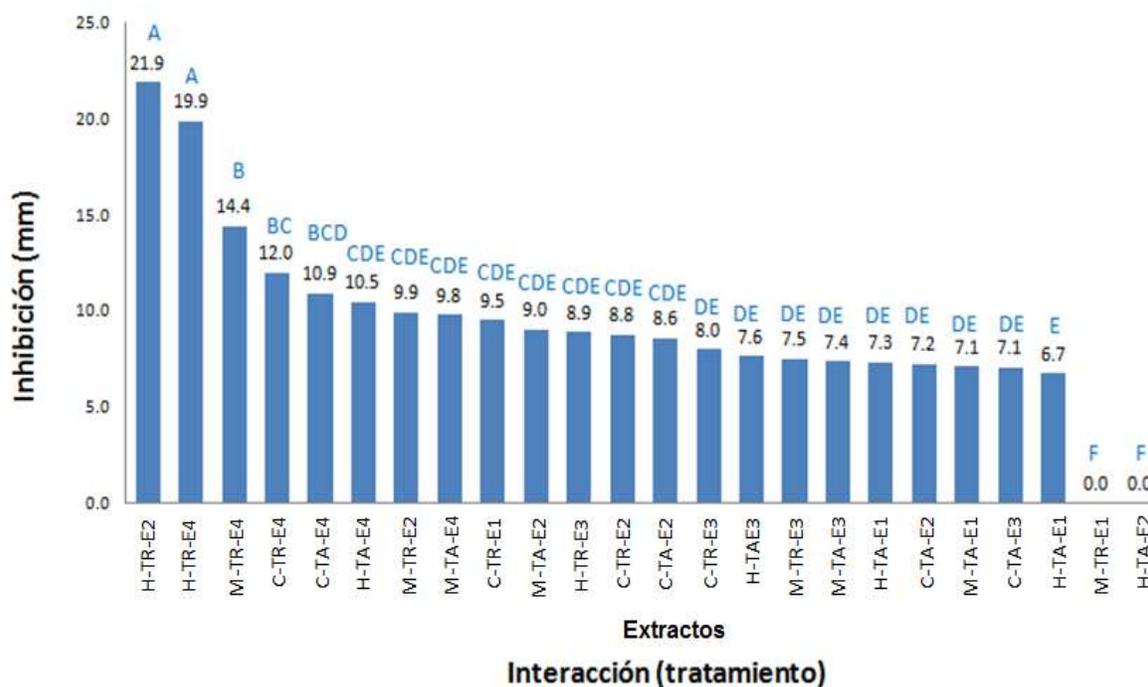


Figura 13.- Efecto inhibitorio de extractos hexánicos (H), clorofórmicos (C) y metanólicos (M) de tejido radicular (TR) y aéreo (TA) obtenidos de plantas de “tinguaraque” (*Solanum lycopersicum* variedad *cerasiforme*) deshidratadas en etapa de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) sobre la bacteria *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis*. Se aplicaron 30 μ l de cada extracto.

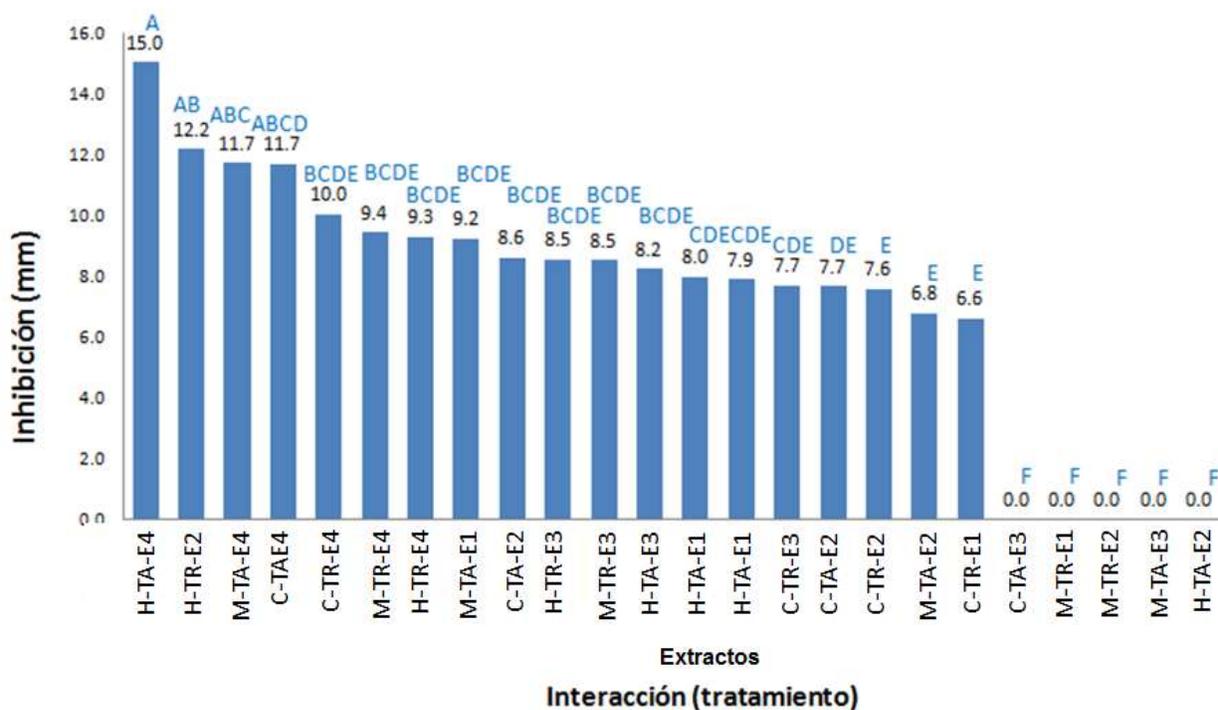


Figura 14.- Efecto inhibitorio de extractos hexánicos (H), clorofórmicos (C) y metanólicos (M) de tejido radicular (TR) y aéreo (TA) obtenidos de plantas de “tinguaraque” (*Solanum lycopersicum* variedad *cerasiforme*) deshidratadas en etapa de ramificación (E1), floración (E2), fructificación (E3) y producción (E4) sobre la bacteria *Pantoea stewartii*. Se aplicaron 30 µl de cada extracto.

Finalmente, se seleccionaron dos extractos hexánicos: el elaborado con tejido radicular de planta en floración (H TR E2) y el obtenido a partir tejido aéreo de planta en producción (H TA E4) por ser los más efectivos contra *Clavibacter michiganensis* y *Pantoea stewartii* respectivamente; además de un metanólico, el elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (M TA E3) por ser el que indujera inhibición mas significativamente sobre los hongos *Colletotrichum acutatum* y *Pleurotus ostreatus* (Figura 15).

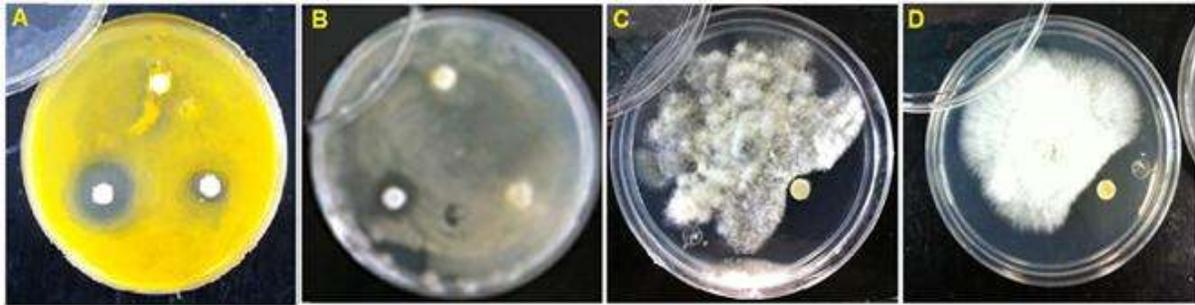


Figura 15.- Efecto de extractos sobresalientes sobre los microorganismos utilizados. A: Parte inferior izquierda, efecto de 30 μ l de extracto hexánico en *Clavibacter michiganensis* elaborado con tejido radicular de planta en floración (HTRE2); B: Parte inferior izquierda, efecto de 30 μ l de extracto hexánico elaborado con tejido aéreo de planta en producción (HTAE4) sobre *Pantoea stewartii*; C: Parte inferior derecha, efecto de 30 μ l de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (HTAE3) sobre *Colletotrichum acutatum*; D: Parte inferior derecha, efecto de 30 μ l de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (HTAE3) sobre *Pleurotus ostreatus*.

