

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA  
“ANTONIO NARRO”  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



**DETERMINACIÓN DE HONGOS Y LEVADURAS EN FRUTOS Y  
SUPERFICIE DE MELÓN (*Cucumis melo* L.), DESARROLLADO CON  
ABONOS ORGÁNICOS Y DIFERENTES VOLÚMENES DE AGUA.**

**PRESENTADO Por:**

**JOSÉ LUIS SEGUNDO MORALES**

**TESIS**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO  
DE:**

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

**Torreón, Coahuila, México**

**Junio de 2014**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"  
UNIDAD LAGUNA  
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS DEL C. JOSÉ LUIS SEGUNDO MORALES QUE SE SOMETE A LA  
CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO  
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

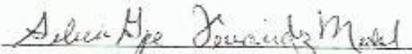
APROBADA POR:

PRESIDENTE



Dr. ALEJANDRO MORENO RESENDEZ

VOCAL



Dra. SILVIA GUADALUPE FERNANDEZ MICHEL

VOCAL



Dr. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

VOCAL SUPLENTE



Ph. D. FLORENCIO JIMÉNEZ DÍAZ



Dr. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de  
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO, 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO"

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONOMICAS

DETERMINACIÓN DE HONGOS Y LEVADURAS EN FRUTOS Y SUPERFICIE  
DE MELÓN (*Cucumis melo* L.), DESARROLLADO CON ABONOS  
ORGÁNICOS Y DIFERENTES VOLÚMENES DE AGUA

POR

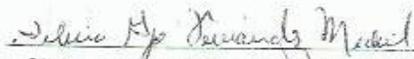
JOSÉ LUIS SEGUNDO MORALES

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA

ASESOR PRINCIPAL

  
Dr. ALEJANDRO MORENO RESÉNDEZ

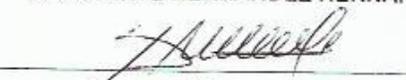
ASESOR

  
Dra. SILVIA GUADALUPE FERNANDEZ MICHEL

ASESOR

  
Dr. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

ASESOR

  
Ph. D. FLORENCIO JIMÉNEZ DÍAZ

Dr. FRANCISCO JAVIER SÁNCHEZ RAMOS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de  
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO 2014

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a **Dios Todo Poderoso**, por su amor, bondad y cuidado que siempre me ha dado, y porque puedo decir que hasta aquí Dios me sigue ayudando y seguirá cuidando de mí, Él me permite finalizar un trayecto de mi vida, porque ya ha trazado otros más adelante.

A mi ALMA TERRA MATER: “**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO UNIDAD LAGUNA**” por darme la oportunidad de formar parte de ella y adquirir grandes conocimientos en sus aulas, será para mí un honor poder decir son Buitre de corazón y portar orgullosamente el nombramiento de un Ex-narro y siempre poner en alto el nombre de la universidad que me formo.

De manera cordial al **Dr. Alejandro Moreno Reséndez**, por brindarme siempre su apoyo durante este proyecto y no solo eso sino también por la disponibilidad de contar con él como amigo.

A las Maestras **María de Lourdes Froto Madariaga, Silvia Guadalupe Fernández Michel, María Alejandra Chavira Zúñiga**; de la Escuela de Ciencias Biológicas, U A de C; por brindarme sus conocimientos y asesoría en el laboratorio durante todas las determinaciones realizadas, pero sobre todo por su paciencia y dedicación para la realización del experimento.

Al Personal Académico del Departamento de Parasitología, por formar parte de mi preparación profesional. Siempre compartieron conmigo grandes experiencias y conocimientos. **Dra. Ma. Teresa Valdés Perezgasga, M. c. Javier López, Dr. Vicente Hernández Hernández, Dr. Florencio Jiménez Díaz**, que me brindaron su apoyo, amistad y confianza durante mi estancia en la Universidad, conduciéndome a ser una persona y profesional.

Al alma del departamento de parasitología: **Graciela Armijo Yerenay Gabriela Muñoz Dávila**, siempre tan serviciales a pesar de todo el trabajo que tienen, siempre brindándome el tiempo y atención, su ayuda siempre es indispensable, siempre me acordare de ustedes, muchas gracias.

A **mis amigos** (Michelle M.P.B., Juan, Salma, Ely, Keren Abigail, Ismar, Sofia, Nayelli, Luz, José Luis, Everardo, Ma. Florinda) por regalarme grandes momentos de alegría dentro y fuera de clases.

A todos **mis maestros** por brindarme parte de su conocimiento y atención durante mi formación académica.

## **DEDICATORIA**

### **A mis Hermosos padres:**

Ma. Florencia Morales López y Brígido Segundo Hernández, que son la inspiración de mi vida y el motivo por el cual seguir adelante, me han enseñado a que no existen imposibles, siempre me dicen: Tú eres mi campeón, su amor y apoyo incondicional han hecho de mi lo que ahora soy. Me siento orgulloso de ustedes papas y es ser su hijo es el mayor orgullo que Dios me ha dado.

### **A mis almas gemelas “mis Hermanos”:**

Maribel, Juan Carlos, Jonás, Blanca, Abraham, Josías y Evelia, que son el regalo más bello que me ha dado Dios, es calor de hermanos, ese apoyo incondicional que siempre me han dado, los admiro, gracias por confiar en mí.

# ÍNDICE

pág.

|   |    |
|---|----|
| <b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....  | 1  |
| I.1.- Objetivos generales .....   | 4  |
| I.1.1.- Objetivos Específicos .....   | 4  |
| I.2.- Hipótesis .....   | 5  |
| <b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....   | 5  |
| 2.1 Importancia de la Inocuidad en los alimentos .....  | 5  |
| 2.2 Generalidades de hongos y levaduras.....  | 7  |
| 2.2.1 Usos .....  | 8  |
| 2.2.2 Géneros de mohos de trascendencia en alimentos .....  | 9  |
| 2.2.3 Géneros de levaduras de importancia en alimentos .....  | 10 |
| 2.3 Problemática en el sector salud por la presencia de organismos patógenos en los alimentos. .... | 12 |
| 2.4 Medios selectivos para el crecimiento de hongos y levaduras. ....                               | 15 |
| 2.5 Reglamentación vigente sobre la presencia de hongos y levaduras en alimentos .....              | 17 |
| 2.5.1 Límites permisibles de hongos y levaduras para consumo humano .....                           | 19 |
| 2.6 Generalidades del cultivo de melón.....   | 21 |
| 2.7 Uso de invernaderos para la producción de alimentos .....                                       | 23 |
| 2.8 Utilización de abonos orgánicos en la agricultura .....   | 23 |
| 2.9 Efecto de los abonos orgánicos en el suelo.....   | 25 |
| 2.10 Características del Vermicompost y Compost en la agricultura. ....                             | 26 |
| 2.10.1 Vermicompost como biofertilizante .....  | 26 |
| 2.10.2 Compost como acondicionador del suelo .....  | 27 |
| 2.11 Trascendencia de organismos patógenos en los abonos orgánicos .....                            | 29 |
| 2.12.- Relevancia de las soluciones nutritivas.....   | 31 |
| 2.12.1 La solución de Steiner .....   | 32 |
| <b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....  | 34 |
| 3.1.- Descripción del área experimental .....   | 34 |
| 3.2.- Establecimiento del cultivo .....   | 35 |
| 3.3.- Manejo en invernadero.....  | 35 |

|  |           |
|--|-----------|
| 3.4. Caracterización físico-química de las mezclas de abonos orgánicos a utilizar... | 37        |
| 3.5.- Muestreo de frutos .....   | 38        |
| 3.6.- Análisis de frutos .....   | 40        |
| 3.6.1.- Preparación de medios y soluciones .....                                     | 40        |
| 3.6.2.- Acondicionamiento del área de trabajo .....                                  | 41        |
| 3.6.3.- Determinación de hongos y levaduras en pulpa.....                            | 42        |
| 3.6.4.- Determinación de hongos y levaduras en enjuague .....                        | 44        |
| 3.6.5.- Macro-cultivo de hongos seleccionados durante el recuento.....               | 46        |
| 3.7 Identificación de hongos sembrados en las cajas Petri. ....                      | 47        |
| <b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>  | <b>49</b> |
| <b>V. CONCLUSIONES .....</b>   | <b>57</b> |
| <b>VI. LITERATURA CITADA.....</b>  | <b>59</b> |
| <b>ANEXOS I. Esquema general del experimento. ....</b>                               | <b>65</b> |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 1.</b> Número de casos de enfermedades del tracto gastrointestinal (cólera, fiebre, tifoidea, paratifoidea, salmonelosis y shigelosis) por grupo de edad, para el periodo 2000 – 2008 (Hernández et al., 2011)....                               | 14 |
| <b>Figura 2.</b> Manejo en invernadero de melón Cantaloupe.....  | 37 |
| <b>Figura 3.</b> Material y procedimiento utilizado para la toma de muestras de frutos de melón.....   | 39 |
| <b>Figura 4.</b> Preparación de medios y soluciones utilizadas para el análisis microbiológico de los frutos de melón.....   | 41 |
| <b>Figura 5.</b> Acondicionamiento del área a trabajar en el laboratorio del CyTAOS, Escuela de Ciencias Biológicas, U A de C – Unidad Torreón...  | 42 |
| <b>Figura 6.</b> Determinación de hongos y levaduras en pulpa de melón desarrollado en diferentes abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua en invernadero.....  | 44 |
| <b>Figura 7.</b> Determinación de hongos y levaduras en el enjuague del exocarpio de los frutos de melón desarrollados en diferentes sustratos orgánicos y diferentes volúmenes de agua bajo condiciones de invernadero.....                               | 45 |
| <b>Figura 8.</b> Macrocultivo de hongos seleccionados durante el recuento de hongos y levaduras presentes en frutos de melón desarrollados en diferentes abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua bajo condiciones de invernadero.....              | 47 |
| <b>Figura 9.</b> Identificación de géneros de hongos seleccionados durante el recuento de hongos y levaduras presentes en frutos de melón desarrollados en diferentes abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua bajo condiciones de invernadero..... | 48 |
| <b>Figura 10.</b> Cepa de <i>Pythium ultimum</i> .....   | 56 |

|  |    |
|--|----|
| <b>Figura 11.</b> Cepa de <i>Mycovellosiella fulva</i> .....   | 56 |
| <b>Figura 12.</b> Cepa <i>Penicillium digitatum</i> .....      | 56 |
| <b>Figura 13.</b> Cepa de <i>Aspergillus niger</i> .....       | 56 |
| <b>Figura 14.</b> Cepa de <i>Aspergillus</i> spp.....          | 56 |
| <b>Figura 15.</b> Cepa de <i>Alternaria cucumerina</i> .....   | 56 |
| <b>Figura 16.</b> Cepa de <i>Helminthosporium</i> spp.....     | 56 |
| <b>Figura 17.</b> Cepa de <i>Penicillium aurantiaacu</i> ..... | 56 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|  |    |
|--|----|
| <b>Cuadro 1.</b> En base a lo establecido en la NOM NOM-093-SSA1-1994, se muestran los límites máximos microbiológicos para mesofílicos aerobios (bacterias, hongos y levaduras) y Coliformes totales, básicos permisibles para algunos alimentos..... | 19 |
| <b>Cuadro 2.</b> Volúmenes de agua aplicados por maceta y tratamientos evaluados durante el desarrollo del melón bajo condiciones controladas.   | 35 |
| <b>Cuadro 3.</b> Análisis químico para evaluar la calidad de los diferentes sustratos que se utilizaron durante el desarrollo del cultivo de melón con sus respectivas mezclas.....  | 38 |
| <b>Cuadro 4.</b> Valores promedio de resultados del análisis de levaduras y hongos de la pulpa y enjuague de frutos de melón desarrollados con abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua bajo condiciones de invernadero.....                    | 51 |
| <b>Cuadro 5.</b> Análisis microbiológico en diferentes hortalizas.....   | 52 |
| <b>Cuadro 6.</b> Análisis microbiológico en diferentes frutas.....   | 53 |
| <b>Cuadro 7.</b> Resultados de la identificación de géneros de hongos que se desarrollaron en el macrocultivo que se sembró durante el análisis de frutos de melón desarrollados con abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua.....              | 55 |

## RESUMEN

Se analizaron tanto la pulpa como la superficie (enjuague) de frutos de melón Cantaloupe (*Cucumis melo* L.), desarrollados en invernadero, utilizando diferentes abonos orgánicos (compost, compost con yeso y vermicompost) mezclados con arena de río, en relaciones 1:1, 1:2, 1:3, 1:4; y con diferentes volúmenes de agua (0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 L·m<sup>-1</sup>·día<sup>-1</sup>), utilizando un diseño completamente al azar. Dentro del invernadero las macetas fueron colocadas a doble hilera con arreglo en tresbolillo. Adicionalmente se contó con el testigo que consistió en macetas rellenas con arena y aplicación de solución nutritiva de Steiner, para satisfacer la demanda nutritiva del cultivo, para un total de 13 tratamientos con tres repeticiones. Durante el proceso se llevó a cabo la caracterización físico-química, de los abonos orgánicos empleados, este análisis se realizó en el laboratorio del Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro U.A.A.N. Adicionalmente de acuerdo a la maduración de los frutos se realizaron tres cortes o muestreos, a las 7:00 horas, en diferentes fechas. El muestreo se realizó en base a lo establecido en la NOM-109-SSA1-1994. Para el muestreo de la superficie exterior se realizó a través del enjuague del exocarpo de los frutos, se utilizaron cuatro frutos por tratamiento; se colocaron en bolsas de plástico, previamente identificadas, en las cuales se depositaron 250 mL de agua Peptonada al 1%, posteriormente la muestra compuesta de los cuatro enjuagues y los frutos de melón utilizados se depositaron por separado en bolsas de plástico las cuales se colocaron en

hieleras de plástico para transportarlas al Laboratorio de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Orientados a la Salud (CyTAOS) de la Escuela de Ciencias Biológicas, U A de C, Unidad Torreón, donde se realizó el análisis microbiológico, en base a NOM-109-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Procedimiento para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico y la NOM-111-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Se realizaron tres diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ), tanto en pulpa como en enjuague, utilizando el Agar papa dextrosa(PDA) como medio de cultivo, se incubo a 35°C por 48 h. para levaduras y de 3 a 5 días a 25 ° C para hongos. El conteo de levaduras se realizó con la ayuda de un cuentacolonia (Reichert Quebec Darkfield Colony Counter®). La identificación de los hongos se realizó a través de un macrocultivo. Los géneros de los hongos identificados fueron: *Pythium* spp., *Penicillium* spp., *Mycovellosiella* spp., *Aspergillus* spp., *Alternaria* spp., y *Helminthosporium* spp

**Palabras clave:** análisis microbiológico, cucurbitáceas, inocuidad, patógenos, producción orgánica.

## I. INTRODUCCIÓN

A diario el hombre consume diferentes alimentos que son la principal fuente de energía para realizar diversas actividades. Sin embargo estos alimentos pueden causar enfermedades si no han sido elaborados bajo normas de higiene adecuadas. Este tipo de enfermedades se conocen como Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs). A nivel mundial, de acuerdo con Vanegas y Rojas durante 2004, las ETAs resultaron ser las causas más preocupantes en salud pública, ya que ocurrieron de 24 a 81 millones de casos y más de diez mil muertes por consumo de alimentos contaminados. Las ETAs ameritan especial atención porque pueden generar complicaciones y secuelas como meningitis, artritis, desórdenes auto inmunes, enfermedades cardiovasculares, neoplasias, y abortos. Por otra parte los gastos económicos causados por incapacidades laborales y por pérdidas industriales debido al rechazo de productos contaminados con estos patógenos son bastante alto (Vanegas y Rojas, 2004). La incidencia cada vez mayor, durante las últimas décadas de enfermedades transmitidas por los alimentos parece estar relacionada, en muchos países, con un aumento de las enfermedades provocadas por la presencia de microorganismos en los alimentos (FAO-OMS, 2009). En relación a lo anterior, en los últimos años las frutas y las hortalizas frescas han llamado la atención de los investigadores no solamente por los beneficios que su consumo brinda a la salud de las personas sino también por su asociación con diversos brotes de enfermedades gastrointestinales registrados en la última década (Xuan *et al.*,

2000; FDA, 2004). Por ejemplo los frutos de melón (*Cucumis melo* L.) están propensos a contaminarse por microorganismos patógenos para los humanos, debido a su exposición a una serie de factores durante el crecimiento, desarrollo, cosecha y pos-cosecha; dentro de estos factores destacan los suelos contaminados, el uso de abonos orgánicos generados a través de un proceso de compostaje inadecuado del empleo agua contaminada así como la presencia de animales en el campo y la falta de higiene de los trabajadores, durante cualquier etapa de la cadena de producción, distribución y comercialización de dicho cultivo (FDA, 2003).

