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



Determinación de coliformes totales y fecales en Melón Cantaloupe (*Cucumis melo* L.) desarrollado en sustratos orgánicos

POR:

GABRIEL ESCOBAR GORDILLO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Torreón, Coahuila, México Diciembre de 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA "ANTONIO NARRO" UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS DEL C. GABRIEL ESCOBAR GORDILLO QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE: INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

APROBADA POR:

		NITE
- 6	!! !⊫	NTE
LU	IUL	IN I L

Dr. ALEJANDRO MORENO RESÉNDEZ

VOCAL

MC. MARÍA DE LOURDES FROTO MADARIAGA

VOCAL

Ph. D. FLORENCIO JIMÉNEZ DÍAZ

VOCAL SUPLENTE

MC. SERGÍO HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ

Dr. FRANCISCO JÁVJER SÁNCHEZ RAMOS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICA

Coordinación de la División de Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE 2013

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

Determinación de Coliformes Totales y Fecales en Melón Cantaloupe (Cucumis melo L.) Desarrollado en Sustratos Orgánicos

POR

GABRIEL ESCOBAR GORDILLO

APROBADA POR EL COMITÉ PARTICULAR DE ASESORÍA

ASESOR PRINCIPA	Dr. ALEJANDRO MORENO RESÉNDEZ
ASESOR	Anhato M
	MC. MARÍA DE LOURDES FROTO MADARIAGA
ASESOR	Hully
	Ph. D. FLORENCIO JĮMĘNEZ DÍAZ
ASESOR	
	MC. SERGIO HERNÁNDEZ RODRÍGUEZ
	AUTOROSIA CALLANDO
Dr. F	RANCISCO JAVIER SANCHEZ RAMOS

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMIC

Coordinación de la División de Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA

DICIEMBRE 2013

AGRADECIMIENTOS

A **Dios todo poderoso:** Por darme la oportunidad de vivir, por brindarme la salud necesaria, por guiarme por un buen camino y porque en los momentos difíciles nunca me ha dejado solo y así puedo esquivar los obstáculos que se me van presentando en mi vida.

A la gran UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO, por instruir y hacerme una persona de bien. Por haberme recibido con los brazos abiertos al llegar a ella y por brindarme todas las posibilidades para realizar mis estudios. Siempre estaré orgulloso de ser un Narro. ALMA TERRA MATER.

De manera muy especial al **Dr. Alejandro Moreno Reséndez**, por la oportunidad que me brindo al incluirme en este proyecto de investigación cuando acudí a él en busca de un tema de tesis. Pero más por el gran apoyo, paciencia y dedicación para la realización de esta investigación.

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

Al Personal Académico del Departamento de Parasitología, por todo su apoyo, sus enseñanzas, su paciencia, sus regaños; por instruirme dentro y fuera del horario de clases. Que compartieron conmigo gran parte de sus experiencias y conocimientos y que gracias a su dedicación contribuyeron de una manera u otra en mi formación profesional. Recalcando aquí mismo al M. c. Javier López, Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores y Dr. Florencio Jiménez Díaz que me brindaron su amistad y confianza durante mi estancia en la Universidadforjándome a ser una persona de bien con sus consejos y regaños.

A **Graciela Armijo Yerenay Gabriela Muñoz Dávila,** ustedes siempre tan serviciales a pesar de todo el trabajo que tienen, brindándome todo el tiempo su ayuda, siempre me acordare de ustedes, muchas gracias "Chelita" y "Gaby".

A mi tía **Miriam Girón Gordillo y Ing. Miriam Olivera Bueno**, quienes fueron las que me brindaron su apoyo para emprender esta etapa universitaria; que sin ustedes hoy no estuviera en esto.

i

DEDICATORIAS

A mi Honorable MADRE:

Luz María Teresa Gordillo Méndez, quien me dio la vida y me ha enseñado a andar por el buen camino. Por ponerme todo a mi disposición, por todo el amor y comprensión que me has brindado siempre, por todos los buenos consejos que he recibido de ti, para llegar a ser una persona de bien; y la confianza que depositaste en mí. Por haberme dado la mejor herencia que desea cualquier persona en la vida: mis estudios. Me siento muy orgulloso de ser tu hijo, nunca te defraudare. Te amo MAMA.

A mis hermanos:

Oscar, Juan Antonio y Víctor Hugo, a quienes agradezco su grata compañía, por los momentos malos y buenos que hemos compartido juntos y sobre todo por el apoyo que me han brindado siempre. Quiero que sepan que todo en la vida es posible siempre y cuando le pongan empeño y tengan en su mente un claro objetivo. Los quiero.

A mis abuelos:

Oscar y Josefina, a quienes agradezco su apoyo moral; brindándome sus consejos y regaños para ser de mí una persona de bien. Muchas gracias padres míos, este triunfo también es de ustedes.