9.6.2.-Determinación de concentración letal media (CL₅₀)

Una vez evaluada la actividad antimicrobiana de los extractos sobresalientes de forma individual, se encontró que se requieren 5.6 mg/mL de extracto hexánico elaborado con tejido radicular de planta en floración (HTRE2) para limitar el crecimiento de *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis* al 50%, también se determinó que se requieren 15.6 mg/mL de extracto para igualar el efecto de 25 μ g/mL del antibiótico comercial Trimetoprima/sulfametoxazol (Figura 16).

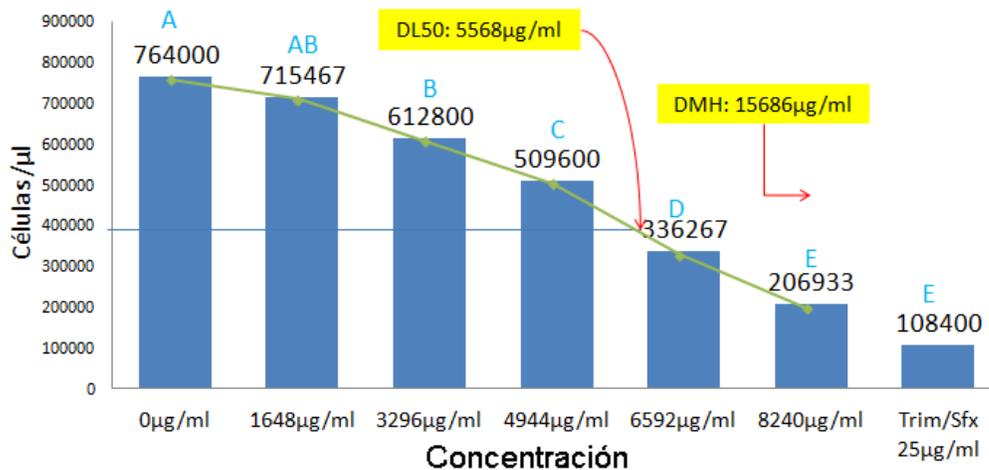


Figura 16.- Grafica empleada para determinar la concentración letal media del extracto hexánico elaborado con tejido radicular de planta en floración (HTRE2) sobre la bacteria *Clavibacter michiganensis* a partir del recuento celular.

Por otra parte, se observó que 5 mg/mL de extracto hexánico elaborado con tejido aéreo de planta en producción (HTAE4) son suficientes para limitar el crecimiento de *Pantoea stewartii* al 50%, mientras que son requeridos 9.3 mg/mL para igualar el efecto de 30 µg/mL Ceftriaxona (Figura 17).

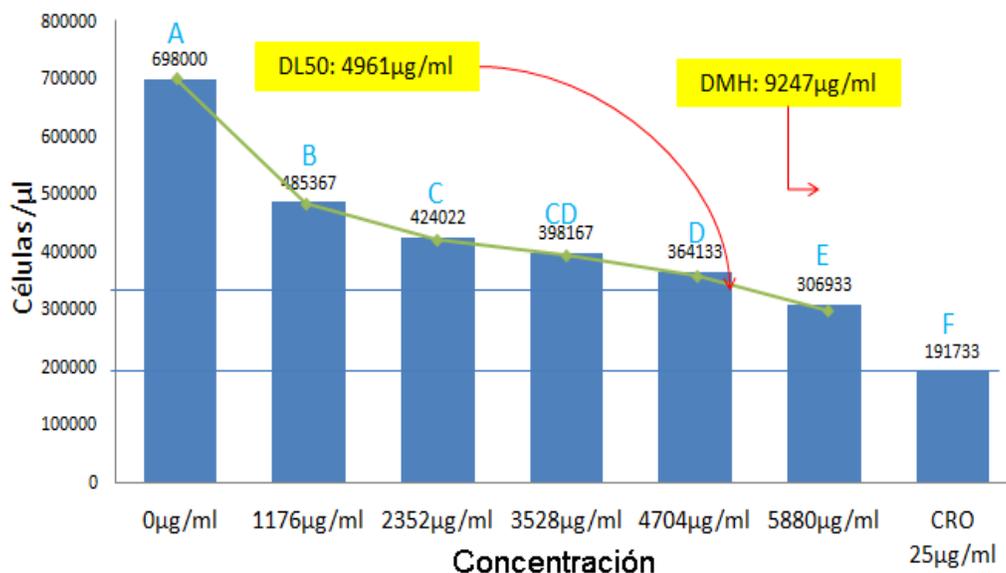


Figura 17.- Grafica empleada para determinar la concentración letal media del de extracto hexánico elaborado con tejido aéreo de planta en producción (HTAE4) sobre la bacteria *Pantoea stewartii* a partir del recuento celular.

Además se pudo determinar que 1.13 y 0.6 mg/mL de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (MTAE3) son suficientes para limitar el crecimiento de los hongos *Colletotrichum acutatum* (Figuras 18 y 19) y *Pleurotus ostreatus* (Figuras 20 y 21) al 50% respectivamente, mientras que para inhibir por completo su desarrollo se requieren 2.4 (para *C. acutatum*) y 1.8 mg/mL (para *P. ostreatus*) del ya mencionado. El efecto es similar al inducido por 2 mg/mL de azoxystrobin combinados con 6.25mg/m $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ para *C. acutatum* y 2 mg/mL + 6.25mg/mL de los mismos para *P. ostreatus*.

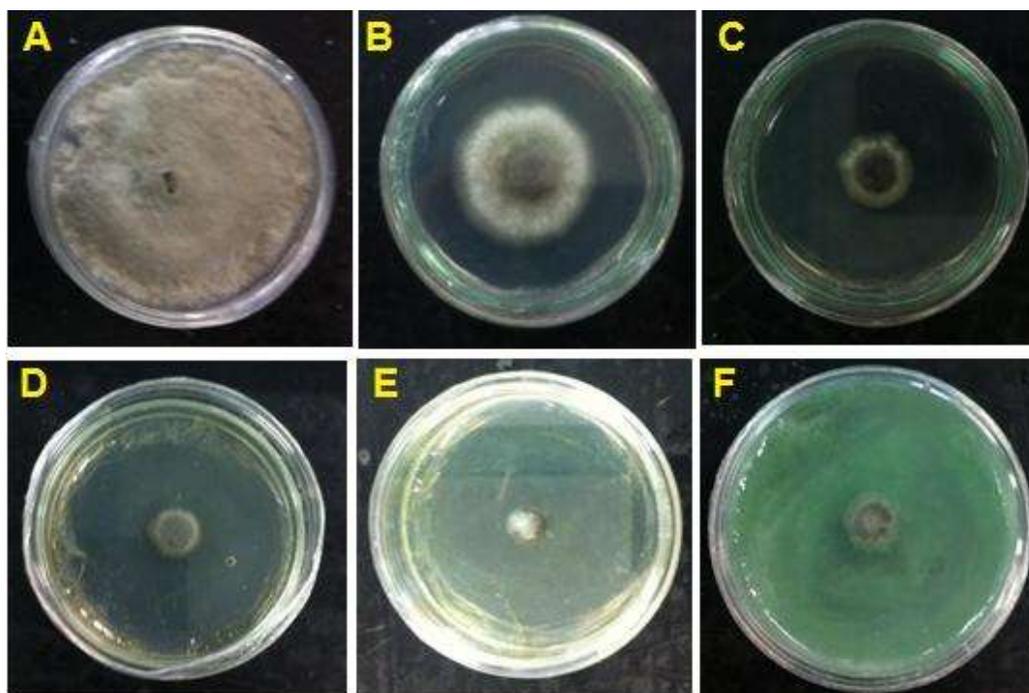


Figura 18.- Efecto de diferentes concentraciones de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (M TA E3) y control negativo sobre el hongo *Colletotrichum acutatum* empleando la técnica del medio envenenado. A: 0 µg/mL (Control positivo); B: 0.85 mg/mL; C: 1.7 mg/mL; D: 2.6 mg/mL; E: 3.4 mg/mL; F: Azoxystrobin + $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ 2 mg/ml + 6.25 mg/ml.