La habilidad de los microorganismos para internarse en los tejidos de frutas y hortalizas es bastante reconocida (Bartz y Showalter, 1981; Ibarra-Sánchez *et al.*, 2004; Raj *et al.*, 2005). Aunque existe muchas interrogantes sobre la transmisión de los microorganismos patógenos desde su reservorio hasta las frutas y hortalizas, y de los vectores que pueden estar involucrados. Debido a que cada fruta y hortaliza presenta una composición y características únicas.

Dentro de los organismos patógenos al hombre destacan los hongos, éstos pueden representar el 70% de la población microbiana y constituyen el segundo de los dos grandes grupos de microorganismos del suelo, de ahí su importancia ya que se encuentran distribuidos ampliamente en el ambiente como flora normal de un alimento, o como contaminante en equipos inadecuadamente lavados o desinfectados. Diversas especies de hongos y levaduras resultan interesantes debido a que muchos de ellos son útiles para la elaboración de algunos alimentos, mientras otros causan su descomposición, e incluso algunos producen metabolitos tóxicos (micotoxinas) (Camacho *et al.*, 2009).

Por ello es indispensable desarrollar la investigación enfocada al diagnóstico de patógenos (*E.Coli*, *Salmonella* spp., *Coliformes fecales*, hongos y levaduras etc.) y realizar una oportuna prevención antes de que esto le pueda producir daños al consumidor. Para esto es necesario identificar los puntos de contaminación durante el proceso de producción, distribución y comercialización de cultivos agrícolas, y cuáles son los frutos con mayor probabilidad de retener patógenos. Debido a que ciertos patógenos tienen la habilidad de internarse en los tejidos de frutos y hortalizas, este simple hecho representa un riesgo a la salud humana si no se tiene la precaución y el hábito de lavar y desinfectar estos productos antes de ingerirlos o prepararlos (Ávila *et al.*, 2008).

Por otro lado, la utilización de abonos orgánicos como abonos y mejoradores del suelo, por un lado ayuda a reducir el riesgo de contaminación, debido a que durante su proceso de elaboración son expuestos a temperaturas elevadas, y por otro proporcionan los elementos nutritivos que la planta requiere para su desarrollo sin afectar el rendimiento. La adopción de la producción orgánica, resulta como una alternativa para los consumidores que prefieren alimentos inocuos libres de plaguicidas, fertilizantes sintéticos y con alto valor nutricional, por lo que se pretende conocer si el uso de abonos orgánicos reduce la presencia de estos organismos patógenos que comprometen la calidad sanitaria del melón y por consecuencia la salud del consumidor.

## **I.I.- Objetivos generales**

- Determinar la presencia de hongos y levaduras en fruto y superficie de melón desarrollados con abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua, bajo condiciones de invernadero.
- Identificar los tipos de hongos y levaduras en frutos de melón desarrollados con abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua, bajo condiciones de invernadero.

### **I.I.I.- Objetivos Específicos**

- Determinar el recuento total de hongos y levaduras en la parte externa e interna de frutos de melón generados en diferentes sustratos orgánicos y volúmenes de agua.
- Identificar el abono orgánico con los mayores índices de contaminación de hongos y levaduras en la parte externa e interna de los frutos de melón.
- Seleccionar el abono orgánico que garantice la inocuidad de los frutos de melón

## **I.2.- Hipótesis**

Al aplicar abonos orgánicos se favorece la inocuidad del fruto de melón con respecto a microorganismos patógenos.

## **II. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 Importancia de la Inocuidad en los alimentos**

La inocuidad alimentaria es un tema que día a día cobra mayor vigencia, tanto en el ámbito internacional como en el nacional. La disponibilidad de alimentos de calidad sanitaria es un reclamo universal, y su demanda es mayor conforme la población adquiere conciencia de la importancia que tiene para su salud el consumo de alimentos contaminados con cualquier tipo de patógenos y sustancias tóxicas. Este concepto se puede entender como la implementación de medidas que reducen los riesgos provenientes de contaminantes, tanto físicos, químicos y biológicos, para proteger a los consumidores de peligros involuntarios que presentan los alimentos (Avedaño *et al.*, 2002).

En el caso de la contaminación biológica, la detección rápida de patógenos en alimentos es un aspecto crítico, principalmente en aquellos que entran en transformación, maduración y descomposición muy pronto, como los productos cárnicos y hortofrutícolas. La búsqueda de métodos rápidos y seguros para la detección de grupos específicos de organismos en alimentos se ha vuelto una necesidad urgente en la adopción de programas para el aseguramiento de la

calidad y la inocuidad de los alimentos. Lo anterior se debe a que es de suma importancia identificar y monitorear puntos críticos susceptibles de contaminación microbiológica en los sistemas productivos agrícolas para poder tomar medidas preventivas y/o correctivas. El detectar la presencia de organismos patógenos de forma rápida a lo largo de la cadena de producción, ayudará que se lleven a cabo acciones encaminadas a la solución de los problemas de contaminación, y como beneficio al productor al tener mayor facilidad de acceso a la distribución de sus productos a nivel nacional e internacional además de asegurar la salud del consumidor al ingerir productos vegetales libres de contaminantes(Gallegos *et al.*, 2009).

HACCP son las siglas en inglés de *Hazard and Analysis Critical Control Points* y se ha traducido al español de diversas formas. Las más difundidas son Análisis de Riesgos y Control de puntos críticos (ARCPC) y Análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC), esta última usada por la Comisión del *Codex Alimentarius*, el cual define el sistema HACCP como un enfoque sistemático de base científica que permite identificar peligros específicos y medidas para su control, con el fin de asegurar la inocuidad de los alimentos, es un instrumento para evaluar los peligros y establecer sistemas de control que orienten hacia la prevención en lugar de basarse en el análisis del producto final (FDA-CFSAN, 2001).

Actualmente la inocuidad es un factor determinante para que participen en el mercado de exportación productos hortícolas como tomate, chile, melón, sandía, pepino entre otras. Tal es el caso del fruto de melón que se consume en

fresco y está sujeto a contaminación de origen microbiano lo que puede ocasionar daños a la salud del consumidor (Isidro-Requejo *et al.*, 2006).

## **2.2 Generalidades de hongos y levaduras**

Los mohos y levaduras están ampliamente distribuidos en la naturaleza y se pueden encontrar formando parte de la flora normal de un alimento, o como agentes contaminantes y en los equipos sanitizados inadecuadamente, provocando el deterioro fisicoquímico de los alimentos, debido a la utilización en su metabolismo de los carbohidratos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos originando olores nauseabundos, alterando el sabor y el color en la superficie de los productos contaminados. Además los mohos y levaduras pueden sintetizar metabolitos tóxicos termo resistentes, capaces de soportar algunas sustancias químicas, así como la irradiación y presentan capacidad para alterar sustratos desfavorables, permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas. Por lo anterior, resulta de gran importancia cuantificar los mohos y levaduras en los alimentos, puesto que al establecer la cuenta de estos microorganismos, permite su utilización como un indicador de prácticas sanitarias inadecuadas durante la producción y el almacenamiento de los productos, así como el uso de materia prima inadecuada (Camacho *et al.*, 2009).

Por lo anterior es importante definir el termino levadura, como aquellos hongos que generalmente no son filamentosos, sino unicelulares y de forma ovoide o esferoide, y que se reproducen por gemación o por fisión, mientras los Mohos, como grupo de hongos microscópicos; organismos pertenecientes al reino

Fungi, que se caracterizan por tener un cuerpo formado por una estructura filamentosa con ramificaciones, que se conocen con el nombre de hifas, el conjunto de hifas constituye el micelio, carecen de clorofila, se alimentan por absorción pudiendo propagarse por esporas flageladas o no, las paredes celulares pueden ser de queratina, celulosa, que se considera no apta para el consumo. Su identificación y clasificación se basa en observaciones macroscópicas y microscópicas (NOM-111-SSA1-1994). La mayoría de los hongos suelen crecer mejor en ambientes con un pH de alrededor de 5. Casi todos los hongos filamentosos son aerobios, así como casi todas las levaduras son anaerobias facultativas (Gerard *et al.*, 2007).

### **2.2.1 Usos**

Las levaduras que se encuentran en los alimentos pueden ser benéficas o perjudiciales, algunas se utilizan en la elaboración de alimentos como el pan, la cerveza, los vinos, el vinagre y los quesos, también se utilizan en la obtención de enzimas y alimentos fermentados. Éstas vienen a ser perjudiciales cuando producen la alteración de los zumos de frutas, de los jarabes, de la melaza, de la miel, de las carnes, del vino, de la cerveza y de otros alimentos. Así como las levaduras ciertas especies de hongos son útiles en la elaboración de algunos alimentos, sin embargo también pueden ser causantes de la descomposición de otros alimentos. Debido a su crecimiento lento y a su baja competitividad, los hongos y levaduras se manifiestan en los alimentos donde el crecimiento bacteriano es menos favorable (Camacho *et al.*, 2009).

Tanto los hongos, como las levaduras se pueden utilizar en ciertos sustratos, así como como pectinas, carbohidratos como polisacáridos, ácidos orgánicos, proteínas y lípidos. No obstante también pueden causar problemas a través de: (a) síntesis de metabolitos tóxicos (micotoxinas), (b) resistencia al calor, congelamiento, antibióticos o irradiación y (c) habilidad para alterar sustratos no favorables permitiendo el crecimiento de bacterias patógenas. Pueden también causar olores y sabores fétidos y la decoloración de las superficies de alimentos, por tal motivo resultan interesantes ya que por una parte pueden ser favorables o desfavorable(Camacho *et al.*,2009).

### 2.2.2 Géneros de mohos de trascendencia en alimentos

De acuerdo con Camacho *et al.*, (2009) entre los géneros de mohos de mayor trascendencia para los alimentos destacan los siguientes:

- ***Mucor***: Intervienen en la alteración de algunos alimentos y se utilizan en la fabricación de otros. *M. rouxii* se utiliza para la sacarificación del almidón, para la maduración de quesos y para la fabricación de algunos alimentos orientales.
- ***Rhizopus***: La especie *R. stolonifer*, o moho del pan, es muy común e interviene en la alteración de algunos alimentos: bayas, frutas, hortalizas, pan, etc.
- ***Aspergillus***: Son mohos muy abundantes. Algunas especies intervienen en las alteraciones que experimentan los alimentos, mientras que otros son de utilidad para preparar determinados alimentos. *A. niger* se utiliza para la producción industrial de ácido cítrico y glucónico y de algunas

enzimas. *A. flavus* se utiliza para la fabricación de ciertos alimentos orientales y en la obtención de enzimas.

- ***Penicillium***: Es otro género de mohos de frecuente incidencia y de importancia en los alimentos, *P. expansum* produce la podredumbre blanda de las frutas; *P. digitatum* y *P. italicum* producen la podredumbre de frutas cítricas. Las especies *P. camemberti*, *P. roqueforti* se utilizan en la maduración de quesos.

### 2.2.3 Géneros de levaduras de importancia en alimentos

Por otro lado, los géneros de levaduras con relevancia para la preparación de alimentos (Camacho *et al.*, 2009) son:

- ***Schizosaccharomyces***: Levaduras de este género se han encontrado en frutas tropicales, en la melaza y en la miel.
- ***Saccharomyces***: La especie *S. cerevisiae* se emplea en muchas industrias alimentarias, como en la fermentación del pan, fermentación de la cerveza, fermentación de los vinos, en la producción de alcohol, glicerol e invertasa.
- ***Kluyveromyces***: *K. marxianus* (antes *Saccharomyces fragilis*) se utiliza en la obtención de productos lácteos por su capacidad de fermentar la lactosa.
- ***Zygosaccharomyces***: Las levaduras de este género son importantes por su capacidad para crecer en medios con elevadas concentraciones de azúcar (osmófilas), intervienen en la alteración de la miel, jarabes y

melazas, y también en la fermentación de la salsa de soya y de algunos vinos.

- ***Pichia***: Crecen en la superficie de los líquidos formando una película. *P. membranafaciens* produce una película en la superficie de las cervezas y vinos.
- ***Debaromyces***: Forman película en la superficie de las salmueras. *D. kloeckeri* crece en la superficie de los quesos y de los embutidos.
- ***Hanseniaspora***: Estas levaduras tienen forma de limón y crecen en los zumos de frutas.
- ***Torulopsis***: Originan problemas en las fábricas de cervezas. *T. sphaerica* fermenta la lactosa, alterando productos lácteos. Otras especies alteran la leche condensada azucarada, los concentrados de zumos de frutas y los alimentos ácidos.
- ***Candida***: La especie *C. utilis* se cultiva para la obtención de proteína unicelular para incorporarla tanto a alimentos destinados al consumo humano como a piensos. La especie *C. krusei* se utiliza junto con los cultivos iniciadores de productos lácteos. *C. lipolytica* produce alteración de la mantequilla y margarina.
- ***Brettanomyces***: Producen grandes cantidades de ácido e intervienen en la fermentación de la cerveza belga de tipo “lambic”, de las cervezas inglesas y de los vinos franceses.

- ***Trichosporon***: Estas levaduras crecen mejor a temperaturas bajas, encontrándose en las fábricas cerveza y en la superficie de vacuno refrigerada.
- ***Rhodotorula***: Estas levaduras de color rojo, rosa o amarillo, pueden producir manchas en la superficie de los alimentos como en la superficie de las carnes, o zonas de color rosado en el sauerkraut.

### **2.3 Problemática en el sector salud por la presencia de organismos patógenos en los alimentos.**

En los últimos años las frutas y hortalizas frescas han llamado la atención de los investigadores no solamente por los beneficios que su consumo brinda a la salud de las personas sino también por su asociación con diversos brotes de enfermedades gastrointestinales (Hernández-Domínguez, 2008). Estas enfermedades están asociadas a la contaminación alimentaria que es un tema muy delicado, que se define como la presencia de cualquier materia anormal en los alimentos que comprometa su calidad para el consumo humano, esta contaminación puede ser de origen químico, físico o microbiológico. Esta última, causada por microorganismos, que incluye las denominadas toxiinfecciones alimentarias (TIA), es la que origina un mayor número de casos de enfermedades (Cabañas y Mendoza, 2006).

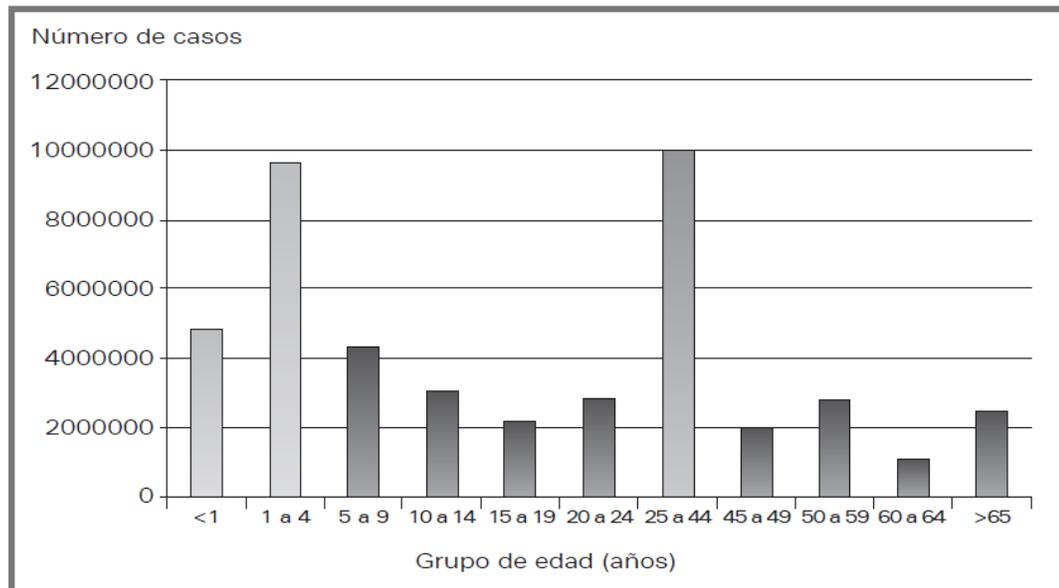
Los alimentos son, por sus factores intrínsecos, un caldo de cultivo ideal para el crecimiento de los microorganismos. La presencia de determinados agentes microbianos, unida a condiciones de manipulación y conservación no

adecuadas, puede dar lugar a las llamadas TIA. La alta prevalencia de estos cuadros en los últimos años y la incidencia económica del abordaje de éstos, ha llevado a los organismos causantes a crear un marco legal y normativo para asegurar la calidad delos alimento y, consecuentemente, evitar repercusiones en el consumidor (Cabañas y Mendoza, 2006).

Según la Organización Mundial de la Salud, las enfermedades transmitidas por alimentos se definen como “El conjunto de síntomas originados por la ingestión de agua y/o alimentos que contengan agentes biológicos (p. ej., bacterias o parásitos) o no biológicos (p. ej., plaguicidas o metales pesados) en cantidades tales que afectan la salud del consumidor en forma aguda o crónica, a nivel individual o de grupo de personas” (OMS, 2001).

No solo en México, sino a nivel mundial las enfermedades gastrointestinales son una de las primeras causas de consulta médica y también una de las primeras causas de muerte. Por ello, se les considera un problema de salud pública, que afecta a personas de cualquier edad y condición social, aunque los grupos más vulnerables son los niños y los ancianos. Estas enfermedades se transmiten, ya sea por vía fecal-oral, o bien por el consumo de agua y alimentos contaminados. Afectando principalmente a la población infantil, y tanto su incidencia como su prevalencia dependen del nivel socioeconómico de los pacientes. Los agentes patógenos involucrados son virus, parásitos y bacterias. La búsqueda e identificación de éstos, en los laboratorios clínicos, se centra principalmente en patógenos clásicos como: *Salmonella*, *Shigella*, *Escherichia*, *Vibrio*, *Campylobacter* y *Yersinia*. Como ejemplo de la presencia de estas enfermedades se presenta la figura 1, la cual se construyo de acuerdo con la

clasificación de las enfermedades infecciosas del aparato gastrointestinal (cólera, fiebre tifoidea, infecciones intestinales por otros organismos, y las mal definidas intoxicación alimentaria bacteriana, paratifoidea y otras salmonelosis y shigelosis) y teniendo presentes los datos reportados, de 2000 a 2008, en el boletín epidemiológico de México(Hernández *et al.*, 2011). En la figura 1 se observa que los grupos de edad más afectados son los niños menores de cinco años y los adultos de entre 25 y 44 años.



**Figura 1. Número de casos de enfermedades del tracto gastrointestinal (cólera, fiebre, tifoidea, paratifoidea, salmonelosis y shigelosis) por grupo de edad, para el periodo 2000 – 2008 (Hernández *et al.*, 2011).**

Debido a los problemas ya descritos, inherentes al sector salud es importante adoptar y fortalecer el concepto de la inocuidad y calidad alimentaria en México y todo el mundo. En México se contempla la producción de frutas y hortalizas inocuas en el sistema de producción de campo, porque éste es un factor

determinante para la incorporación de los productos agrícolas al mercado de exportación. Tal es el caso del fruto de melón que se consume en fresco y está sujeto a contaminación de origen microbiano lo que puede ocasionar daños por enfermedad en el consumidor (Isidro *et al.*, 2006).

#### **2.4 Medios selectivos para el crecimiento de hongos y levaduras.**

La Norma Oficial Mexicana utiliza únicamente el agar papa dextrosa para la detección y cuantificación de estos grupos de microorganismos. Sin embargo se sugiere para la cuantificación de las levaduras, la utilización del agar extracto de malta acidificado ya que es un medio más rico en elementos nutritivos y adecuado para el desarrollo de este grupo microbiano (Camacho *et al.*, 2009). Por lo anterior, a continuación y de manera general se describen estos medios de cultivo.

- 1. El Agar Dextrosa y Papa:** Este medio es recomendado para realizar un recuento de colonias de hongos y levaduras ya que promueve su crecimiento. La difusión de papa promueve un crecimiento abundante de los hongos y levaduras y el agar es adicionado como gel solidificante. Su preparación se basa en suspender 39 g de este medio en un litro de agua purificada. Calentando con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Enfriándolo a una temperatura entre 45 y 50 °C para poder vaciarlo en placas de Petri estériles. El crecimiento paralevaduras se observa como colonias de color crema o

blanco. Los hongos crecen como colonias difusas y de varios colores. La cuenta del número de colonias se relaciona con el factor de dilución de la muestra, para determinar el número de microorganismos por gramo o mililitro de muestra (Franket *al.*, 1993).

**2. Agar Dextrosa Saboraud:** BD Sabouraud Glucose Agar, es un medio diseñado para el aislamiento y cultivo de hongos principalmente dermatofitos, su bajo pH favorece el crecimiento de los hongos e inhibe ligeramente la flora bacteriana, tanto de muestras clínicas y no clínicas. Su preparación se basa en suspender 65 g de este medio en un litro de agua purificada dejándolo reposar de 10 a 15 minutos. Calentando con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121 °C (15 lbs de presión) durante 15 minutos. Enfriándolo a una temperatura entre 45 y 50 °C para poder vaciarlo en placas de Petri estériles (Larone, 2002).

**3. Agar Extracto de Malta:** Un medio para la detección, aislamiento y enumeración de levaduras y mohos. Las bacterias pueden estar suprimidos por la adición de ácido láctico. Para recuentos micológicas puede ser deseable preparar el medio más ácido con el fin de suprimir el crecimiento bacteriano. Su preparación consiste en suspender 50 g en 1 L de agua destilada y hervir para disolver. Esterilizar en autoclave medio a 115 °C durante 10 minutos (Galloway y Burgess, 1952).

De acuerdo a la NOM-111-SSA1-1994. El método para preparar el medio selectivo para el crecimiento de hongos y levaduras, se basa en inocular una

cantidad conocida de muestra de prueba en un medio selectivo específico, acidificado a un pH 3,5 e incubado a una temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , dando como resultado el crecimiento de colonias características para este tipo de microorganismos.

## **2.5 Reglamentación vigente sobre la presencia de hongos y levaduras en alimentos**

Tanto alimentos de origen vegetal y animal resultan susceptibles a la invasión por mohos y levaduras (Marasas *et al.*, 2006), durante alguna de las etapas de producción, procesado, transporte y almacenamiento (Bulleman y Bianchini 2007), entre éstos existen algunos mohos toxigénicos que tienen la capacidad de producir una variedad de metabolitos secundarios denominados toxinas (Drusch y Ragab 2003), las cuales son causantes de serias intoxicaciones al consumidor desde la gastroenteritis hasta el cáncer hepático (Fung y Clark 2004), las especies toxigénicas de mayor importancia pertenecen a tres géneros: *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium* (Lazo y Sierra, 2008).

De acuerdo a la FDA "...la mayoría de micotoxinas son compuestos estables que no se destruyen durante el procesamiento de alimentos o comida casera. A pesar de que los organismos de generación no pueden sobrevivir a la preparación de alimentos, la toxina preformada puede estar aún presente..." (Toumas *et al.*, 2001). Las micotoxinas toleran temperaturas de hasta  $160^\circ\text{C}$  con la cual solamente se logra una destrucción parcial de las mismas, esto

quiere decir que la ausencia de hongos toxicogénicos no garantiza que un alimento esté libre de micotoxinas (Romero *et al.*, 2005), pues las esporas que producen persisten aun cuando el hongo ha perdido su viabilidad (Doolotkeldieva, 2010).

Aunado a lo anterior la Norma Oficial Mexicana (NOM-111-SSA1-1994) Bienes y Servicios. Incluye el Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos, y esta norma es de observancia obligatoria en el Territorio Nacional para las personas físicas o morales que requieran aplicar este método en productos nacionales o de importación, para fines oficiales. La cual se establece el método general para determinar el número de mohos y levaduras viables presentes en productos destinados al consumo humano por medio de la cuenta en placa a  $25 \pm 1$  °C, tomando en consideración los criterios de la NOM-092-SSA1-1994. Método para la Cuenta de Bacterias Aerobias en Placa, para la expresión de resultados.

Esta Norma se complementa con las siguiente normatividad:

1. NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
2. NOM-110-SSA1-1994 Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico
3. NOM-092-SSA1-1994 Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.

### 2.5.1 Límites permisibles de hongos y levaduras para consumo humano

Como referencia la NOM-093-SSA1-1994 establece el control sanitario en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos, es el conjunto de acciones de orientación, educación, muestreo y verificación que deben efectuarse con el fin de contribuir a la protección de la salud del consumidor, mediante el establecimiento de las disposiciones sanitarias que se deben cumplir tanto en la preparación de alimentos, como en el personal y los establecimientos, en los puntos críticos presentes durante su proceso; que permitan reducir aquellos factores que influyen durante su preparación en la transmisión de enfermedades por alimentos (ETA). Con el propósito de asegurar que todos los alimentos que se preparen y ofrezcan en los establecimientos fijos lleguen al consumidor de manera inocua.

En base a lo anterior el apéndice informativo B (Especificaciones sanitarias), de la NOM NOM-093-SSA1-1994., establece las especificaciones microbiológicas en los alimentos preparados que podrán ser sujetos a análisis especiales. En la que se establece los límites microbiológicos básicos máximos permisibles para diferentes alimentos (cuadro 1).

**Cuadro 1. En base a lo establecido en la NOM NOM-093-SSA1-1994, se muestran los límites máximos microbiológicos para mesofílicos aerobios (bacterias, hongos y levaduras) y Coliformes totales, básicos permisibles para algunos alimentos.**

| Alimento                              | Mesofílicos aerobios<br>(UFC·g <sup>-1</sup> ) | Coliformes totales<br>(UFC·g <sup>-1</sup> ) |
|---------------------------------------|--|--|
| Ensalada (Rusas, mixtas cocidas)      | 100 000  | < 100  |
| Ensalada (Verdes. Crudas o de Frutas) | 150 000  | 100  |

|   |         |       |
|---|---------|-------|
| Carnes (Mamífero, Aves, pescados, mariscos, etc.) | 150 000 | < 10  |
| Salsas y purés cocidos                            | 5 000   | 50    |
| Postres lácteos                                   | 100 000 | < 100 |

UFC= Unidades formadoras de colonias.

La Norma NOM-093-SSA1-1994 se complementa con las siguiente normatividad:

1. NOM-092-SSA1-1994 Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa.
2. NOM-109-SSA1-1994 Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
3. NOM-110-SSA1-1994 Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
4. NOM-112-SSA1-1994 Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
5. NOM-113-SSA1-1994 Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
6. NOM-114-SSA1-1994 Método para la determinación de Salmonella en alimentos.
7. NOM-111-SSA1-1994 Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos.
8. NOM-115-SSA1-1994 Método para la determinación de Staphylococcus aureus en alimentos.

9. NOM-120-SSA1-1994 Prácticas de higiene y sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas.
10. NOM-000-SSA1-1995 Método para la determinación de *coliformes fecales* por la técnica del número más probable (Presuntiva *Escherichia coli*).
11. NOM-001-STPS-1993 Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los edificios, locales, instalaciones y áreas de los centros de trabajo.

Por lo señalado anteriormente la NOM-092-SSA1-1994, establece que cuando se requiere investigar el contenido de microorganismos viables en un alimento, la técnica comúnmente utilizada es la cuenta en placa, esta técnica no pretende poner en evidencia todos los microorganismos presentes. La variedad de especies y tipos diferenciables por sus necesidades nutricionales, temperatura requerida para su crecimiento, oxígeno disponible, etc., hacen que el número de colonias contadas constituyan una estimación de la cifra realmente presente y la misma refleja si el manejo sanitario del producto ha sido el adecuado.