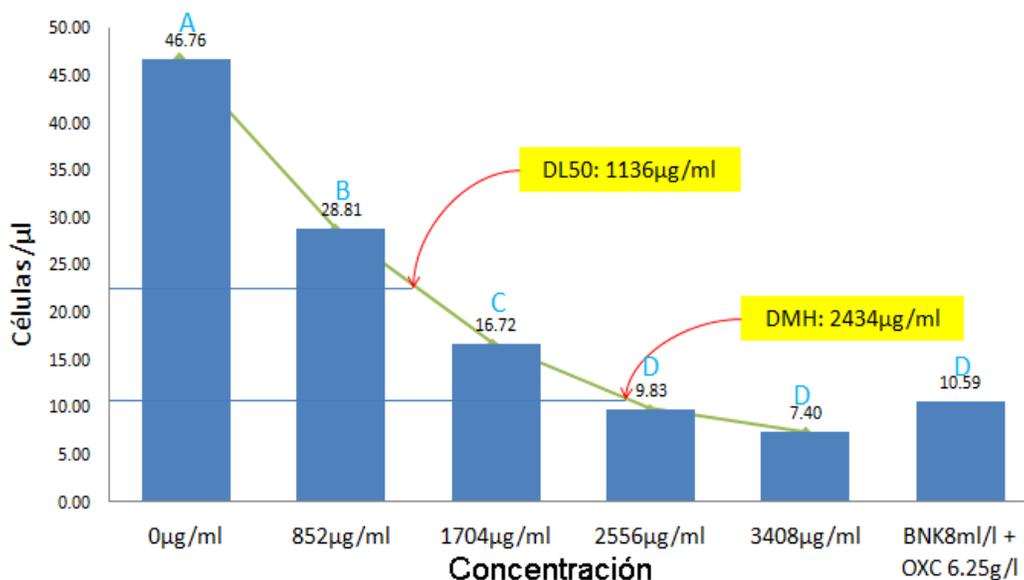


Figura 19.- Grafica empleada para determinar la concentración letal media del de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (MHTE3) sobre el hongo *Colletotrichum acutatum* a partir de medición de crecimiento radial sobre medio envenenado con diferentes concentraciones.

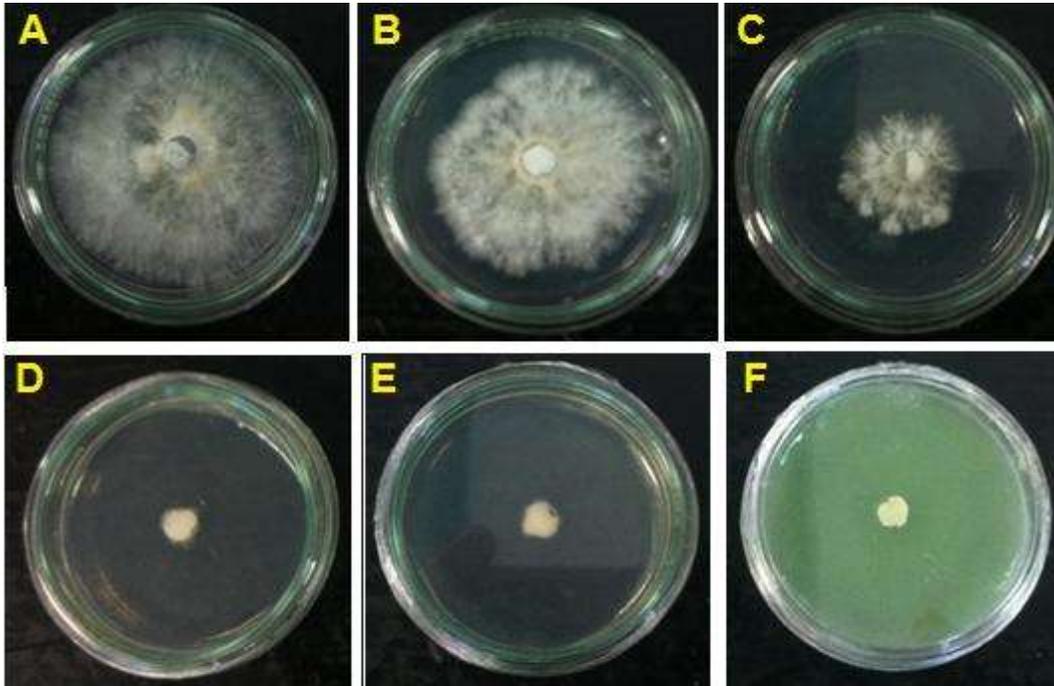


Figura 20.- Efecto de diferentes concentraciones de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (MHTE3) y control negativo sobre el hongo *Pleurotus ostreatus* empleando la técnica del medio envenenado. A: 0 µg/mL (Control positivo); B: 0.42 mg/mL; C: 0.63 mg/mL; D: 0.84 mg/mL; E: 1.68 mg/mL; F: Azoxystrobin + $\text{Cu}_2(\text{OH})_3\text{Cl}$ 2 mg/ml + 6.25 mg/ml.

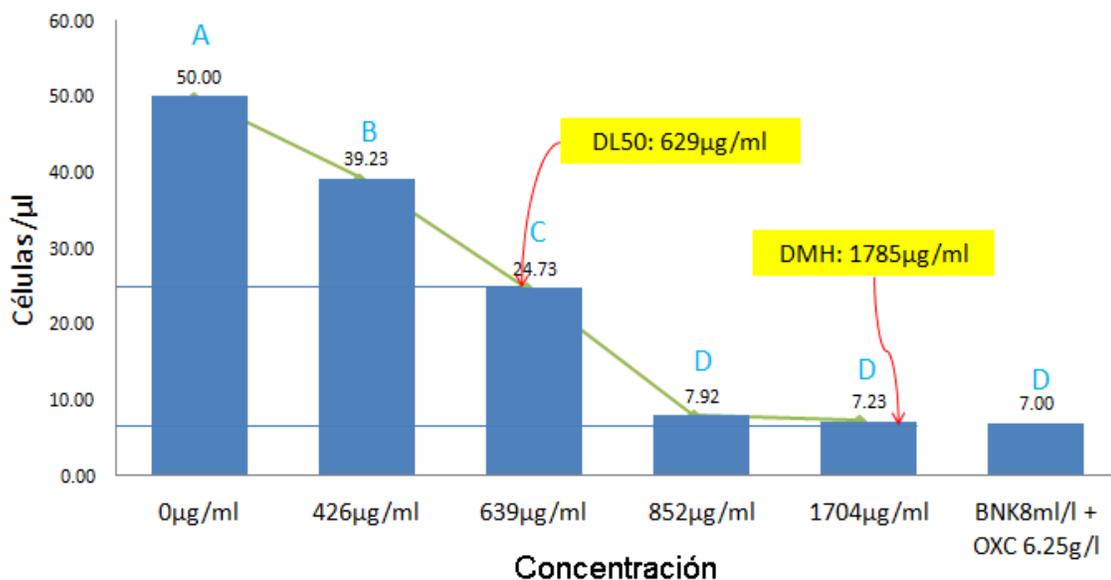


Figura 21.- Grafica empleada para determinar la concentración letal media del de extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de planta en fructificación (MHTE3) sobre el hongo *Pleurotus ostreatus* a partir de medición de crecimiento radial sobre medio envenenado con diferentes concentraciones.

9.6.3.-Análisis por cromatografía de capa fina

Al observar bajo luz UV las bandas formadas por los diferentes extractos, se pudo determinar que los extractos HTRE2 y HTAE4 poseen pocos compuestos con capacidad de absorber dicho tipo de luz, por ende se podría afirmar que tales extractos son ricos en metabolitos secundarios ausentes de anillos aromáticos (Stahl, 1969), y el análisis por cromatografía de gases acoplada a masas es más adecuado para estas muestras. Adicionalmente, debido a la homogeneidad presentada tanto en su recorrido por la sílica, como por lo observado a 365 nm se puede deducir que los compuestos presentan una estructura similar entre sí; por otro lado, al emplear los cromatogramas elaborados con los extractos HTRE2 y HTAE4 para realizar bioautografías y revelarse estas con MTT (2%), se pudo corroborar la actividad antibacteriana de los mismos, pues en la mayor parte del área, por donde fluyeron los extractos sobre la sílica no se presentó crecimiento bacteriano y por ello se pudiera afirmar que la bioactividad de tales extractos, es la suma de cada uno de los compuestos presentes en las mezclas y por lo tanto no se consideró conveniente el fraccionamiento de los mismos.

Con base en lo observado bajo la luz UV a 365 nm, además se pudo determinar que el extracto MTAE3 es rico en compuestos con anillos aromáticos (Stahl, 1969), debido a las bandas fluorescentes formadas por tal extracto, adicionalmente al ser un extracto de obtenido con metanol, y al ser los flavonoides compuestos polares, se procedió a comparar el extracto con estándares de este tipo, las bandas formadas durante el recorrido se asemejaron a las formadas por la quercetina ($R_f = 0.875$), ácido ferúlico ($R_f = 0.579$), rutina ($R_f = 0.716$) y ácido clorogénico ($R_f = 0.341$) (Figura 22), compuestos reportados por la literatura como antimicrobianos (Montenegro *et al.*, 2009; Cárcamo *et al.*, 2011; D'Andrea, 2015; Hernández-León, 2016).