## **2.6 Generalidades del cultivo de melón**

El *C. melo* es considerado como una fruta de gran aceptación, que generalmente se consume como producto fresco. Dentro del Programa de Producción Integrada de Frutas (PIF) el melón, se encuentra dentro de las 14 especies frutícolas contempladas en función de su gran contribución en la balanza comercial de frutas frescas (Borrego *et al.*, 2001). Reportes de

SAGARPA-Laguna (2008) destacan que la producción de melón a nivel mundial es de aproximadamente 26 millones de toneladas anuales teniendo a China como el principal país productor al participar con el 51% de la producción total. México se ubica en el octavo lugar mundial con una participación del 2.2% (FAO, s/f). En este país, la superficie cosechada fue de 21,500 hectáreas y se produjeron más de 543 mil toneladas.

Por su parte la Comarca Lagunera destaca como la zona melonera más importante de México con una superficie anual promedio de más de 5,300 hectáreas y una producción de 115,000 toneladas. Mapimí, Dgo., es el municipio con mayor superficie y producción en la región con una superficie cosechada, en el año 2007, de 1,817 hectáreas y una producción de 42,183 toneladas.

Sin embargo, a pesar del nivel de importancia en la producción de este cultivo, durante los años 2000, 2001 y 2002 la exportación de melón Cantaloupe de México a Estados Unidos y Canadá se vio afectada por la asociación de problemas fitosanitarios, específicamente contaminación con la bacteria *Salmonella*. El primer caso documentado se dio entre los meses de Marzo y Abril del año 2000 donde se vieron afectadas 47 personas que consumieron melón contaminado con *Salmonella poona* procedente del sur de México, lo que originó un cierre de fronteras específico para el “bróker” de Arizona y la unidad agrícola donde se produjo el melón (Espinoza *et al.*, 2011).

## **2.7 Uso de invernaderos para la producción de alimentos**

Actualmente la agricultura, además de producir en campo abierto, se desarrolla en una amplia variedad de ambientes modificados, entre los que destacan el uso de los invernaderos con o sin control ambiental con cultivos en sistemas hidropónicos, sustratos inertes o en suelo, mismos que representan un ejemplo de ecosistemas artificiales para desarrollar la agricultura intensiva y obtener una producción anticipada o fuera de estación, en condiciones diferentes a aquellas en las que tradicionalmente se cultivaban a campo abierto. En México se localizan áreas naturales idóneas para el establecimiento de invernaderos, debido a ello la agricultura protegida se ha desarrollado en forma acelerada, con lo cual ha sido posible obtener productos de calidad tanto para mercado nacional como de exportación. Esta tendencia ha creado la necesidad de usar diversos elementos, herramientas, materiales y estructuras en la protección de cultivos con la finalidad de obtener productos de calidad elevada. De esta forma, el empleo de invernaderos y la agricultura protegida están contribuyendo ampliamente en la producción de alimentos y en el desarrollo de varias zonas agrícolas (Juárez, 2011).

## **2.8 Utilización de abonos orgánicos en la agricultura**

La producción de alimentos es cada vez más intensa y el desarrollo de la agricultura se ha regido contribuyendo al uso indiscriminado de fertilizantes, productos químicos y de prácticas culturales que han propiciado la erosión, la

pérdida de fertilidad y la contaminación del suelo, en menoscabo de la calidad de alimentos y de la calidad ambiental. Lo mencionado anteriormente ha inducido a la degradación del suelo que trae como consecuencia la reducción en la capacidad para proveer alimento para una población creciente que es un tema crítico cuando se aborda la seguridad alimentaria de todo país. La evaluación de la degradación del suelo radica en que algunos aspectos de ésta, son reversibles a largo plazo, como la declinación de la materia orgánica (MO), o son irreversibles como la erosión (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2010)

La MO del suelo se ha convertido en la base para el desarrollo de la agricultura orgánica. Sin embargo es un error decir que la agricultura orgánica es simplemente “no usar productos sintéticos”. La agricultura orgánica debe considerar dos aspectos esenciales: (a) la diversidad estructural y de procesos, y (b) el manejo ecológico del suelo y la nutrición (Julca- Otiano, 2006). Este componente del suelo es de importancia significativa debido a que imparte efectos magníficos en sus propiedades físicas, químicas y biológicas, que se ven reflejadas en la capacidad productiva de las unidades de producción, por lo que su aporte dentro del sistema productivo viene a ser uno de los elementos más importantes a considerar para la consecución de la perdurabilidad de estos sistemas. Los aportes de MO al suelo resultan importantes para el mantenimiento de este componente y de la fertilidad del suelo a largo plazo. Los elementos nutritivos contenidos en la MO (N, P, S entre otros) se hallan en forma orgánica por lo que no son directamente asimilables por las plantas. Por lo tanto es indispensable que la acción microbiana actúe sobre este componente para que las formas orgánicas de los elementos nutritivos pasen a formas

minerales de tal manera que sean utilizadas en la biomasa de la planta (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2010).

## **2.9 Efecto de los abonos orgánicos en el suelo**

El suelo recibe una gran cantidad de restos orgánicos de distinto origen, entre éstos, restos de las plantas superiores que llegan al suelo de dos maneras: se depositan en la superficie (hojas, ramas, flores, frutos) o quedan directamente en la masa del suelo (raíces al morir). Otras dos fuentes importantes son el plasma microbiano y los restos de la fauna habitante del suelo. Basándose en lo anterior, se considera a la MO del suelo como un continuo de compuestos heterogéneos con base de carbono, que están formados por la acumulación de materiales de origen animal y vegetal parcial o completamente descompuestos en continuo estado de descomposición, de sustancias sintetizadas microbiológica y/o químicamente, del conjunto de microorganismos vivos y muertos y de animales pequeños que aún faltan descomponer (Soto, 2001).

En relación a lo anterior, los abonos orgánicos (AO) se han usado desde tiempos remotos y su influencia sobre la fertilidad de los suelos se ha demostrado, aunque su composición química, efecto en el suelo y el aporte de elementos nutritivos a los cultivos varían según su procedencia, edad, manejo y contenido de humedad (Romero *et al.*, 2000). Se ha recomendado la incorporación de los AO (estiércoles, compost y residuos de cosecha) a aquellas tierras sometidas a cultivo intenso para mantener y mejorar la estructura del suelo, aumentar la capacidad de retención de humedad y facilitar

la disponibilidad de elementos nutritivos para las plantas. En la actualidad, la estructura del suelo es el factor principal que condiciona la fertilidad y productividad de los suelos agrícolas; someter el terreno a un intenso laboreo y compresión mecánica tiende a deteriorar su estructura (Dimas *et al.*, 2001).

Algunos efectos de los AO, sobre las propiedades físicas del suelo, primeramente formando agregados y dando estabilidad estructural, uniéndose las arcillas y formando el complejo de cambio, favoreciendo el intercambio gaseoso. En cuanto a las propiedades químicas del suelo, los abonos aumentan la capacidad de cambio de suelo, la reserva de elementos nutritivos para la vida vegetal y la capacidad tampón del suelo favorece la elección de los abonos minerales y facilita su absorción a través de la membrana celular de las raicillas. Mientras su efecto en las propiedades biológicas favorece los procesos de mineralización, el desarrollo de la cubierta vegetal, sirve de alimento a una multitud de microorganismos y estimula el crecimiento de la planta en un sistema ecológico equilibrado (Julca-Otiano, 2006).

## **2.10 Características del Vermicompost y Compost en la agricultura.**

### **2.10.1 Vermicompost como biofertilizante**

El vermicompost (VC) se puede definir como un producto cuya elaboración involucra varios procesos biológicos, transformaciones bioquímicas y microbiológicas que aceleran la transformación y mineralización de los residuos orgánicos en descomposición al pasar por el tracto digestivo de la lombriz (Ramos-García, 2010). Adicionalmente, el VC es el resultado de un proceso que

consiste en la biooxidación acelerada y estabilización de los materiales orgánicos a través de la acción desintegradora conjunta de una alta densidad de población lombrices y microorganismos, que los convierten en un material humificado y mineralizado (Cruz-Crespo, 2010), logrando transformar los desechos orgánicos en compuestos estables. Cuando las lombrices se alimentan de los residuos orgánicos, ingieren una amplia gama de materiales alimenticios incluyendo bacterias, hongos, protozoarios y nematodos (Hernández-Rodríguez et al., 2010. Hoy en día, las especies de lombrices más estudiadas son: *Eisenia fetida*, *Eisenia andrei*, *Eudrillus eugeniae*, *Perionyx excarvatus*, aunque la *E. fetida* o lombriz californiana es considerada como la más eficiente para el proceso de vermicompostaje (Cruz-Crespo, 2010). Para esto los estiércoles resultan una fuente de alimento común para las lombrices aunque también se han utilizado otros materiales (residuos de los supermercados, biosólidos etc.)(Moreno-Resendez, 2005).

### **2.10.2 Compost como acondicionador del suelo**

El compost es el producto final obtenido de la descomposición aerobia, bajo condiciones controladas, de residuos orgánicos de origen vegetal, animal y excrementos y purines que se someten a un tratamiento hemofílico (45 a 65 °C) para la degradación y estabilización de dichos residuos, donde se lleva a cabo la producción masiva de bacterias, hongos, actinomicetos y otros organismos que están presentes en forma natural en cualquier lugar (Ramos-García, 2010). Durante este proceso ocurre la muerte efectiva de patógenos y semillas de

malezas que se encuentran en los residuos orgánicos que se utilizan, evitando que sean transferidos a cultivos sucesivos (Moreno-Reséndez, 2005).

Normalmente con el proceso de descomposición se trata de evitar en lo posible la putrefacción de los residuos orgánicos por exceso de agua que impide la aireación-oxigenación (Cruz-Crespo, 2010). Como consecuencia la supresión de olores desagradables, mejorando las condiciones ambientales locales, además de obtener materiales orgánicos con un mejor aporte de elementos nutritivos impactando positivamente la calidad del cultivo y las poblaciones microbianas benéficas permitiendo un incremento de la actividad biológica benéfica del suelo (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2010).

Gran parte de los estudios realizados sobre la preparación del compost y la aplicación del estiércol a los cultivos sobre el terreno se han centrado en los efectos de la fertilidad de los suelos y la calidad de los cultivos; sin embargo es necesario aumentar las investigaciones acerca de la sobrevivencia de los patógenos en el compost y de los tratamientos para reducir los niveles de estos microorganismos (Gómez *et al.*, 2004). Por ello el proceso de compostaje es una técnica muy conocida y de fácil aplicación, que consiste en mezclar desechos animales, vegetales, ceniza, elementos minerales proporcionándoles niveles de humedad, aireación y temperatura favorables a la actividad de los microorganismos capaces de convertir esos materiales en compuestos orgánicos estabilizados (Raviv, 2005). Lo anterior permite obtener un fertilizante de manera racional, económica y segura, a partir de diferentes residuos y conservar y aprovechar los elementos nutritivos presentes en los mismos. La aplicación del compost sin tratar o tratado inadecuadamente representa un

peligro para el ambiente y para la salud pública, debido al movimiento y supervivencia en el suelo de bacterias patógenas presentes en estos biofertilizantes tales como: *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Vibrio cholerae*, *E. coli* (Gómez *et al.*, 2004).

Cantanhede *et al.*, (2002) menciona que en experimentos de compostaje en China se demostró que los coliformes y otros organismos fecales son destruidos en el propio proceso, si las temperaturas en el rango termofílico se mantienen por un tiempo suficiente (30 a 60 min) y todo el material es sujeto a temperaturas arriba de 60 °C.

### **2.11 Trascendencia de organismos patógenos en los abonos orgánicos**

Una de las alternativas para los consumidores que prefieren alimentos libres de plaguicidas y fertilizantes sintéticos, inocuos y con un alto valor nutricional es la aplicación de los AO (Márquez-Hernández *et al.*, 2010). Existe un importante aspecto de salud relacionado con la aplicación de los abonos orgánicos, el cual está dado por la incidencia de enfermedades producidas por los microorganismos patógenos durante la disposición y utilización insalubre de estos productos. El compost no tratado o tratado de manera inadecuada y utilizado como biofertilizante o elemento nutritivo del suelo, ya sea en la agricultura orgánica o no orgánica, puede dar lugar a la contaminación de los productos y/o de las fuentes de aguas, por lo que su aplicación descontrolada constituye un peligro para la salud pública y una amenaza para el ambiente por la exposición a microorganismos patógenos que esto representa (Gómez, 2004).

Por ello uno de los métodos propuestos para el control de los biofertilizantes es el empleo de elevadas temperaturas. Cuando el proceso de compostaje alcanza temperaturas de 38 °C durante 15 días tiene lugar una disminución considerable del número de microorganismos patógenos, a la vez que está ocurriendo la digestión mesófila de los compuestos orgánicos obteniéndose como producto CO<sub>2</sub>, metano y amonio. Esta etapa mesófila (hasta 40 °C) destruye el 99.9 % de los patógenos. En la fase termófila (55 °C) se logra eliminar el 99.999% de los mismos y de esta forma se pasteuriza el material (GVRD, 2000).

Sin embargo no se puede confiar ciegamente en que este proceso elimina la totalidad de los patógenos, puesto que investigaciones realizadas recientemente indican que algunos patógenos tienen un umbral térmico más alto que otros como por ejemplo el virus de la Hepatitis A. Además el tiempo y la temperatura necesaria para eliminar o reducir los peligros microbianos en el compost u otras materias orgánicas puede variar según el clima de la región y las prácticas concretas de gestión ambiental aplicadas en cada caso (FAO, 2000).

Para Nadaffi *et al.*, (2004) el vermicompostaje es una técnica sencilla y económica que permite remover patógenos de los lodos residuales y transformarlos en un excelente acondicionador de los suelos además de ser un producto de buena calidad agronómica. De manera similar Panikkar *et al.* (2004) destacan que la mayoría de los organismos patógenos a humanos entre ellos los hongos y levaduras, son eliminados por las lombrices, durante el proceso ya mencionado. En el mismo sentido los estudios de Eastman *et al.* (2001)

lograron reducir la carga de patógenos (*Salmonella*, *E. coli*, virus entéricos y huevos de helmintos) en lodos con tratamiento de vermicompostaje. Estos autores mencionan que el vermicompostaje reduce la carga o presencia de hongos y levaduras, lo anterior debido a la presencia de la flora microbiana que juntamente con las lombrices trabajan en este proceso.

## **2.12.- Relevancia de las soluciones nutritivas**

Actualmente, en la horticultura existe una tendencia hacia la producción intensiva, con el objetivo de aumentar la productividad y la calidad de los alimentos. Esta tendencia conduce en muchos casos, a un uso poco eficiente de los recursos naturales, entre ellos el agua y los elementos nutritivos. Las técnicas de cultivo sin suelo o hidropónicas son reconocidas como un componente importante en la agricultura que optimiza el abastecimiento hídrico y las dosis de fertilización en los cultivos. Sin embargo, uno de los principales problemas para la adopción del fertirriego es el desconocimiento de los parámetros para la generación de la solución nutritiva y la forma de suministrar los fertilizantes eficientemente (Martínez-Coral *et al.*, 2009).