Adicionalmente tras realizar la prueba de Folin-Ciocalteu (FCR) se encontró que la concentración de fenoles totales es de 3.99 ± 0.44 mg/g. Por lo anterior, se pudo afirmar que isómeros de dichos metabolitos secundarios están presentes en

el tejido aéreo del tinguaraque y fue necesario analizar el extracto por cromatografía de gasa acoplada a espectrometría de masas para conocer de manera más precisa la identidad de estos compuestos.

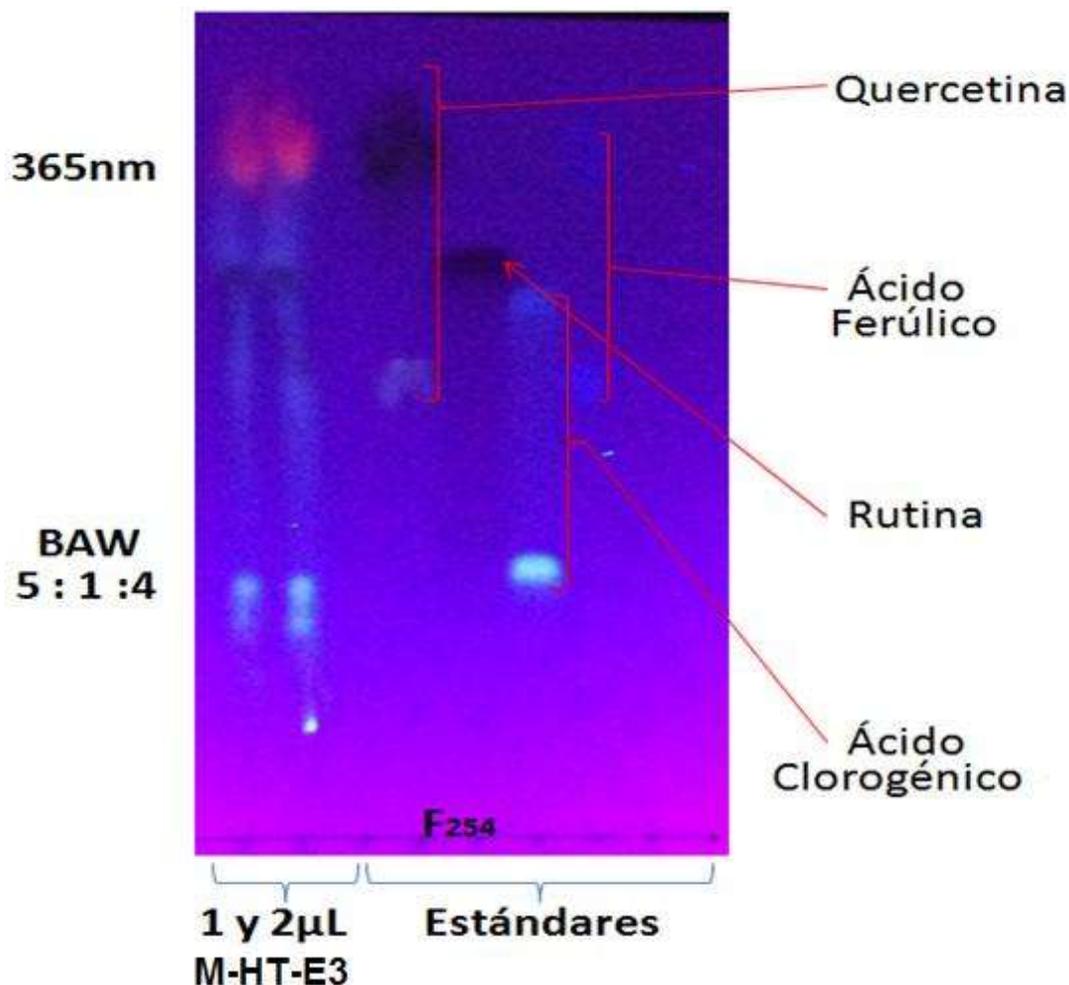


Figura 22.- Cromatograma de compuestos polares y estándares presentes en el extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de plantas de tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) en fructificación, el extracto fue concentrado hasta que le fue retirado el 90% del solvente.

9.6.4.-Análisis por cromatografía de gases-masas

El análisis por gases-masas (GC-MS) registró la presencia de artemisia ketone (1.9 mg/g) para el extracto HTRE2 (Tabla 5, Figura 23), compuesto reportado como constituyente del aceite esencial de *Artemisia annua* además de agente antimicrobiano y antioxidante (Juteau *et al.*, 2002), también se encontró

hentriacontano (106.76 mg/g), constituyente de ceras de origen natural (Paroul *et al.*, 2009) y Naftaleno, 2-metil (0.48 mg/g), insecticida y repelente constituyente de la naftalina (Stone y Stock, 2008); entre otros compuestos.

Tabla 5.- Compuestos no polares de interés y/o mayoritarios presentes en el tejido radicular del tinguaraque durante la etapa de floración

PK	RT	Área	Compuesto	mg/g de m. seca	Calidad	Aplicación
3	7.44	351445.00	Artemisia cetona	1.09	47	Antimicrobiano
5	17.08	155789.00	Naphthalene, 2-methyl-	0.48	93	Repelente e insecticida
31	38.11	2432075.00	2-Dodecen-1-yl(-)succinic anhydride	7.52	91	Goma natural
35	39.28	3619819.00	Silane, trichlorooctadecyl-	11.19	95	Sin datos
39	40.74	6509779.00	Ergost-25-ene-3,5,6-triol, (3.beta.,5.alpha.,6.beta.)-	20.12	37	Antitumoral
42	42.28	4558524.00	11,13-Dimethyl-12-tetradecen-1-ol acetate	14.09	62	Presente en feromonas
44	42.80	1806708.00	1,12-Bis(2-nitrophenoxy)dodecane	5.58	90	Sin datos
51	44.91	34544864.00	Hentriacontane	106.76	98	Cera natural
56	46.00	4006427.00	1-Docosene	12.38	94	Sin datos

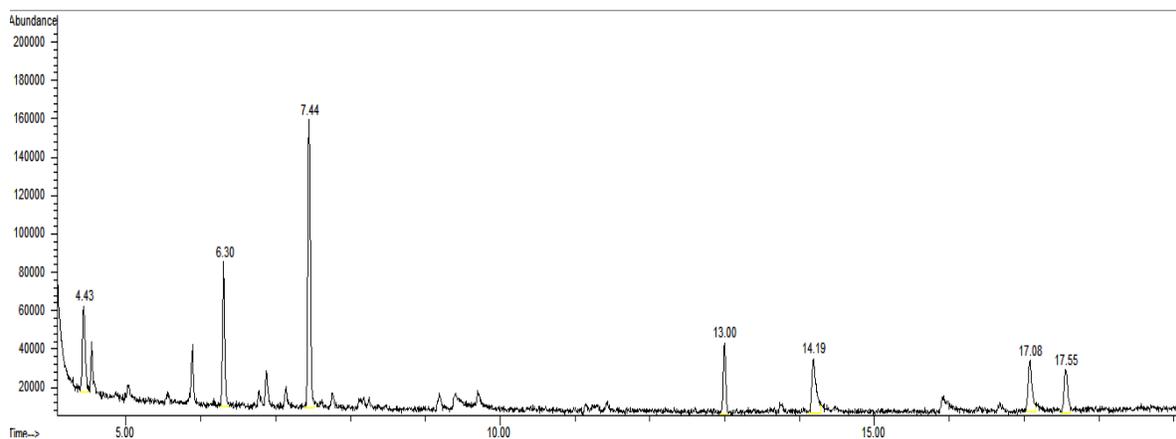


Figura 23.- Cromatograma obtenido tras el análisis del extracto HTRE2 por medio de cromatografía de gases acoplada a masas.

Por otra parte, en el extracto HTAE4 (Tabla 6, Figura 24) se encontraron compuestos como el 4-Careno (10.48 mg/g) terpeno reportado como antimicrobiano y presente en el aceite esencial de plantas silvestres del género *Juniperus* (Sela *et al.*, 2015), β -pineno (1.17 mg/g) antimicrobiano y esencia de la

trementina de pino (Reyes-Jurado *et al.*, 2012), Benzyl Alcohol (3.62) compuesto antimicrobiano empleado como conservador (Karabit *et al.*, 1986), metil-éster de ácido salicílico (1.46 mg/g) compuesto presente en el aceite esencial de *Phyllostachys heterocycla* cv. *Pubescens* y antimicrobiano (Yong-Chun *et al.*, 2011) y eugenol (1.99 mg/g) esencia de *Syzygium aromaticum* así como antimicrobiano de amplio espectro (Rodríguez-Sauceda, 2011).