El sistema de producción hidropónico requiere un continuo abastecimiento de elementos nutritivos, el cual se suministra por medio de una solución nutritiva (SN) que contiene los elementos esenciales para el óptimo desarrollo de los cultivos. El éxito de utilizar una solución nutritiva dependerá del conocimiento de cómo prepararla y manejarla, para así tener un aprovechamiento al máximo,

obteniendo mayores rendimientos de los cultivos y una mejor calidad de los frutos. El pH, la concentración iónica total (presión osmótica), determinada mediante la conductividad eléctrica; la relación mutua entre aniones, la relación mutua entre cationes, la concentración de amonio, la temperatura y el oxígeno disuelto, son factores fundamentales para preparar una SN (Favela *et al.*, 2006).

Esta innovación tecnológica en la agricultura ha permitido contar con mecanismos automáticos de cálculo de soluciones nutritivas. Partiendo de una fórmula estándar previamente diseñada que se ajusta de acuerdo con los requerimientos del cultivo dependiendo del desarrollo, etapa y condiciones de crecimiento. Estos sistemas realizan un diagnóstico nutrimental; sin embargo, se encuentran diseñados para un cultivo en particular lo que limita su utilización (Martínez-Coral *et al.*, 2009).

### **2.12.1 La solución de Steiner**

La solución Steiner es muy utilizada en cultivos comerciales fue creada por Steiner en 1984. Según Steiner (1961), la composición química de una SN está determinada por: a) el pH, b) la concentración total iónica (presión osmótica) dado que determina fuertemente el crecimiento, desarrollo y producción de una planta y c) las relaciones mutuas entre los aniones y los cationes. El concepto de relación mutua se basa en la mutua relación de aniones:  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  y  $\text{SO}_4^{2-}$  y la mutua relación de cationes  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y el pH (Libia *et al.*, 2012).

Una SN consta de agua con oxígeno y de todos los elementos nutritivos esenciales en forma iónica y eventualmente, de algunos compuestos orgánicos

tales como lo quelatos de hierro y de algún otro micro elemento que puede estar presente (Steiner, 1968).

Con base en los criterios de Steiner (1984) para las SN se puede modificar la relación porcentual de cualquier ion, manteniendo las relaciones mutuas entre cationes y entre aniones y la cantidad total de iones. Tal modificación debe hacerse dentro de ciertos límites de concentración relativa de los iones involucrados. De otra manera, la interacción entre los mismos puede influenciar fuertemente la absorción y la distribución o función de algún elemento nutritivo de la planta y, con ello, inducir deficiencias o toxicidades y, en consecuencia, modificar negativamente su crecimiento (Villegas *et al.*, 2005).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1.- Descripción del área experimental**

El establecimiento del cultivo del melón, del cual se obtuvieron los frutos para la realización del análisis microbiológico, se llevó a cabo en un invernadero de tipo cenital, con dimensiones de 8 x 20m, el cual cuenta con ventanas laterales, de 2x 20 m, cubiertas con malla antiafidos con extractor al fondo, riego por goteo y piso de grava, termómetro de máximas y mínimas, y está protegido con malla sombra al 50% durante las estaciones más calurosas del año, el invernadero pertenece al Cuerpo Académico Sistemas Sustentables para la Producción Agropecuaria (CASISUPA), de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro UL., localizada en Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe s/n, Torreón Coahuila, la cual está ubicada a 25° 05' y 26° 54' N; y 101° 40' y 104° 45' O, con una altitud de 1122 msnm, una temperatura media anual entre 20 y 22°C y con una precipitación media anual de 253 mm (CONAGUA, 2010).

### 3.2.- Establecimiento del cultivo

El desarrollo del cultivo del melón, Var. Cantaloupe SSC 160 F1, se llevó a cabo durante el ciclo Primavera-Verano; durante los meses Febrero - Julio de 2013. Como sustratos se utilizaron mezclas de diferentes abonos orgánicos [compost simple (CS), compost con yeso (CY) y vermicompost (VC)] con arena de río (AR), como material inerte (cuadro 2). Los tratamientos obtenidos (T0-T12) se distribuyeron dentro del invernadero en un diseño experimental de bloques completamente al azar, con tres repeticiones. El manejo agronómico del melón se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Moreno-Reséndez *et al.*, (2010).

**Cuadro 2. Volúmenes de agua aplicados por maceta y tratamientos evaluados durante el desarrollo del melón bajo condiciones controladas.**

| VR                        | VC:AR (T)        | CS:AR (T) | CY:AR (T)             |                   |
|---------------------------|------------------|-----------|-----------------------|-------------------|
| (L·maceta <sup>-1</sup> ) | Relación volumen |           |                       | Testigo (T01-T04) |
| 0.5                       | 1:1 (T1)         | 1:1 (T2)  | 1:1 (T3)              | AR al 100% + SN   |
| 1.0                       | 1:2 (T4)         | 1:2 (T5)  | 1:2 (T6)              | AR al 100% + SN   |
| 1.5                       | 1:3 (T7)         | 1:3 (T8)  | 1:3 (T9) <sup>¶</sup> | AR al 100% + SN   |
| 2.0                       | 1:4 (T10)        | 1:4 (T11) | 1:4 (T12)             | AR al 100% + SN   |

VC= Vermicompost; CS= Compost simple; CY= Compost con yeso; AR= Arena de río; SN= Solución nutritiva de Steiner (1994); T= Tratamiento (T0-T12); <sup>¶</sup>=Sin fruto para evaluar, VR=Volumen de riego

### 3.3.- Manejo en invernadero

Antes de establecer el cultivo se acondicionó el invernadero y se adquirieron los materiales y sustratos a utilizar. La siembra se realizó el día 9 de febrero del

año 2013, en charolas de germinación de 200 celdillas rellenas de Peat moss (Premier®) y las plántulas fueron trasplantadas el día 27 de marzo del mismo año, en bolsas de polietileno negro, tipo vivero, calibre 500, que fueron colocadas a doble hilera, con arreglo a tresbolillo, a una distancia entre plantas de 30 cm. El cultivo se desarrolló (figura 2) a un solo tallo, eliminando los brotes secundarios, el tallo principal fue tutorado con rafia y también se colocaron mallas a base de polietileno para evitar el desprendimiento de los frutos.

Durante el desarrollo del cultivo se registró la temperatura obteniéndose como temperatura promedio una máxima de 39°C y una mínima de 13°C. Se aplicó un producto orgánico llamado Resistens (producto orgánico 2 - 4 L·ha<sup>-1</sup>), cuyo ingrediente activo es: Silicato de Potasio al 40 % como corrector de microelementos. Aplicándose 2.8 mL de producto en 8.0L de agua. También se presentaron problemas con mosquita blanca y tizón temprano, para el control de mosquita blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius, 1889), se colocaron cinco trampas amarillas de forma alterna entre las dos hileras y se utilizó un producto a base de extractos vegetales llamado Temigard (40 mL·8L<sup>-1</sup> de agua), también se realizó la aplicación de Imidacloprid (5 mL·8 L<sup>-1</sup> de agua), ambos productos con un intervalo de aplicación de siete días y otras formas de control como lo son agua con jabón y una aspiradora eléctrica. Mientras que para el Tizón temprano (*Alternaria cucumarina*) se aplicó un fungicida cuyo ingrediente activo es clorotalonil (8 g·8L<sup>-1</sup> de agua), y como control cultural se eliminaron las hojas y plantas con síntomas avanzados. Esta aplicación se realizó cada cinco días.



**Figura 2. Manejo en invernadero de melón Cantaloupe**

### **3.4. Caracterización físico-química de las mezclas de abonos orgánicos a utilizar.**

La caracterización físico-química se llevó a cabo en el laboratorio de suelos de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro UL., para evaluar la calidad de los diferentes sustratos utilizados con sus respectivas mezclas (cuadro 3), se determinaron pH, CE, mediante métodos potenciométricos, contenido de materia orgánica por el método de Walkley y Black, contenido de elementos nutritivos como Nitrógeno mediante el método de Kjeldahl, Fósforo con el método de Olsen modificado, mientras para Ca, Mg y Na, se utilizó el espectrómetro de absorción atómica.

**Cuadro 3. Análisis químico para evaluar la calidad de los diferentes sustratos que se utilizaron durante el desarrollo del cultivo de melón con sus respectivas mezclas.**

| Sustrato | VR<br>(L·maceta <sup>-1</sup> ) | T              | R:V | pH   | CE<br>(ms·cm <sup>-1</sup> ) | Ca<br>(meq·L <sup>-1</sup> ) | Mg<br>(meq·L <sup>-1</sup> ) | Na<br>(meq·L <sup>-1</sup> ) |
|----------|---------------------------------|----------------|-----|------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| CS       | -                               | -              | -   | 7.68 | 72.5                         | 35.29                        | 8.2                          | 681.51                       |
| VC       | -                               | -              | -   | 7.99 | 18.89                        | 37.13                        | 7.2                          | 144.57                       |
| CY       | -                               | -              | -   | 7.33 | 82.8                         | 39.82                        | 7.2                          | 780.98                       |
| AR       | -                               | -              | -   | 8.02 | 1.032                        | 11.86                        | 0.82                         | -2.36                        |
| CS       | 0.5                             | 2              | 1:1 | 7.80 | 63.4                         | 34.92                        | 7.2                          | 591.88                       |
| CS       | 1.0                             | 5              | 1:2 | 7.83 | 38.1                         | 40.56                        | 20.57                        | 319.87                       |
| CS       | 1.5                             | 8              | 1:3 | 7.75 | 26.8                         | 41.78                        | 20.57                        | 205.65                       |
| CS       | 2.0                             | 11             | 1:4 | 7.65 | 22.9                         | 42.03                        | 18.51                        | 168.46                       |
| VC       | 0.5                             | 1              | 1:1 | 7.99 | 12.71                        | 13.92                        | 9.05                         | 104.13                       |
| VC       | 1.0                             | 4              | 1:2 | 7.94 | 10.21                        | 26.56                        | 6.58                         | 68.96                        |
| VC       | 1.5                             | 7              | 1:3 | 7.95 | 8.90                         | 24.26                        | 7.4                          | 57.34                        |
| VC       | 2.0                             | 10             | 1:4 | 8.25 | 8.65                         | 19.36                        | 3.1                          | 64.04                        |
| CY       | 0.5                             | 3              | 1:1 | 7.69 | 53.2                         | 39.21                        | 7.2                          | 485.59                       |
| CY       | 1.0                             | 6              | 1:2 | 7.67 | 42.6                         | 37.99                        | 8.2                          | 379.81                       |
| CY       | 1.5                             | 9 <sup>†</sup> | 1:3 | 7.60 | 39.4                         | 49.87                        | 24.69                        | 319.44                       |
| CY       | 2.0                             | 12             | 1:4 | 7.59 | 31.7                         | 46.07                        | 22.63                        | 248.3                        |

VC= Vermicompost; CS= Compost simple; CY= Compost con yeso; AR= Arena de río; T= Tratamiento (T0-T12); <sup>†</sup>=Sin fruto para evaluar, VR=Volumen de riego, R:V = Relación volumen: VC:AR - CS:AR - CY:AR; CE= Conductividad eléctrica, Ca= Calcio, Mg=Magnesio, Na=Sodio.

### 3.5.- Muestreo de frutos

Durante el experimento se realizaron tres muestreos, con fechas de 4, 9 y 16 de Julio del 2013. Cada muestreo se realizó a las 7:00 h, el cual consistió en muestrear los 12 tratamientos de los 13 que se establecieron en el experimento recuperando cuatro frutos por tratamiento (Figura 3). Esta actividad se realizó de acuerdo a la norma NOM 109-SSA1-1994. Para lo cual se utilizaron materiales estériles (guantes, batas, tapabocas, tijeras). Los cortes se realizaron de acuerdo a la maduración de los frutos de cada tratamiento, se cortó la malla de polietileno utilizada para mantener adheridos los frutos a las

plantas, cuidando de tener el más mínimo contacto con el fruto, ya cortada la malla se acercó la bolsa transparente donde se depositó el fruto, colectados los cuatro frutos en diferentes bolsas se le agregaron, a cada bolsa con fruto 225 mL de agua peptonada al 1 % para realizar el lavado del fruto (exocarpio) mediante agitación manual durante un minuto, posteriormente se elaboró una mezcla compuesta del enjuague de los cuatro frutos y esta se depositó en frascos de 450 mL., de boca ancha con tapa, una vez colectadas las muestras tanto de fruto y enjuague se identificaron con los siguientes datos: número de tratamiento, relación de la mezcla y volumen de agua de riego y para no alterar las condiciones de los frutos se colocaron en hieleras para su conservación durante el traslado hacia el Laboratorio de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Orientados a la Salud (CyTAOS) de la Escuela de Ciencias Biológicas, U A de C, Unidad Torreón.



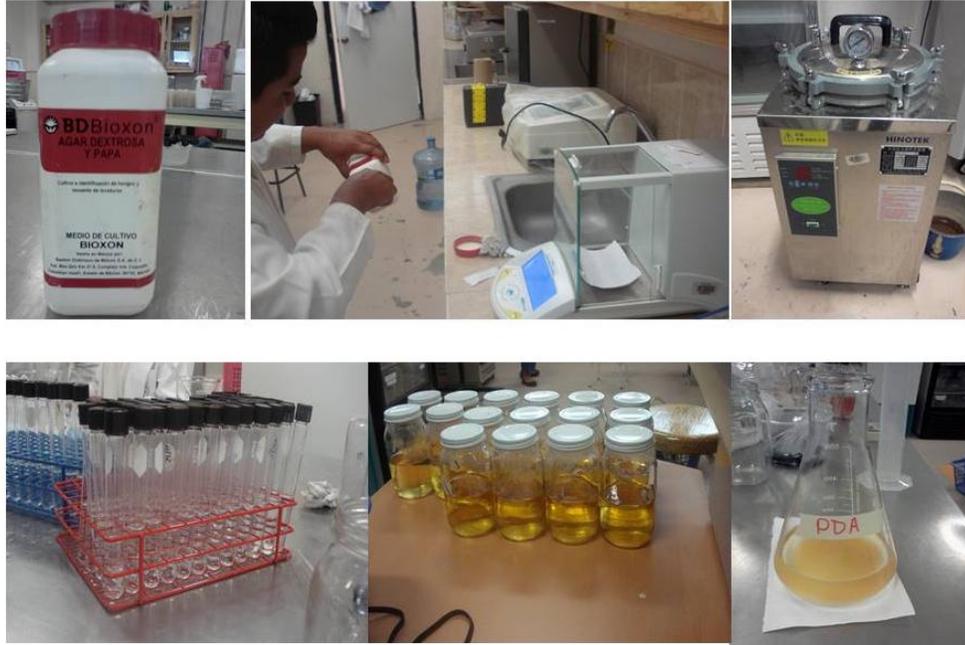
**Figura 3. Material y procedimiento utilizado para la toma de muestras de frutos de melón**

### **3.6.- Análisis de frutos**

Los análisis microbiológicos de los frutos se llevaron a cabo en el laboratorio General y en el laboratorio del CyTAOS de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Coahuila, Unidad Torreón.