Tabla 6.- Compuestos no polares de interés y/o mayoritarios presentes en el tejido aéreo del tinguaraque durante la etapa de producción

PK	RT	Área	Compuesto	mg/g de m. seca	Calidad	Aplicación
2	4.9299	713448	2-Hexen-1-ol, (E)-	2.73	91	Sin datos
3	8.3761	2736283	(+)-4-Carene	10.48	97	Antimicrobiano
4	9.2001	304884	b-pinene	1.16	91	Antimicrobiano
5	9.3918	848289	Benzyl Alcohol	3.24	93	Antimicrobiano
6	14.1699	381831	Salicylic acid, methyl ester	1.46	97	Antimicrobiano
7	17.0667	319512	Naphthalene, 1-methyl-	1.22	93	Repelente e insecticida
8	18.8546	518611	Eugenol	1.98	98	Antimicrobiano
85	43.9678	544522	1,2-Benzisothiazole, 3-(hexahydro-1H-azepin-1-yl)-, 1,1-dioxide	2.08	91	Amina
101	49.435	414801	Hexacosane	1.58	96	Sin datos

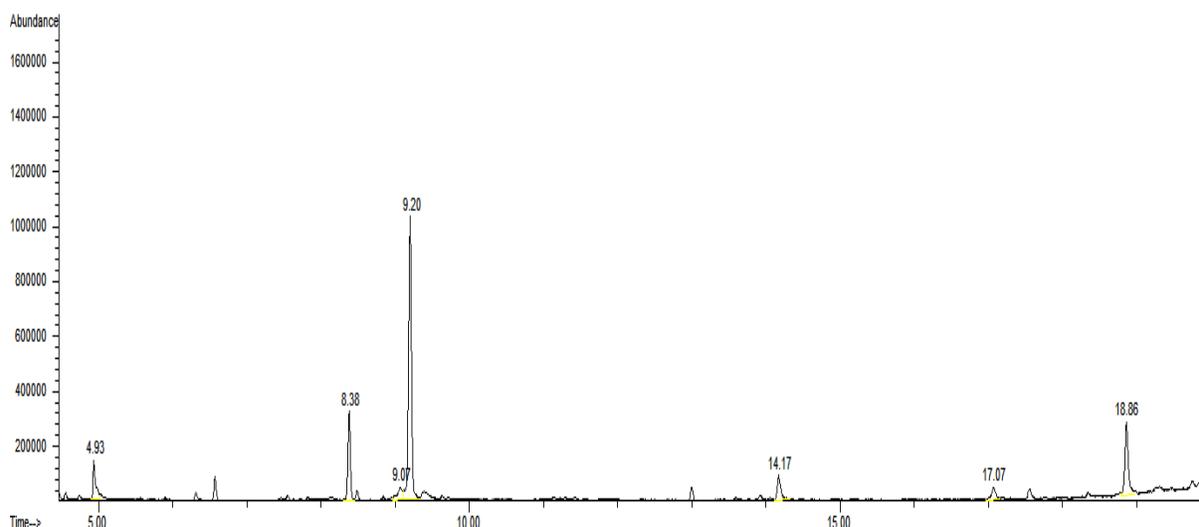


Figura 24.- Cromatograma obtenido tras el análisis de el extracto HTAE4 por medio de cromatografía de gases acoplada a masas.

9.6.5.-Ensayos preliminares *in vitro*

De forma preliminar, se encontró que en cultivo *in vitro* (Figura 25) el extracto metanólico elaborado con tejido aéreo de plantas en fructificación (MTAE3) Inhibe el desarrollo de *Rhizopus* sp. sin afectar el desarrollo de plantas de zarzamora (*Rubus* sp.).



Figura 25.- Plantas de zarzamora (*Rubus* sp.) inoculadas con *Rhizopus* sp. Cultivadas *in vitro*. A la izquierda: planta creciendo sobre medio MS adicionado con extracto MTAE3 (0.85mg/MI) no se observan signos del patógeno; a la derecha planta creciendo sobre medio MS sin tratar, se observa micelio creciendo sobre el medio y la planta.

9.7.-CONCLUSIONES

Tras la realización de este trabajo se concluyó que

El tinguarake produce metabolitos secundarios capaces de contrarrestar el desarrollo de hongos y bacterias

Las etapas ideales para la obtención de metabolitos con capacidad antimicrobiana son las de producción y fructificación, siendo además más apto el tejido aéreo para tal fin.

El tinguarake produce metabolitos secundarios capaces de inhibir a patógenos que atacan variedades comerciales de jitomate.

9.8.-REFERENCIAS

Aguilar-González, A. E. 2007. PREPARACIÓN DE DOS FORMAS FARMACÉUTICAS CON PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS A PARTIR DE EXTRACTOS DE ROMERO (*Rosmarinus officinalis*), Tila (*Ternstroemia pringlei*) y Gordolobo (*Verbascum thapsus*). Departamento de Ciencias Químico-Biológicas, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Universidad de las Américas Puebla. Trabajo presentado en Diciembre de 2007.

Aguilar-Guadarrama, A.B., Ríos, M.Y. 2007. TERPENOS Y FLAVONOIDES GLICOSÍDICOS DE *Tetrapteryx heterophylla* (GRISEB.) W.R. ANDERSON (MALPIGHIACEAE). Revista Cubana Plant Med v.12 n.3

Álvarez-Hernández, J.C. 2013. COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO E INCIDENCIA DE ENFERMEDADES EN PLANTAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) INJERTADAS. Acta agronómica. 61 (2), p 117-125

Álvarez-Hernández, J.C., Cortez-Madrigal, H., García-Ruiz, I. 2009. EXPLORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE POBLACIONES SILVESTRES DE JITOMATE EN TRES REGIONES DE MICHOACÁN, MÉXICO. CIIDIR-IPN, Polibotánica No.28.

Anaya-Lang, A.L. 2003. ECOLOGÍA QUÍMICA. Primera edición. Plaza y Valdez Editores. pp. 38-42.

Arroyo, J.A., Prashad, G.M., Vásquez, Y. B., Li, E.P. 3; Tomás, G.C. 2005. ACTIVIDAD CITOTÓXICA IN VITRO DE LA MEZCLA DE ANNONA MURICATA Y KRAMERIA LAPPACEA SOBRE CÉLULAS CANCEROSAS DE GLÁNDULA MAMARIA, PULMÓN Y SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. Rev. Perú. Med. Exp. Salud pública v.22 n.4.

Arias-Zabala, M., Angarita Velásquez, M.J., Aguirre-Cardona, A.M., Restrepo-Flórez, J.M., Montoya-Vallejo, C. 2009. ESTRATEGIAS PARA INCREMENTAR LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN CULTIVOS DE CÉLULAS VEGETALES. Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín 62(1)

Ashraf, A., Adi-Sarfraz, R., Mahmood, A., Ud-Din, M. 2015. CHEMICAL COMPOSITION AND IN VITRO ANTIOXIDANT AND ANTITUMOR ACTIVITIES

OF *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. LEAVES. Industrial Crops and Products 74 (2015) 241–248.

Ávalos-García, A., Pérez-Urria, E. 2009. METABOLISMO SECUNDARIO DE PLANTAS. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145.

Avello, M., Valdivia, R., Sanzana, R., Mondaca, M.A., Mennickent, S., Aeschlimann, V., Bittner, M., Becerra, J. 2009. EXTRACTOS ANTIOXIDANTES Y ANTIMICROBIANOS DE *Aristotelia chilensis* Y *Ugni molinae* Y SUS APLICACIONES COMO PRESERVANTES EN PRODUCTOS COSMÉTICO. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 8 (6), 479 – 486.

Balcinde, Y., Hung, B.R., Marrero, A., Tirado, T., Pérez, C., Falero, A., Martí, E., Águila, B., Fonseca, M., Lightbourne, E. 2005. COMPARACIÓN DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE UNA FRACCIÓN RICA EN FITOSTEROLES A PARTIR DE LA CACHAZA DE CAÑA DE AZÚCAR. Revista CENIC Ciencias Químicas, Vol. 36, No. 1

Bastidas, O. 2016. CATALOGO ELECTRÓNICO DE CELORIMICS. NOTA TECNICA DE LA CAMARA DE NEUBAUER IMPROVED. Consulta electrónica 14 de septiembre de 2016. <<http://www.celeromics.com/es/resources/docs/Articles/Formula-Camara-Neubauer-Concentracion.pdf>>

Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., Turck, M. 1966. ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY TESTING BY A STANDARDIZED SINGLE DISK METHOD. Am J Clin Pathol; 45: 493- 496.

Baumann, T.W., Meier, C.M. 1993. CHEMICAL DEFENSE BY WITHANOLIDS DURING FRUIT DEVELOPMENT IN *Physalis peruviana*. Phytochemistry 33(2):317-321.

Bernal, M., Guzmán, M. 1984. EL ANTIBIOGRAMA DE DISCOS. NORMALIZACIÓN DE LA TECNICA DE KIRBY-BAUER. BIOMEDICA. Vol. 4, No. 3 y 4.

Borboa-Flores, J., Rueda-Puente, E.O., Acedo-Félix, E., Ponce, J.F., Cruz, M., Juárez, O.G. García-Ortega, A.M. 2009. DETECCIÓN DE *Clavibacter*

michiganensis subespecie *michiganensis* EN EL TOMATE DEL ESTADO DE SONORA, MÉXICO. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 32 (4): 319 – 326.

Bravo, A., Acuña, D. 2015. EVALUACIÓN FITOQUÍMICA Y DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES EN HOJAS DE *Ficus benjamina* L. Revista Xilema de la Universidad Nacional Agraria La Molina. Vol. 28, 2015.

García-Ortega, A.M. 2009. DETECCIÓN DE *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis* EN EL TOMATE DEL ESTADO DE SONORA, MÉXICO. Rev. Fitotec. Mex. Vol. 32 (4): 319 – 326.

Cañedo, V., Ames, T. 2004. MANUAL DE LABORATORIO PARA EL MANEJO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS. Centro Internacional de la Papa (CIP). 62 p.

Cárcamo, O. V., Oliva, M. P., González, C. P. Efectividad ANTIMICROBIANA DEL COLUTORIO DE *Matricaria recutita*, EN FUNCIONARIOS DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DEL DESARROLLO, CHILE. Int. J. Odontostomat., 5(2):179-184, 2011.

Cedano M., Martínez M., Soto-Velazco C. y Guzmán-Dávalos L. 1993. *Pleurotus ostreatoroseus* (BASIDIOMYCOTINA, AGARICALES) IN MÉXICO AND ITS GROWTH IN AGROINDUSTRIAL WASTES. Crypt. Bot. 3,297-302.

Chang-Huerta, L., Rosabal-Carbonel, Y., Morales-León, J.A. 2013. COMPOSICIÓN FITOQUÍMICA DE LOS TALLOS Y HOJAS DE LA ESPECIE *Solanum nigrum* L. QUE CRECE EN CUBA. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2013; 18(1) 10-16.

Colorado, R.J. Galeano J.E., Martínez, M.A. 2007. DESARROLLO DE LA BIOAUTOGRAFÍA DIRECTA COMO MÉTODO DE REFERENCIA PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LA GENTAMICINA CONTRA *Escherichia coli*. VITAE, Revista de la facultad de química farmacéutica. Vol. 14 núm 1, año 2007. págs. 67-71.

Córdova-Guerrero, I., Aragón-Martínez, O.H., Díaz-Rubio, L., Franco-Cabrera, S., Serafín-Higuera, N.A., Pozos-Guillén, A. Soto-Castro, T.A., Martínez-Morales, F., Isiordia-Espinoza, M. 2016. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA DE UN EXTRACTO DE *Salvia apiana* FRENTE A

MICROORGANISMOS DE IMPORTANCIA CLÍNICA. Rev. Argent Microbiol. 2016;48(3):217-221.

Cortez-Madrigal, H. 2010. VARIEDAD SILVESTRE DE JITOMATE, EMPLEADO PARA PROTEGER CULTIVOS COMERCIALES: DESARROLLO DE INJERTOS Y MICO-INSECTICIDAS PARA EL MANEJO INTEGRADO DE PLAGAS Y ENFERMEDADES DEL JITOMATE. CIIDIR, Unidad Michoacán. Instituto Politécnico Nacional Publicado 03-DIC-2010.

Corzo-Barragán, D.C. 2012. EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT OF *Cestrum buxifolium* Kunth. Rev. mex. cienc. farm vol.43 no.3 México jul./sep.

D'Andrea, G. 2015. QUERCETIN: A FLAVONOL WITH MULTIFACETED THERAPEUTIC APPLICATIONS? Fitoterapia 103 (2015) 256-271

Expósito de Goikoetxea, C.L. 2003. CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA Y ESPECTROFOTOMETRÍA EN LUZ ULTRAVIOLETA: VALIDEZ ACTUAL Y APLICABILIDAD PARA DETECTAR COCAÍNA O BENZOILECGONINA EN ORINAS DE PACIENTES FARMACODEPENDIENTES EN PROCESO DE REHABILITACIÓN. RFM v.26 no 1.

Forrellat-Barrios, M., Gómis-Hernández, I., Gautier-du-Défaix-Gómez, H. 1999. VITAMINA B12: METABOLISMO Y ASPECTOS CLÍNICOS DE SU DEFICIENCIA. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 15(3):159-74.

García, J. 2001. EFECTO DEL DIMETILSULFÓXIDO EN LA RESPUESTA QUIMIOLUMINISCENTE Y EL CONSUMO DE OXÍGENO DE NEUTRÓFILOS HUMANOS ACTIVADOS. Rev. costarric. cienc. méd vol.22 n.1-2.

Gómez-Barrios, J.B., Ciangherotti, C., Matos, M.G., Pastorello, M., Buitrago, J., Israel, A., Salazar-Bookaman, M. 2008. EFECTO ANALGÉSICO Y ANTIINFLAMATORIO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *cestrum buxifolium* Kunth. Revista Facultad de Farmacia. Vol. 71. N° 1

Gutiérrez-Avella, D.M., Ortiz-García, C.A., Mendoza-Cisneros, A. 2008. MEDICIÓN DE FENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN MALEZAS USADAS PARA

ALIMENTACIÓN ANIMAL. Simposio de Metrología 2008 Santiago de Querétaro, México, 22 al 24 de Octubre. SM2008-M220-1108-1.

Gutiérrez-Bouzán, M.C., Droguet, M. 2002. LA CROMATOGRFÍA DE GASES Y LA ESPECTOMETRÍA DE MASAS: IDENTIFICACIÓN DE COMPUESTOS CAUSANTES DE MAL OLOR. Boletín Intexter del Instituto de Investigación Textil y de Cooperación Industrial 2002, núm. 122.

Hernández-León, A., Fernández-Guasti, A., González-Trujano, M.E. 2016. RUTIN ANTINOCICEPTION INVOLVES OPIOIDERGIC MECHANISM AND DESCENDING MODULATION OF VENTROLATERAL PERIAQUEDUCTAL GREY MATTER IN RATS. Eur J Pain. 2016 Feb;20(2):274-83.

Hernández-Pérez, J.M. 2005. CROMATOGRFÍA LIQUIDA DE ALTA EFICACIA. Revista Educación continuada en el laboratorio clínico. Ed Cont Lab Clin 2005;8:49-62.

Jilani-Khan, H., Kaleem-Ahmad, M., Rahman-Khan, A., Rastogi, N., Ali-Mahdi, A., Akhtar-Ansari, J., Fatima, N., Satyanarayan, G.N.V. 2016. IDENTIFICATION OF ANTICANCER AND ANTIOXIDANT PHYTOCONSTITUENTS FROM CHLOROFORM FRACTION OF *Solanum nigrum* L. Indian Journal of Experimental Biology. Vol. 54, pp. 774-782.

Juteau, F., Masotti, V., Bessière, J.M., Dherbomez, M., Viano, J. 2002. ANTIBACTERIAL AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF *Artemisia annua* ESSENTIAL OIL. Fitoterapia. 2002 Oct;73(6):532-5.

Karabit, M.S., Juneskans, O.T., Lundgren, P.1986. STUDIES ON THE EVALUATION OF PRESERVATIVE EFFICACY--II. THE DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL CHARACTERISTICS OF BENZYLALCOHOL. J Clin Hosp Pharm. Aug; 11(4):281-9.

Lorenzo, M., Frías, A., Villa, P., Del Valle, M.2006. DETECCIÓN POR CROMATOGRFIA DE CAPA FINA (CCF) DE METABÓLITOS ANTIFÚNGICOS PRODUCIDOS DE *Pseudomonas aeruginosa* CEPA PSS. ICIDCA No. 1, 2006. ISSN: 0138-6204. PP. 26-30.