#### **3.6.1.- Preparación de medios y soluciones**

La preparación de las soluciones diluyentes de peptona de caseína al 1 % y la solución salina (0.85 %) se realizaron según se indica en la Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y Servicios (figura 4). Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Se depositaron 250 mL de peptona al 1% en 16 frascos de vidrio de 500 mL de boca ancha con tapa de rosca y la solución salina en 48 tubos de vidrio con tapón de rosca de 18x150 mm. El medio de cultivo PDA y las soluciones se prepararon un día antes de cada muestreo y se esterilizaron en la autoclave a una temperatura de 121 °C durante 15 min.



**Figura 4. Preparación de medios y soluciones utilizadas para el análisis microbiológico de los frutos de melón**

### **3.6.2.- Acondicionamiento del área de trabajo**

Antes de iniciar el análisis bacteriológico, se limpiaron las mesas de trabajo con jabón líquido e hipoclorito de sodio (0.5 %), posteriormente se limpió con toallitas SANI- WIPE (sanitizante de contacto) este procedimiento se realizó al inicio de cada actividad para garantizar la inocuidad de la superficie de trabajo, enseguida se procedió a trabajar en un área completamente estéril para lo cual se montaron dos mecheros por mesa, uno en cada extremo de la misma (figura 5).

Cabe mencionar que todo el material utilizado fue correctamente identificado con los siguientes datos: determinación de análisis, número de tratamiento, dilución y repetición.



**Figura 5. Acondicionamiento del área a trabajar en el laboratorio del CyTAOS, Escuela de Ciencias Biológicas, U A de C – Unidad Torreón.**

### **3.6.3.- Determinación de hongos y levaduras en pulpa**

Con el material y el área de trabajo listos para los análisis, se extrajeron los frutos de melón de las hieleras portátiles y se colocaron en tablas de plástico (Línea Gourmet, Tecniplast México S. A. de C. V®) previamente desinfectadas, se eliminó la cascara y las semillas de cada fruto de melón, la mitad del fruto se cortó en forma de cubos, de aproximadamente  $0.5 \text{ cm}^3$ , los cuales fueron colocados en bolsas de plástico con cierre (Bolsa Hermética Ziploc Multi-Pack con Cierre Dentado®), actividad que se repitió para los cuatro frutos por tratamiento (figura 6).

La muestra completa se homogenizó manualmente durante un minuto y de esta mezcla se pesaron 10 g de pulpa que fueron agregados a cuatro frascos de 250 mL., ya identificados que contenían 90 mL de peptona de caseína para obtener la dilución  $10^{-1}$ , inmediatamente se procedió a colocar 1 mL de la dilución en los tubos de solución salina para generar las diluciones  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  y de cada dilución se realizaron tres repeticiones. De cada dilución se colocó 1 mL en las cajas Petri previamente etiquetadas con marcadores indelebiles identificando el tratamiento, la repetición y la dilución correspondiente, teniendo el mayor cuidado de trabajar dentro del área estéril de tal manera de no contaminar las cajas Petri. Después de haber agregado la dilución correspondiente a cada caja se le adicionaron 15 mL del medio de cultivo PDA, medio de cultivo específico para el crecimiento de hongos y levaduras. Se mezcló cuidadosamente el medio con seis movimientos de derecha a izquierda, seis en el sentido de las manecillas del reloj, seis en el sentido contrario y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa. Se dejó solidificar el medio de cultivo dejando reposar las cajas Petri sobre una superficie horizontal fría durante 20 minutos. Una vez solidificados se colocaron las cajas Petri de forma invertida, en la incubadora (Biochemical Incubator Hinotek ®) a  $37\pm 2$  °C por 48 horas.

El conteo de las unidades formadoras de colonias (UFC) se realizó con cuenta colonias (Reichert Quebec®. Darkfield Colony Counter). El conteo de hongos se realizó después de que las cajas Petri se mantuvieron a temperatura ambiente por cinco días.



**Figura 6. Determinación de hongos y levaduras en pulpa de melón desarrollado en diferentes abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua en invernadero.**

#### **3.6.4.- Determinación de hongos y levaduras en enjuague**

Para este análisis (figura 7), los frascos del enjuague, ya contenían las mezclas compuestas, pues éstas se obtuvieron desde el momento del muestreo como se indicó previamente. Para realizar el análisis se agregaron 10 mL del enjuague en frascos de 250 mL que contenían 90 mL de agua peptona, y de esta manera se generó la dilución  $10^{-1}$ ; para la dilución  $10^{-2}$ , se mezcló 1 mL de la muestra con 9 mL de Solución salina ( $0.85 \text{ g de NaCl} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$  de agua) depositándose en un tubo de ensaye; Para la dilución  $10^{-3}$  se obtuvo 1 mL de la dilución  $10^{-2}$  y se mezcló con 9 mL de Solución Salina ( $0.85 \text{ g de NaCl} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$

<sup>1</sup>de agua). Se utilizó un tubo de ensaye para cada una de las diluciones en cada una de las repeticiones. Inmediatamente después, con ayuda de una pipeta de plástico y puntillas estériles se agregaron a cada caja Petri 1 mL de cada dilución, cuidando siempre trabajar en área estéril y no contaminar la caja Petri. Después se adicionaron 15 mL del medio de cultivo PDA para promover el crecimiento de hongos y levaduras. Para homogenizar los medios de cultivo se realizaron movimientos en forma de ochos y posteriormente se permitió su solidificación, una vez alcanzada la solidificación las cajas Petri se colocaron de forma invertida, en la incubadora (Biochemical Incubator Hinotek ®) a una temperatura de  $37\pm 2$  °C por un periodo de 48 horas. El conteo de las UFC se realizó con cuenta colonias (Reichert Quebec®. Darkfield Colony Counter). El conteo de levaduras se realizó una vez transcurridas las 48 horas ya mencionadas.



**Figura 7. Determinación de hongos y levaduras en el enjuague del exocarpio de los frutos de melón desarrollados en diferentes sustratos orgánicos y diferentes volúmenes de agua bajo condiciones de invernadero.**

### **3.6.5.- Macro-cultivo de hongos seleccionados durante el recuento**

De cada caja Petri donde se registró crecimiento de los hongos (figura 8) se realizó un macro-cultivo, para esto se utilizó una área estéril con la ayuda de dos mecheros que fueron colocados en los extremos de la mesa de trabajo, para este análisis se utilizaron 4.68 g de PDA los cuales fueron diluidos en 120 mL de agua destilada, que se adicionaron a 10 cajas Petri agregando 12 mL del medio en cada una de ellas, una vez solidificado el medio de crecimiento se seleccionaron las cajas Petri que presentaron presencia de hongos, tomando con un asa ya esterilizada parte del inóculo del hongo, se sembró en la parte media de la caja Petri que contenía medio de cultivo, todas las cajas que fueron sembradas se dejaron a temperatura ambiente durante cinco días, una vez desarrollados los hongos, se colocaron a refrigeración a 2 °C (Helmer® modelo iLR256) y posteriormente estos se observaron con un microscopio compuesto (Carl Zeiss ® modelo 19035814) para su debida identificación

En los dos muestreos restantes se aplicó la misma metodología para la determinación de hongos y levaduras.



**Figura 8. Macrocultivo de hongos seleccionados durante el recuento de hongos y levaduras presentes en frutos de melón desarrollados en diferentes abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua bajo condiciones de invernadero.**

### **3.7 Identificación de hongos sembrados en las cajas Petri.**

La identificación de hongos se realizó en el laboratorio número de dos del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Para esto se tomó con la aguja de disección parte del inoculo que contenían las cajas Petri e inmediatamente fue depositado en un porta y cubre objetos para poder ser montado en el microscopio compuesto (Carl Zeiss ® modelo 19035814) para su debida identificación (figura 9).



**Figura 9. Identificación de géneros de hongos seleccionados durante el recuento de hongos y levaduras presentes en frutos de melón desarrollados en diferentes abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua bajo condiciones de invernadero.**

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del estudio bacteriológico se presentan en el Cuadro 4. En la muestra compuesta del enjuague de la parte externa de los frutos, los tratamientos que presentaron números considerables de UFC de levaduras fueron: T0 (AR 100%), T1 (VC:AR;1:1), T3 (CY:AR;1:1), T4 (VC:AR;1:2), T7 (VC:AR;1:3) y T12 (CY:AR;1:4), en las tres diluciones ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ), con intervalos de 500 a 123, 333 UFC•mL<sup>-1</sup>. Mientras los resultados de la determinación de hongos en la parte externa del melón, se encontró que los tratamientos: T0 (AR 100%), T1 (VC:AR;1:1), T2 (CS:AR;1:1), T3 (CY:AR;1:1), T5 (CS:AR;1:2), T8 (CS:AR;1:3), T10 (VC:AR;1:4) y T12 (CY:AR;1:4), en la dilución  $10^{-1}$ , presentaron UFC, así como la dilución  $10^{-2}$  en los tratamientos T0 (AR 100%) y T1 (VC:AR;1:1), obteniéndose valores que oscilan de 6 a 100 UFC•mL<sup>-1</sup>. Sólo los tratamientos T4 (VC:AR;1:2), T6 (CY:AR;1:2) y T7 (VC:AR;1:3), no presentaron desarrollo de hongos en la parte externa del melón.

En el análisis de la pulpa del melón, se observó presencia de UFC de levaduras en los tratamientos: T1(VC:AR;1:1), T3 (CY:AR;1:1), T4 (VC:AR;1:2), T7 (VC:AR;1:3) y T12 (CY:AR;1:4) en las diluciones  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$  reflejaron valores entre 100 a 8833 UFC•g<sup>-1</sup>. De este análisis solo en el T11 (CS:AR;1:4), no hubo desarrollo de levaduras en ninguna dilución y repetición. Por otro lado en el análisis para determinar hongos en pulpa, solo en el tratamiento T10

(VC:AR;1:4), dilución  $10^{-1}$ , repeticiones 1 y 3, se obtuvieron valores de 160 y 60 UFC•g<sup>-1</sup>, mientras en todos los demás tratamientos no se reportó presencia de hongos.

El recuento de hongos y levaduras de enjuague (E) de la parte externa del melón así como en la pulpa (P), no sobrepasó el nivel de 150, 000 UFC•g<sup>-1</sup> o UFC•mL<sup>-1</sup> para frutas y verduras establecido en la NOM-093-SSA1-1994 (cuadro 1), el cual es el límite máximo microbiológico permisible para microorganismos mesofílicos aerobios (bacterias, hongos y levaduras), para alimentos. Aunque se registraron tratamientos que superaron valores que oscilan entre 23 a 19,000 UFC•g<sup>-1</sup> o UFC•mL<sup>-1</sup>, reportados en el tratamiento testigo, estos tratamientos fueron: T1 (VC:AR;1:1;E-P), T3 (CY:AR; 1:1;P), T4 (VC:AR;1:3;E-P), T7 (VC:AR;1:3;P) y T12 (CY:AR;1:4;E-P) en el análisis para levaduras y el T10 (VC:AR; 1:4; P) para la determinación de hongos. Lo que indica que las mezclas de CY:AR;1:1,1:4 y VC:AR;1:1, 1:3 y 1:4, no favorecieron la reducción de organismos patógenos respecto al testigo.

**Cuadro 4. Valores promedio de resultados del análisis de levaduras y hongos de la pulpa y enjuague de frutos de melón desarrollados con abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua bajo condiciones de invernadero**

| T                     | R        | Levaduras                                   |                  |                  |   |                  |                  | Hongos                                      |                  |                  |   |                  |                  |
|-----------------------|----------|---|------------------|------------------|---|------------------|------------------|---|------------------|------------------|---|------------------|------------------|
|                       |          | Diluciones (Enjuague UFC•mL <sup>-1</sup> ) |                  |                  | Diluciones (Pulpa UFC•g <sup>-1</sup> ) |                  |                  | Diluciones (Enjuague UFC•mL <sup>-1</sup> ) |                  |                  | Diluciones (Pulpa UFC•g <sup>-1</sup> ) |                  |                  |
|                       |          | 10 <sup>-1</sup>                            | 10 <sup>-2</sup> | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-1</sup>                        | 10 <sup>-2</sup> | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-1</sup>                            | 10 <sup>-2</sup> | 10 <sup>-3</sup> | 10 <sup>-1</sup>                        | 10 <sup>-2</sup> | 10 <sup>-3</sup> |
| T0<br>AR<br>(100%)    | n =<br>3 | 663   | 10366            | 1900             | 23                                      | NP               | 666              | 66  | 66               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T1<br>VC:AR<br>(1:1)  | n =<br>3 | 500   | 29266            | 123333           | 5400                                    | 8833             | 4000             | 26  | 100              | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T2<br>CS:AR<br>(1:1)  | n =<br>3 | 156   | 100              | 333              | 3                                       | NP               | NP               | 13  | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T3<br>CY:AR<br>(1:1)  | n =<br>3 | 1500  | 3900             | 5666             | 186                                     | 366              | NP               | 20  | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T4<br>VC:AR<br>(1:2)  | n =<br>3 | 4050  | 24000            | 100666           | 113                                     | 133              | NP               | NP  | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T5<br>CS:AR<br>(1:2)  | n =<br>3 | 26  | 33               | NP               | NP                                      | NP               | 666              | 6   | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T6<br>CY:AR<br>(1:2)  | n =<br>3 | 20  | 233              | NP               | 3                                       | NP               | NP               | NP  | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T7<br>VC:AR<br>(1:3)  | n =<br>3 | 1656  | 5433             | 3133             | 403                                     | 1766             | 1000             | NP  | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T8<br>CS:AR<br>(1:3)  | n =<br>3 | 33  | 66               | NP               | 3                                       | NP               | NP               | 13  | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T9 <sup>¶</sup>       | -        | SF  | SF               | SF               | SF                                      | SF               | SF               | SF  | SF               | SF               | SF                                      | SF               | SF               |
| T10<br>VC:AR<br>(1:4) | n =<br>3 | 123   | 100              | NP               | 23                                      | NP               | NP               | 6   | NP               | NP               | 73                                      | NP               | NP               |
| T11<br>CS:AR<br>(1:4) | n =<br>3 | 23  | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               | 6   | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |
| T12<br>CY:AR<br>(1:4) | n =<br>3 | 18716                                       | 7833             | 33666            | 180                                     | 100              | NP               | 16  | NP               | NP               | NP                                      | NP               | NP               |

T = Tratamientos (T0 – T12); R = Repetición; UFC = Unidades formadoras de colonias; NP = No presentó; <sup>¶</sup> = Sin desarrollo de frutos, VC= Vermicompost, CS=Compost simple, CY= Compost y Yeso, Relación volumen=1:1,1:2,1:3,1:4.

Comparando los resultados de Ávila *et al.* (2008) que trabajo en campo, con los resultados de este experimento que fueron bajo condiciones controladas y desarrollados con abonos orgánicos, los resultados obtenidos confirman la presencia de hongos con intervalos que van de 6 a 100 UFC•g<sup>-1</sup> o UFC•mL<sup>-1</sup> y

levaduras con valores que oscilan de 3 a 123 333 UFC•g<sup>-1</sup> o UFC•mL<sup>-1</sup>) obteniendo valores promedio de 10-145,000 UFC•g<sup>-1</sup>, que fueron superiores a lo reportado para Chile chilaca y Chile jalapeño (cuadro 5), con concentraciones de 1025- 1967 UFC•g<sup>-1</sup>.

**Cuadro 5. Análisis microbiológico en diferentes hortalizas.**

| Análisis                                   | Chile chilaca | Chile jalapeño | Chile serrano | Tomate saladette | Tomate grape | Melón |
|--|---------------|----------------|---------------|------------------|--------------|-------|
| Salmonella sp                              | ND            | ND             | ND            | ND               | ND           | ND    |
| <i>E. coli</i> (NMP•mL <sup>-1</sup> )     | 22*           | ND             | ND            | ND               | ND           | ND    |
| Coliformes totales (NMP•mL <sup>-1</sup> ) | 262           | 1398           | >1100         | 2,4              | NA           | NA    |
| Hongos y levaduras (UFC•mL <sup>-1</sup> ) | 1967          | 1025           | NA            | 1740             | NA           | NA    |

NMP = Número más probable; UFC = Unidades Formadoras de Colonias; NA = No Analizado; \* = No se refiere al serotipo 0157:H7; ND= No Detectable (Ávila *et al.*, 2008).

Ávila *et al.* (2008), registro en durazno una concentración alta de 10,300 UFC•mL<sup>-1</sup> (cuadro 6) debido a la textura de su cascara, lo cual favoreció el establecimiento de las esporas que se encuentran en el ambiente, coincidiendo que melón presenta epidermis rugosa y los resultados muestran que en el análisis del enjuague hubo concentraciones de hasta 123, 333 UFC•mL<sup>-1</sup>, podemos corroborar que la textura de la cascara del melón favoreció el establecimiento de esporas.

**Cuadro 6. Análisis microbiológico en diferentes frutas.**

| Análisis                                      | Manzana Starkimson | Manzana Golden | Durazno |
|---|--------------------|----------------|---------|
| <i>Salmonella</i> spp.                        | ND                 | ND             | ND      |
| <i>E. coli</i> (NMP•mL <sup>-1</sup> )        | ND                 | ND             | 0.2*    |
| Coliformes totales<br>(NMP•mL <sup>-1</sup> ) | ND                 | 0.08           | 178     |
| Hongos y Levaduras<br>(UFC•mL <sup>-1</sup> ) | 21                 | 241            | 10,300  |

NMP= Número más probable; UFC= Unidades formadoras de colonia; \*= No se refiere el serotipo 0157:H7; ND= No Detectable (Ávila *et al.*, 2008).

Respecto a la reducción de organismos patógenos se corrobora lo mencionado por Sánchez-Monedero *et al.*, (2002) que dice que los procesos de descomposición de la M.O (compostaje tradicional y el vermicompostaje), elimina la mayoría de los microorganismos patógenos lo que otorga un alto grado de seguridad de uso. Coincidentes con la literatura respecto al vermicompost de buena calidad (Cony, 2005). Cabe mencionar que la disminución de estos organismos patógenos varía dependiendo de los sustratos y las condiciones del proceso (Soto, 2003). De acuerdo a las bajas concentraciones UFC en el análisis de pulpa, se constata lo mencionado anteriormente, debido a que cada tratamiento utilizado favoreció la inocuidad del melón en el análisis de pulpa. Mientras para el análisis de enjuague se presentó mayor número UFC de hongos y levaduras, coincidiendo con Camacho., *et al.*, (2009), siempre habrá un riesgo de contaminación de hongos y levaduras debido a que éstos pueden representar el 70% de la población microbiana y constituyen el segundo de los dos grandes grupos de microorganismos del suelo y están ampliamente distribuidos en la naturaleza, anudando a ello el grado de exposición al que la fruta está expuesta.

De acuerdo a los resultados obtenidos durante este análisis para determinar géneros de hongos tanto en pulpa como el enjuague del exocarpio de los frutos de melón se observó que el máximo crecimiento de hongos se obtuvo en el análisis del enjuague en la mayoría de los tratamientos excepto en los tratamientos T4 (VC:AR;1:2), T6 (CY:AR;1:2) y T7 (VC:AR;1:3). Mientras para análisis de la pulpa solo se observó el desarrollo de *Alternaria cucumerina* el tratamiento T10 (VC:AR;1:4; dilución  $10^{-1}$ ; en repeticiones 1 y 3).

En base a lo anterior se identificaron géneros de hongos como *Pythium* spp., *Mycovellosiella* spp., *Alternaria* spp., *Helminthosporium* spp., *Penicillium* spp. y *Aspergillus* spp., (cuadro 7), siendo los más frecuentes fueron: *Alternaria* spp., *Aspergillus* spp., y *Penicillium* spp., estos hongos, se aislaron en casi todos los tratamientos del análisis del enjuague. Concordando con Atlas y Bartha (2005), que afirman que, las especies más encontradas de hongos, en los materiales de los compost, son los géneros *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., y *Trichoderma* spp.

Otro estudio realizado por Adegunloye *et al.*, (2007), sobre el análisis microbiano de compostaje, utilizando estiércol de vaca como inóculo, reportaron, que la población de hongos *Aspergillus niger*, fue el más predominante, le siguieron: *Aspergillus flavus*, *Aspergillus rapens*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor mucedo*, *Fusarium* spp., *Aspergillus fumigatus*, *Varicosporium* spp., lo que explica la presencia del género *Aspergillus* spp., en el análisis bacteriológico, cabe mencionar que durante el desarrollo de cultivo se presentó una enfermedad denominada Tizón temprano, provocada por un hongo llamado

*Alternaria cucumerina*, que da razón a la presencia de éste hongo tanto en el análisis de pulpa como en el enjuague.

**Cuadro 7. Resultados de la identificación de géneros de hongos que se desarrollaron en el macrocultivo que se sembró durante el análisis de frutos de melón desarrollados con abonos orgánicos y diferentes volúmenes de agua.**

| Mezcla | VR<br>(L•maceta <sup>-1</sup> ) | T              | R-V  | Dilución         | Análisis<br>Pulpa | Análisis<br>Enjuague | Género de hongo<br>identificado     | Muestreo |
|--------|---------------------------------|----------------|------|------------------|-------------------|----------------------|-------------------------------------|----------|
| AR     | 0.5-2.0                         | 01-04          | 100% | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Penicillium<br/>aurantiaacum</i> | 1        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus spp.</i>             | 1        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus spp.</i>             | 1        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus spp.</i>             | 1        |
| VC:AR  | 0.5                             | 1              | 1:1  | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Helminthosporium spp.</i>        | 2        |
| CS:AR  | 0.5                             | 2              | 1:1  | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus spp.</i>             | 3        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Alternaria cucumerina</i>        |          |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Alternaria cucumerina</i>        |          |
| CY:AR  | 0.5                             | 3              | 1:1  | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus niger</i>            | 2        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Alternaria cucumerina</i>        | 2        |
| VC:AR  | 1.0                             | 4              | 1:2  | -                | -                 | -                    | -                                   | -        |
| CS:AR  | 1.0                             | 5              | 1:2  | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus niger</i>            | 3        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Alternaria cucumerina</i>        | 3        |
| CY:AR  | 1.0                             | 6              | 1:2  | 10 <sup>-3</sup> |                   | X                    | <i>Pythium ultimum</i>              | 1        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Penicillium digitatum</i>        | 1        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus niger</i>            | 1        |
| VC:AR  | 1.5                             | 7              | 1:3  | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Mycovellosiella fulva</i>        | 1        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-2</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus niger</i>            | 1        |
| CS:AR  | 1.5                             | 8              | 1:3  | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Pythium ultimum</i>              | 3        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Alternaria cucumerina</i>        | 3        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Penicillium digitatum</i>        | 3        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Mycovellosiella fulva</i>        | 3        |
| CY:AR  | 1.5                             | 9 <sup>¶</sup> | 1:3  | -                | -                 | -                    | -                                   | -        |
| VC:AR  | 2.0                             | 10             | 1:4  | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Alternaria cucumerina</i>        | 2        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Alternaria cucumerina</i>        | 2        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> | X                 |                      | <i>Alternaria cucumerina</i>        | 2        |
| CS:AR  | 2.0                             | 11             | 1:4  | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus niger</i>            | 3        |
|        |                                 |                |      | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Alternaria cucumerina</i>        | 3        |
| CY:AR  | 2.0                             | 12             | 1:4  | 10 <sup>-1</sup> |                   | X                    | <i>Aspergillus spp.</i>             | 2        |

VC= Vermicompost; CS= Compost simple; CY= Compost con yeso; AR= Arena de río; T= Tratamiento (T0-T12); <sup>¶</sup>= Sin fruto para evaluar, VR=Volumen de riego, R-V = Relación volumen: VC:AR - CS:AR - CY:AR.

En las figuras 10 a 17 se aprecia el desarrollo de los diferentes géneros de hongos que fueron sembrados en el macrocultivo y que a su vez fueron identificados.

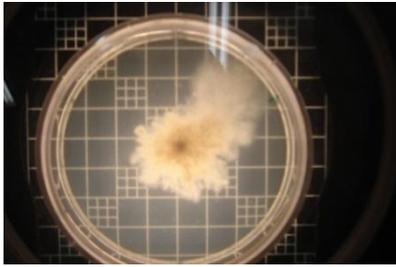


Figura 10. Cepa de *Pythium ultimum*

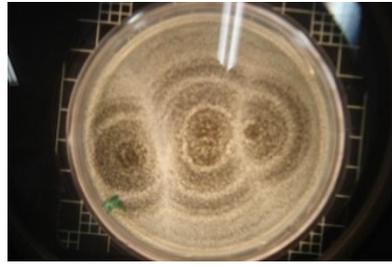


Figura 13. Cepa de *Aspergillus niger*

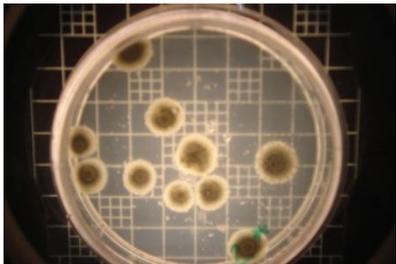


Figura 12. Cepa de *Penicillium digitatum*

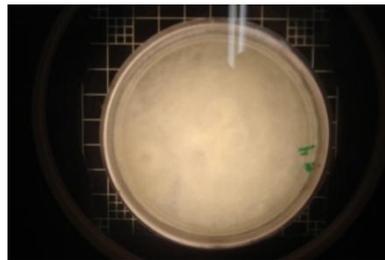


Figura 14. Cepa de *Aspergillus* spp.

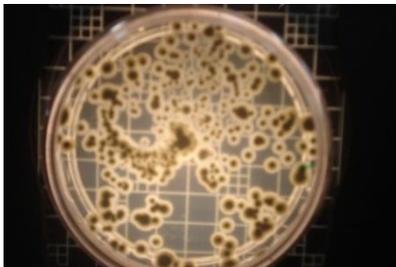


Figura 11. *Mycovellosiella fulva*

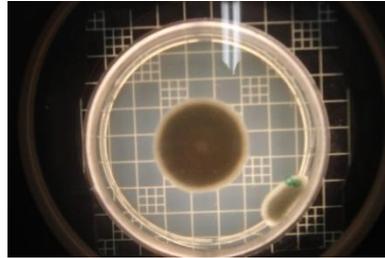


Figura 15. Cepa de *Alternaria cucumerina*



Figura 16. Cepa de *Helminthosporium* spp.



Figura 17. Cepa de *Penicillium aurantia*

## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a la metodología utilizada y a los resultados obtenidos en el experimento para determinar la presencia de hongos y levaduras en la parte externa e interna de los frutos de melón, se concluye que los abonos orgánicos, junto con diferentes volúmenes de agua y bajo condiciones de invernadero, favorecen la inocuidad de los frutos de melón, respecto a la presencia de organismos patógenos. Así, estos resultados son un apoyo a la agricultura orgánica como una alternativa más para las personas que desean comer frutas inocuas que les garantice su bienestar al ingerirlas.

Los mayores índices de contaminación en el análisis de enjuague para determinación de levaduras lo presentaron los tratamientos: T1, T3, T4, T7 y T12, por lo que se debe tomar muy en cuenta el manejo de lavado y desinfección de una fruta o vegetal, como factor indispensable para prevenir una posible contaminación que pueda causar daños a la salud del consumidor. Mientras para el análisis de pulpa para la determinación de hongos y levaduras todos los tratamientos favorecieron la inocuidad de los frutos de melón.

Por otra parte los tratamientos: T2, T5, T6, T8, T10 y T11, en diferentes mezclas de VC:AR y CS:AR, presentaron menores índices de contaminación en el análisis del enjuague, siendo el compost simple el abono orgánico que favoreció la inocuidad de los frutos de melón, seguido del vermicompost.

A pesar de la presencia la presencia de hongos y levaduras en la parte interna y externa del fruto de melón desarrollados con diferentes abonos orgánicos, estos

no sobrepasan el límite máximo permisible establecido por la NOM NOM-093-SSA1-1994., por lo que sugieren tomar acciones correctivas que minimicen los riesgos de contaminación microbiológica durante el proceso de producción, distribución y comercialización del cultivo de melón.

## VI. LITERATURA CITADA

- Adegunloye, D. V., Adetuyi, F. C., Akinyosoye, F. A. And Doyeni, M. O. 2007. Microbial Analysis of Compost Using Cowdung as Booster. Pakistan Journal of Nutrition, 6 (5): 506-510.
- Atlas, R. and Barttha, L., 2005. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Pearson Educación, S. A. Madrid. 677.
- Avedaño, R. B., R. Schwentesius R. R., y Lugo, S. M. 2002. Inocuidad en hortalizas. ¿Beneficio para el consumidor o nueva barrera al comercio? Centro de Investigaciones Económicas, Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la Agricultura Mundial (CIESTAAM). Universidad Autónoma de Chapingo. 32 p.
- Ávila-Quezada, G., Sánchez, E., Muñoz, E., Martínez, L. R., Villalobos E. 2008. Diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México. Revista Internacional de Botánica Experimental. (77): 129-136.
- Bartz, J. and Showalter, R. K. 1981. Infiltration of tomatoes by aqueous bacterial suspensions. Phytopathology 71: 515-518.
- Borrego, F., López A., Fernández J.M., Muriño M., Rodríguez S.A., Reyes A., y Martínez J.M. 2001. Evaluación agronómica de melón (*Cucumis melo* L.) bajo condiciones de campo. Agronomía mesoamericana 12(1): 57-63.
- Buck, J. W., Walcott, R. R. and Beuchat, L. R. 2003. Recent trends in microbiological safety of fruits and vegetables. Plant health progress 10:10-94.
- Bulleman, LB., and Bianchini, A. 2007. Stability of mycotoxins during food processing. International Journal of Food Microbiology 119(1-2): 140-146.
- Cabañas A. y Mendoza C. 2006. Intoxicación por alimentos. Jano. 1458:33-4.
- Camacho, A., Giles, M., Ortegón, A., Palao, M., Serrano, B., y Velázquez, O. 2009. Técnicas para el Análisis. Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México. 13 p.
- Cantanhede, A., Monge, G. y Wharwoud, G. 2002. Compostificación de residuos de mercado de Lima. 69 p.
- Cony, M. 2005. Humus de lombriz. Un abono orgánico para la horticultura sustentable. Revista Tach. (4) 21 – 27.
- Cruz, C.E. 2010. Mezclas de vermicompost y tezontle, diseñadas mediante un programa de optimización en SAS, para el cultivo de tomate bajo invernadero e hidroponía. Tesis. Doctorado. Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo. 98 p.