López-Carreras, N., Miguel, M., Aleixandre, A. 2012. PROPIEDADES BENEFICIOSAS DE LOS TERPENOS IRIDOIDEOS SOBRE LA SALUD. Nutr. clín. diet. hosp. 2012; 32(3):81-91.

Luna-Cazares. L.M. & González-Esquinca, A.R. 2008. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE *Annona diversifolia* Safford y *Annona purpurea* Mociño & Sessé ex Dunal. Polibotánica no.25 México jun. 2008. ISSN 1405-2768

McNair, H.M. & Miller, J.M. 1998. BASIC GAS CHROMATOGRAPHY. Canada: John Wiley & Sons, Inc. ISBN 0-471-17261-8.

Medina-Medrano, J.R., Aviña-Martínez, G.N., García-Pereyra, J. 2007. REVISIÓN DE FLAVONOIDES IDENTIFICADOS EN EL GÉNERO *Physalis* (Solanaceae), SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE E IMPORTANCIA COMO MARCADORES QUÍMICOS. Naturaleza y desarrollo vol. 12 Núm. 1 Enero - Junio 2014 PP 16-27. ISSN 2007-204X

Monroy-Pulido, D. & Valencia-Ciprés, M. 2016. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE RAÍZ Y FLOR DE *Equinacea purpurea*. Revista del SILADIN: CONSCIENCIA. UNAM. Edición semestral Número 4 Mayo 2016. pp 16-24.

Moreno-Limón, S., González-Solís, L.N., Salcedo-Martínez, S.M., Cárdenas-Ávila, M.L., Perales-Ramírez, A. 2011. EFECTO ANTIFÚNGICO DE EXTRACTOS DE GOBERNADORA (*Larrea tridentata* L.) SOBRE LA INHIBICIÓN IN VITRO DE *Aspergillus flavus* Y *Penicillium* sp. Polibotánica no.32 México ago. 2011. ISSN 1405-2768

Montenegro, G., Salas, F., Peña, R.C., Pizarro, R. 2009. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA DE MIELES MONOFLORES DE Quillaja saponaria, ESPECIE ENDÉMICA DE CHILE. Revista internacional de botánica experimental. FYTON ISSN 0031 9457, (2009) 78: 141-146

Nadinic, E.L., Penna, C., Saavedra, C.L., Coussio, J.D., Gutkind, G., Debenedetti, S.I. AISLAMIENTO DE LOS COMPUESTOS CON ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE EXTRACTOS DE *Gentianella achalensis* (GILG) HO & LIU

(GENTIANACEAE). Acta Farm. Bonaerense 21 (2): 123-30 (2002). ISSN 0326-2383.

Narayanasamy, P. 2001. PLANT PATHOGEN DETECTION AND DISEASE DIAGNOSIS, SECOND EDITION. CRC. Press, 2001. ISBN: 0824705912, 9780824705916. Pag. 49. 544 pp.

NIÑO, O.J., OSPINA, T.J., CORREA, N.Y.M, MOSQUERA, M.O.M. 2007. DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS VEGETALES SOBRE EL HONGO *Mycosphaerella fijiensis* Morelet. Scientia et Technica Año XIII, No 33, Mayo de 2007. UTP. ISSN 0122-1701

Núñez, M.B., Sánchez E.G., Bela A., Aguado M.I. 2008. DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN *Lippia alba* (MILL.) Y *Lippia turbinata* (GRISEB.)

Olguín-Pérez, L.P., Rodríguez-Magadán, H.M. 2004. CROMATOGRAFÍA DE GASES. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Biotecnología. Consulta electrónica 2 de enero de 2017: <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/cromatografia_de_gases.pdf

Orqueda, M.E., Rivas, M., Zampin, I.C., Alberto, M.R., Torres, S., Cuello, S., Sayago, J., Thomas-Valdés, S., Jiménez-Aspee, F., Schmeda-Hirschmann, G., Isla, M.I. 2017. CHEMICAL AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF SEED, PULP AND SKIN POWDER FROM CHILTO (*Solanum betaceum*), AN ARGENTINE NATIVE FRUIT. PHENOLIC FRACTIONS AFFECT KEY ENZYMES INVOLVED IN METABOLIC SYNDROME AND OXIDATIVE STRESS. Food Chemistry 216 (2017) 70–79.

Oszmiański, J., Kolniak-Ostek, J., Wojdyło, A. 2014. CHARACTERIZATION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF *Solanum scabrum* AND *Solanum burbankii* BERRIES. [dx.doi.org/10.1021/jf4045233](https://doi.org/10.1021/jf4045233) | J. Agric. Food Chem. 2014, 62, 1512–1519.

Ozores-Belmonte, 2016. CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS HPLC. Laboratorio de Técnicas Instrumentales, Edificio I+D Campus Miguel Delibes Paseo de Belén nº11, 47011. Valladolid. martaisabel.ozores@uva.es. Consulta

electrónica enero de 2017 < <http://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/cromatografa-de-liquidos-hplc>

Pataky, J. K., Michener, P. M., Freeman, N. D., Weinzierl, R. A., Teyker, R. 2000. CONTROL OF STEWART'S WILT IN SWEET CORN WITH SEED TREATMENT INSECTICIDES. *Plant Dis.* 84:1104-1108.

Paroul, N., Cansian, R.L., Rossato, M., Pauletti, G.F., Serafini, L.A., Rota, L., Moyna, P., Heinzen, H. 2009. USO DE FRAÇÕES DE HIDROCARBONETOS DE PALMEIRAS COMO MARCADORES QUIMIOTAXONÔMICOS EM *Butia* e *Syagrus*. *Braz. J. Biol.* vol.69 no.2.

Perales-Segovia, C., Bocanegra-García, J., Carrillo-Rodríguez, J.C., Chávez-Servía, J.L Silos-Espino, H., Aguilar-Ojeda, L., Tafoya-Rangel, F. EFECTO DE EXTRACTOS VEGETALES EN MOSQUITA BLANCA BAJO DOS ESQUEMAS DE APLICACIÓN. Artículo de investigación ISSN: 2007-9559 *Revista Mexicana de Agro ecosistemas* Vol. 2(1): 1-7.

Pérez-Alonso, N., Jiménez, E. 2011. PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE PLANTAS MEDIANTE EL CULTIVO IN VITRO. *Biotecnología Vegetal* Vol. 11, No. 4: 195 – 211.

Pérez-Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz- Rubio, M.A., Serrano, J., Goñi, I., Saura-Calixto, F. 2008. UPDATED METHODOLOGY TO DETERMINE ANTIOXIDANT CAPACITY IN PLANT FOODS, OILS AND BEVERAGES: EXTRACTION, MEASUREMENT AND EXPRESSION OF RESULTS. *Food Research International*. Volume 41, Issue 3, Pages 274–285.

Pérez-Pérez, E., Ettiene, G., Marín, M., Casassa-Padron, A., Silva, N., Raga, J., González, C., Sandoval, L., Medina, D. 2014. DETERMINACIÓN DE FENOLES Y FLAVONOIDES TOTALES EN HOJAS DE GUAYABO (*Psidium guajava* L.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*.31: 60-77.

Plascencia-Villa, G. 2003. ESPECTROMETRÍA DE MASAS. CURSO DE MÉTODOS. UNAM junio de 2003, Cuernavaca, Morelos. Consulta electrónica 2 de enero de 2017: < http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/Spec_Masas.pdf>

Popova, M.P., Graikou, K., Chinou, J., Vankova, V.S. 2010. GC-MS PROFILING OF DITERPENE COMPOUNDS IN MEDITERRANEAN PROPOLIS FROM GREECE. *J. Agric. Food Chem.* 2010, 58, 3167–3167.

Prado-Montes de Oca, E. 2009. ELICITORES DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS: ESTRATEGIA POTENCIAL CONTRA INFECCIONES. *Gac Méd Méx* Vol. 145 No. 3, 2009.

Repetto-Jiménez, M., Repetto Kuhn, G. 2009. TOXICOLOGÍA FUNDAMENTAL. Cuarta edición. Ediciones Díaz de Santos.

Reyes-Jurado, F., Palou, E., López-Malo, A. 2012. VAPORES DE ACEITES ESENCIALES: ALTERNATIVA DE ANTIMICROBIANOS NATURALES. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 6: 29 – 39.

Rincón-Pérez, A. 2013. BIOSÍNTESIS DE LOS GLUCOSINOLATOS E IMPORTANCIA NUTRICIONAL HUMANA Y FUNCIONES DE PROTECCIÓN A LAS PLANTAS. *Revista Alimentos Hoy*. Vol 22, No 31. pp. 64- 80.

Ríos, M.Y., Aguilar-Guadarrama, A.B. 2006. ALCALOIDES INDÓLICOS, TERPENOS, ESTEROLES Y FLAVONOIDES DE LAS HOJAS DE *Hamelia patens* Jacquin. *Rev. Cubana Plant Med.* v.11 n.1.

Rivero-González, D., Cruz-Triana, A., Martínez-Coca, B., Ramírez-Arrebato, M.A., Rodríguez-Pedroso, A.T. 2009. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE LA QUITOSANA SIGMA FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS CAUSANTES DEL MANCHADO DEL GRANO EN EL CULTIVO DE ARROZ (*Oryza sativa* L.) *Fitosanidad* v.13 n.2.

Rodríguez-Pedroso, A.T., Ramírez-Arrebato, M.A., Bautista-Baños, S., Cruz-Triana, Rivero, D. 2012. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS DE *Acacia farnesiana* SOBRE EL CRECIMIENTO *IN VITRO* DE *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Revista Científica UDO Agrícola* 12 (1): 91-96.

Rodríguez-Sauceda, E.N. 2011. USO DE AGENTES ANTIMICROBIANOS NATURALES EN LA CONSERVACIÓN DE FRUTAS Y HORTALIZAS. *Ra Ximhai* Vol. 7, Número 1.

Rojas-Idrogo, C., Jorge-Kato, M., Delgado-Paredes, G.E., Segal-Floh, E.I., Handro, W. 2014. PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN CULTIVO DE RAÍCES *IN VITRO* Y SUSPENSIONES CELULARES DE *Ipomoea carnea* spp. Anales de Biología 36: 107-120, 2014.

Sánchez-chopa, C., Benzi, V., Alzogaray, R., Ferrero, A.A. 2009. ACTIVIDAD REPELENTE DE LOS EXTRACTOS HEXÁNICOS Y ETANÓLICOS DE FRUTOS DE *Solanum eleagnifolium* (Solanaceae) SOBRE ADULTOS DE *Blattella germanica* (Insecta, Dictyoptera, Blattellidae). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, 8 (3), 172 – 175.

Sela, F., Karapandzova, M., Stefkov, G., Cvetkovikj, I., Kulevanova, S. 2015. CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF *Juniperus excelsa* Bieb. (CUPRESSACEAE) GROWN IN R. MACEDONIA. Pharmacognosy Res. 2015; 7(1): 74–80.

Sepúlveda-Jiménez, G. Porta-Ducoing, H., Rocha-Sosa, M. 2003. LA PARTICIPACIÓN DE LOS METABOLITOS SECUNDARIOS EN LA DEFENSA DE LAS PLANTAS. Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 21, núm. 3, pp. 355-363.

Stahl, E. 1969. THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY. A LABORATORY HANDBOOK. Editorial Springer. 411 pp.

Stashenko, E.E., Martínez, J.R. 2010. ALGUNOS ASPECTOS PRÁCTICOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE ANALITOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS. Scientia Chromatographica Vol.2, N°1, 29-47,

Sharapin, N. 2000. FUNDAMENTOS DE TECNOLOGÍA DE PRODUCTOS FITOTERAPÉUTICOS. Editorial Convenio Andrés Bello. Pág. 159-190.I

Stone, D. y Stock T. 2008. El control de polillas:Las bolas de naftalina y otros métodos. Oregon State University PNW 606-S-E

Urzua, A.R. 2011. TERPENOS DE LA RAIZ DE *Aristolochia chilensis*, INHIBIDORES DE GERMINACION. Boletín de la sociedad chilena de química. Artículos nacionales: 2011-08-10.

Vargas-Simón, G., Soto-Hernández, R.M., Rodríguez-González, M.T., Escalante-Estrada, J.A. 2000. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR DEL FRUTO DE ICACO (*Chrysobalanus icaco* L.): FLAVONALES Y FLAVONAS. Revista Chapingo Serie Horticultura 6(2): 195-202.

Víchová, J., Staňková, B., Pokorný, R. 2012. FIRST REPORT OF *Colletotrichum acutatum* ON TOMATO AND APPLE FRUITS IN THE CZECH REPUBLIC. The American Phytopathological Society. Plant Disease, vol. 96, no 5, pp. 769.

Villarreal, M.L., Cardoso-Taketa, A., I Ortíz, A., Sharma, A. 2014. BIOTECNOLOGÍA PARA PRODUCIR MEDICINAS DE PLANTAS MEXICANAS. UNAM. RDU. vol.15, No.8.

Vjera, V. 2000. SUPLEMENTO: TERAPIA ANTIMICROBIANA. Rev. Chil. Infec: 17:33-34.

Yadav, R., Rathi, M., Pednekar A., Rewachandani, Y. 2016. A DETAILED REVIEW ON SOLANACEAE FAMILY. European journal of pharmaceutical and medical research. EJPMR. 2016,3(1), 369-378.

Yong-Chun, J., Ke, Y., Jing, Z. 2011. CHEMICAL COMPOSITION, AND ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OIL OF *Phyllostachys heterocycla* cv. *Pubescens* VARIETIES FROM CHINA. Molecules: 16, 4318-4327;

Zavala, J.A. 2010. RESPUESTAS INMUNOLÓGICAS DE LAS PLANTAS FRENTE AL ATAQUE DE INSECTOS. Revista Ciencia Hoy. Volumen 20 número 117.

Zavala-Núñez, A. 2009. ESTUDIOS ETNOBOTÁNICOS DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO. ENTREVISTA. Revista digital universitaria. Vol. 10, No. 9.

X.-DISCUSIÓN GENERAL

La comparativa entre los análisis fisicoquímicos, realizados a frutos de tinguaraque y de jitomate cherry, mostraron que la especie silvestre es estadísticamente igual en los parámetros de contenido energético, porcentaje de proteína y acidez titulable; mientras que en los parámetros de sólidos solubles, materia seca, cenizas y color, prevalecieron los valores del tinguaraque, tales resultados colocan al fruto del tinguaraque como una frutilla atractiva para incluirla en programas de fitomejoramiento

Tras analizarse los resultado obtenidos en ambos artículos es posible fue posible determinar que en conjunto el tinguaraque es una planta que puede proveer al agricultor múltiples beneficios, pues por una parte posee una etapa de producción prolongada y por otro lado se demostró que el tejido aéreo es materia prima para la obtención de biocontroladores amigables con el medio ambiente.

Por lo anterior se puede afirmar que el tinguaraque es una plantas multipropósito, y se puede mantener la afirmación que se dijo al concluir ambos artículos “el tinguaraque es apto para ser propuesto en programas de conservación y fitomejoramiento”.

XI.-CONCLUSIONES

11.1.-CONCLUSIÓN GENERAL

La evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos con diferente polaridad y obtenidos de tejido radicular y aéreo de tinguaraques (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) permitió identificar los extractos más efectivo contra 4 patógenos, así como la caracterización de metabolitos secundarios presentes en el tinguaraque.

11.1.1-Conclusiones específicas

La metodología empleada permitió propagar el tinguaraque, establecerlo en condiciones de invernadero y mantenerle en producción por casi 7 meses.

La germinación de los tinguaraques autóctonos de los Bancos municipio de Parácuaro, Michoacán es más retardada con respecto a poblaciones de otras regiones, además sus semillas poseen baja viabilidad.

Dada las cualidades fisicoquímicas del tinguaraque, se puede determinar que es apto para integrar programas de mejoramiento genético.

A pesar de que el grupo estudiado demostró ser más tardío que otras poblaciones según lo reportado por la literatura, es posible obtener hasta 4 filiales anualmente, lo que facilitaría la creación de una variedad comercial.

Las etapas de desarrollo del tinguaraque son equiparables a las del jitomate cherry, por ende programas de fertilización formulados para este son aptos para la solanácea silvestre.

El tinguaraque produce metabolitos secundarios capaces de contrarrestar el desarrollo de hongos y bacterias

Las etapas ideales para la obtención de metabolitos con capacidad antimicrobiana son las de producción y fructificación, siendo además más apto el tejido aéreo para tal fin.

El tinguaraque produce metabolitos secundarios capaces de inhibir a patógenos que atacan variedades comerciales de jitomate.

XII.-PERSPECTIVA

El trabajo presentado servirá como antecedente para el diseño de nuevos experimentos realizados con tinguaraque (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*), por ejemplo el control de factores bióticos y abióticos con el fin de

someter a las plantas a diferentes condiciones de estrés y evaluar el efecto de extractos obtenidos a partir de tal material vegetal.

Debido a los resultados negativos al analizar el extracto MTAE3 por gases acoplada a masas (GC-MS) se recomienda analizarse por cromatografía líquida de alto desempeño (HPLC).