- Dimas J., Antonio D., Martínez E., y Valdez R D. 2001. Abonos orgánicos y su efecto en propiedades físicas y químicas del suelo y rendimiento en Maíz. *TERRA* 19(4): 293-299.
- Doolotkeldieva, T. D. 2010. Microbiological Control of Flour-Manufacture: Dissemination of Mycotoxins Producing Fungi in cereal Products. *Microbiology Insights*. 3:1-15.
- Drusch, S. and Ragab, W. 2003. Mycotoxins in Fruits, Fruit Juices, and Dried Fruits. *Journal of food protection* 66(8): 1514-1527.
- Eastman, B.R., Kane, P.N., Edwards, C.A., Trytek, L., Gunadi, B., Stermer, A.L., Mobley, J.R. 2001. The effectiveness of vermicompost in human pathogen reduction for USEPA biosolids stabilization *Compost Science and Utilization* 9(1):38-40.
- Espinoza, A. J de J., Lozada, C. M. y Leyva, N. S. 2011. Posibilidades y restricciones para la exportación de melón Cantaloupe producido en el municipio de Mapimí, Dgo., México al mercado de los Estados Unidos. *Rev. Mexicana de Agronegocios*.15(28). 593-604
- FAO. 2000. Inocuidad y calidad de los alimentos en relación con la agricultura orgánica. 22 Conferencia Regional de la FAO para Europa. Oporto, Portugal. 24-28 de julio 2000.
- Favela, C. E., P. Preciado R., A. Benavides M. 2006. Manual para la preparación de soluciones nutritivas. UAAAN. 148 p.
- Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO). s/f. Anuarios de Producción. Varios años. Roma, Italia. Disponible en: [www.fao.org](http://www.fao.org). Fecha de consulta: 12-07-2013
- Food and Drug Administration (FDA). 2003. U.S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition. Foodborne Pathogenic Microorganisms and Natural Toxins Handbook. Salmonella spp. USA. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~mow/chap1.html>. Fecha de consulta: 10-01-2014.
- Food And Drug Administration (FDA). 2004. Detection of Salmonella in environmental samples from poultry houses, new microbiological methods. Bacteriological analytical manual, en: \Documents and Settings\Propietario\Misdocumentos\Otros\salmonella\FDA-CFSAN. Detection of Salmonella in Environmental Samples from Poultry Houses.htm.
- Food and Drug Administration Centre for Food Safety and Applied Nutrition (FDA CFSAN). 2001. Analysis and Evaluation of Preventive Control Measures for the Control and Reduction/Elimination of Microbial Hazards on Fresh and Fresh-Cut Produce. Disponible en: <http://www.cfsan.fda.gov/~comm/ift3-a.htm>. Fecha de consulta: 14-Oct-2013.
- Frank, J.F., G.L., Criste, and L.B. Bullerman. 1993. Test for groups of microorganisms. In. Marshall, R.T. (ed.). Standards methods for the microbiological examination of dairy products, 16th ed. American Public Health Association, Washington, D.C. 271-288 p.
- Fung, F and Clark, R. F. 2004. Health Effects of Mycotoxins: A Toxicological Overview. *Clinical Toxicology* 42(2): 217-234.

- Gallegos, R. M.A., A. Morales L., G. Álvarez O., E. Salazar S., C. Vázquez V., I. Orona C. 2009. Detección de Salmonella spp. En Melón (*Cucumis melo* L.) Mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Agricultura Orgánica. 2da. Ed. 220-232 p.
- Galloway, L.D. y Burgess R. 1952. Applied Mycology and Bacteriology 3rd Edition Leonard Hill, London. 54-57 p.
- Gerard J. Tortora., Berdell R. Funke., Christine L. Case. 2007. Introducción a la microbiología. 9th ed. Médica Panamericana, Buenos Aires. 988 pp.
- Gómez, Y. T., M. I. González., S. Chiroles. 2004. Cub@: Medio Ambiente y Desarrollo; Revista electrónica de la Agencia de Medio Ambiente. Año: 4(7). 21 p.
- Hernández, C. C., Ma. G. Aguilera A., G. Castro E. 2011. Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. Enfermedades infecciosas y microbiología. 31(4): 137-151.
- Hernández-Domínguez, C., A.M. Hernández A., C. Cháidez Q., G. Rendón S., and T. Suslow. 2008. Detección de Salmonella y coliformes fecales en agua de uso agrícola para la producción de melón "Cantaloupe". Agricultura Técnica en México. 34(1):15.
- Hernández-Rodríguez, O. A., D. L. Ojeda- Barrios, J.C. López-Díaz y A. M. Arras-Vota. 2010: Abonos orgánicos y su efecto en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. TECNOCENCIA Chihuahua 4(1):23-32.
- Ibarra-Sanchez, L.S., S. Alvarado-Casillas, M.O. Rodríguez-García, N.E. Martínez-Gonzales and A. Castillo. 2004. Internalization of bacterial pathogens in tomatoes and their control by selected chemicals. Journal of Food Protection 67: 1353-1358.
- Isidro-Requejo, L.M., M. Ramírez-Pérez, A. Vega-Piña, Ma. A. Chavira-Zuñiga, Ma. De L. Froto-Madariaga y P. Cano-Ríos. 2006. Identificación de la flora microbiana presente en la cadena agroalimentaria del melón (*Cucumis melo* L.). Revista Salud Pública y Nutrición (RESPYN). 1 p. Disponible en: <http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2006/ee-14-2006/documentos/Art44.pdf>. Fecha de recuperación: 28 de Septiembre de 2013.
- Juárez, L. P. 2011. Estructuras utilizadas en la agricultura protegida. Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit. Fuente Año 3(8): 21-27 p.
- Julca-Otiano A., L. Meneses F., R. Blas S., S and Bello A. 2006. La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. IDESIA (Chile) 24(1) 49-61 p.
- K. Nadaffi., Zamanzadeh M., Azimi A., Omrani A., Mesdaghinia A., Mobedi E. 2004. "Effect of Temperature, Dry Solids and C/N Ratio on Vermicomposting of Waste Activated Sludge". Pakistan Journal of Biological Sciences. 7: 1217-1220 p.
- Larone, D.H. 2002. Medically important fungi: A Guide to Identification. 4th ed. American Society for Microbiology Press, Washington, D.C. 409 p.
- Lazo, R. F., Sierra, G. 2008. Investigación del efecto de las micotoxinas en el ser humano. Revista Iberoamericana de Micología 25(1): 7-11 p.

- Trejo-Téllez L.I and Gómez-Merino C.F. 2012. Nutrient Solutions for Hydroponic Systems, Hydroponics - A Standard Methodology for Plant Biological Researches, Dr. Toshiki Asao (Ed.), ISBN: 978-953-51-0386-8, InTech, Available. Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/hydroponics-a-standardmethodology-for-plant-biological-researches/nutrient-solutions-for-hydroponic-systems>. Fecha de consulta: 22-01-2014.
- Marasas, W.F.O., Ploestz, R. C., Wingfield, M.J., Wingfield, B.D. and Steenkamp, E.T. 2006. Mango Malformation Disease and the Associated Fusarium Species. *Phytopathology* 96(6): 667-672.
- Márquez-Hernández, C., Cano-Ríos, P., García-Hernández, J. L., Rodríguez-Dimas, N., Preciado-Rangel, P., Moreno-Reséndez, A., Salazar-Sosa, E., Castañeda-Gaytán, G., De la Cruz Lázaro, E. 2010. Agricultura orgánica: El caso de México. *Agricultura Orgánica*, Tercera parte. Primera edición. Universidad Juárez del Estado de Durango. 1-2 p.
- Martínez-Coral L., E. Martínez R. de C, F.G. Flores G., P. Preciado R., H. Zermeño G., R.D Valdez C. 2009. Programa de cómputo para el cálculo de soluciones nutritivas. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 15(2): 149-153.
- Moreno-Reséndez A. 2005. Origen, importancia y aplicación de vermicomposta para el desarrollo de especies hortícolas y ornamentales. *Revista Agraria Nueva Época* 2(3): 15-23.
- Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. *Diario Oficial de la Federación* 7 P. México, D. F. Disponible en: (<http://www.salud.gob.mx/unidades/cofepris/bv/mj/noms/092-ssa1.pdf>). Fecha de recuperación: 21-05- 2014.
- Norma Oficial Mexicana NOM-093-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Prácticas de higiene y sanidad en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos. *Diario Oficial de la Federación* 29 P. México, D. F. Disponible en: <http://www.bidihmujer.salud.gob.mx/documentos/leyes/NOM-093-SSA11994%20preparacion%20alimentos%20establec%20fijos.pdf>. Fecha de recuperación: 21-05- 2014.
- Norma Oficial Mexicana. NOM-111-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. *Diario Oficial de la Federación* 29 P. México, D. F. Disponible en: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/111ssa14.html>. Fecha de recuperación: 21-11-2013.
- OPS/OMS, Programa de organización y gestión de servicios de salud, Div. de Desarrollo de Sistemas y Servicios de Salud. Junio 2001. Serie: Aportes para la Reforma del Sector Salud en El Salvador.
- OPS/OMS. 1997. Vigilancia y prevención de las enfermedades transmitidas por los alimentos. Subcomité de Planificación y Programación del Comité Ejecutivo. 29ª sesión, 1 y 2 de diciembre, 1997.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y Organización Mundial de la Salud (OMS). 2009. Higiene básicos de los alimentos [En línea]. Textos básicos. 4ª. Edición. Roma, Italia.

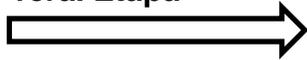
- Consultado en: <http://www.fao.org/docrep/012/a1552s/a1552s00.pdf>.  
Fecha de consulta: 9/12/2013.
- Panikkar, A. K., Riley, S. J., Shrestha, S. P. 2004. Risk Management in Vermicomposting of Domestic Organic Waste. *Environ. Health* 4.11-19 p.
- Raj, B.S., M. Chandra y R. Agarwal. 2005. Interaction of *Salmonella enteritica* Subspecies *enteritica* Serovar Typhimurium and mung bean (*Phaseolus aureus*) plants. *Journal of Food Protection*. 68: 476-481
- Ramos-García A. 2010. Calidad de fresa variedad San Andreas producida con vermicompost en invernadero. Tesis.Maestría. Instituto Politécnico Nacional. 85 p.
- Raviv, M. 2005. Production of high-quality composts for horticultural purposes: A mini-review. *Hort. Technology*. 15(1): 52-57.
- Romero L., María del R., A. Trinidad S., R. García E. y R. Ferrara C. 2000. Producción de papa y biomasa microbiana en suelo con abonos orgánicos y minerales. *Agrociencia* 34: 261-269 p.
- Romero, S. M., Comercio, R. M., Larumbe, G., Ritieni, A., Vaamonde, G., Fernández-Pinto, V. 2005. Toxigenic fungi isolated from dried vine fruits in Argentina. *International Journal of Food Microbiology* 104(1): 43-49
- Sanchez-Monedero M. A., Cegarra J., Garcia D., Roig A. 2002. Chemical and structural evolution of humic acids during organic waste composting. *Biodegradation* 13: 361-371
- Soto, G. 2001. Abonos orgánicos: Producción y uso de compost. *In: Memorias Taller de suelos y manejo de la nutrición de los cultivos en Costa Rica*. CIA.UCR.142 p.
- Soto, M. G. 2003. Abonos orgánicos: definiciones y procesos. *En: Abonos orgánicos: principios, aplicaciones e impactos en la agricultura*. Ed Meléndez, G. San José, Costa Rica. pp. 20-49.
- Steiner, A.A. 1968. Soilless culture. *Proceedings of the 6<sup>th</sup> Colloquium of the Internacional Potash Institute*. 324-341 p.
- Greater Vancouver Regional District (GVRD). 2000. The Biosolids Report. Report No1.
- Tournas, V., Stack, M. E., Mislivec, P. B., Bandler, Ka. R. 2001. Bacteriological Analytical Manual Chapter 18 Yeasts, Molds and Mycotoxins. Disponible en: <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm071435.htm>. Fecha de Consulta: 5-01-2014.
- Vanegas, C. y Rojas, J. 2004. Detección de patógenos en alimentos. *Hipótesis / Apuntes Científicos Uniandinos*. (4):36-40. Disponible en: <http://hipotesis.uniandes.edu.co/hipotesis/images/stories/ed04pdf/Deteccion%20de%20patogenos.pdf>>. Fecha de recuperación: 9 de septiembre de 2013.
- Villegas-Torres, O.G., P. Sánchez-García, P., Barca-Castillo, G.A., Rodríguez-Mendoza, M.N., Trejo, C., Sandoval-Villa, M., Cárdenas-Soriano, E. 2005. Crecimiento y estado nutricional de plántulas de tomate en soluciones nutritivas con diferente concentración de calcio y potencial osmótico, *TERRA Latinoamericana*. 23(1): 49-56.

Xuan, G., Chen, J., Beuchat, L. R. and Brackett, R. E. 2000. PCR Detection of *Salmonella* entérica serotype Montevideo in and on raw tomatoes using primers derived from *hliA*. American Society for Microbiology 12: 5248-5

# ANEXOS I. Esquema general del experimento.

## ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO

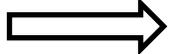
1era. Etapa



Acondicionamiento y sanitización de invernadero



2da. Etapa





Caracterización  
Físico química

pH, CE, M.O,  
N,P,Mg,Ca, Na  
Zn, Mn, Cu,Fe



Acondicionamiento de tratamientos



Germinación



Trasplante



3ra. Etapa.



Manejo del cultivo (prácticas agronómicas)



Aplicación de riego y solución



Tutorado de plantas



Eliminación de flores y brotes



Medición de planta



Polinización



Manejo de enfermedad (Tizón temprano) *Alternaria* sp.

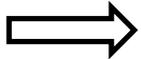


Manejo de Mosquita blanca (*Bemisia tabaci* Gennadius)



Colocación de mayas para evitar el desprendimiento de frutos

4ta. Etapa.



Muestreo



5ta. Etapa.



Determinación e identificación de hongos y levaduras

Pulpa

Enjuague



Recuento de UFC Hongos /levaduras

Identificación de hongos