A mi familia: Cortés-Hilerio, Liévano-Gordillo, Hilerio-Méndez:

Tíos (as) y Primos (as), Gracias por sus consejos y apoyo en todo momento y por los bellos, gratos y malos momentos que hemos compartido. Este logro es parte de ustedes también. Podría mencionarlos a todos pero por cuestiones espacio los generalice; Gracias.

A mis amigos:

Amílcar, Mirel, Gamaliel, Marcelo, Francisco, Humberto, Giovanni, Jorge Bruno, Josué Alexander, Luis Fernando, Adrián, Waller, José Vidal, Anayeli, Ana Laura, Luis Miguel, Edgar, Olber, Héctor, Nayelli, Manuel Alonso, Lupita, Mayra. Gracias por ser parte de mi vida y todos los momentos vividos con cada uno de ustedes. Que nuestra amistad perdure hoy y siempre.

RESUMEN

La inocuidad alimentaria es un tema que día con día cobra mayor vigencia, tanto en el ámbito nacional como el internacional. La disponibilidad de alimentos con calidad sanitaria adecuada 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. Por estos motivos, la evaluación de la contaminación biológica ha sido considera como un aspecto esencial en cualquier estudio sobre la calidad e inocuidad de los alimentos. En este ámbito, los principales microorganismos que pueden estar presentes en los alimentos y que causan enfermedades son las bacterias (Familia: Entorobacteriaceae). Dentro de esta inmensa familia de bacterias patógenas se encuentran los Coliformes Totales (CT) y Coliformes Fecales (CF) que incluyen a los géneros Escherichia, Enterobacter, Klebsiella y Citrobacter. En el caso del cultivo de melón Cantaloupe en el año 2002, fue asociado con brotes de salmonelosis según la FDA de los Estados Unidos, provocando el cierre de fronteras a suexportación hacia este país y Canadá. Ante esto, los gobiernos correspondientes han establecido la normalización internacional basada en el Sistema Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP) y las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA) y Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) para asegurar la calidad e inocuidad en la producción de hortalizas. Por otro lado y debido a que se ha establecido como alternativa

dentro del ámbito de la producción agrícola; la agricultura orgánica, la cual se caracteriza por proveer de alimentos libres de agroquímicos sintéticos, inocuos y con un gran valor nutricional y debido que en estos sistemas se emplean abonos que provienen de diferentes residuos orgánicos, resulta trascendente el estudiar si estos materiales no favorecen la presencia de organismos patógenos al hombre en los frutos generados en este tipo de sistemas.

El cultivo de melón se estableció en un invernadero de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro- Unidad Laguna, durante el ciclo P-V 2013; y se utilizaron mezclas de diferentes abonos orgánicos con arena de rio. El análisis microbiológico se realizó aplicando las normas NOM-109-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Procedimiento para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico y NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios, El recuento de Coliformes Totales y Coliformes Fecales, se realizó con el Método para la cuenta de Microorganismos Coliformes Totales en placa. Bajo las condiciones en que se realizó el experimento, se concluyó que los sustratos utilizados; Vermicompost, Compost simple y Compost con yeso mezclados con Arena de Rio, favorecieron la inocuidad de los frutos de melón.

Palabras claves:Abonos orgánicos, Análisis microbiológico, Bacterias: Enterobacteriaceae, Coliformes Fecales, Inocuidad Alimentaria

ÍNDICE	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
I.I Objetivo General	<u>3</u> 4
I.I.2 Objetivos específicos	4
I.2 Hipótesis	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 Intoxicación Alimentaria	5
2.2 Categorías de peligros con los que se pueden contaminar los aliment	os 7
2.3 Principales bacterias patógenas al hombre: Familia: Enterobacteriac	eae 9
2.3.1 Bacilos Entéricos. Morfología y Características de los Coliformes	s11
2.3.2Distribución de los Coliformes	14
2.4 Importancia de la Inocuidad en la Producción Orgánica de Hortalizas	s 15
2.4.1 Brotes de enfermedades causadas por Enterobacteriaceae	<u>1819</u>
2.5 Sistema Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control en la cade producción de melón Cantaloupe	∍na de 20
2.5.1 Operaciones unitarias de producción y cosecha	23
2.5.2 Operaciones unitarias postcosecha	27
2.6 La Agricultura Orgánica como Alternativa para lograr la Inocuidad er Alimentos	
2.6.1 El Compost	31
2.6.2 Vermicompost	33
2.7 Aplicación del compost y vermicompost en la agricultura y su relació presencia de organismos patógenos	n con la 34
III. MATERIALES Y MÉTODOS	38
3.1 Establecimiento y manejo del Melón Cantaloupe	38
3.2 Toma de Muestras de Frutos en el Invernadero	39
3.3 Análisis microbiológico	40
V. CONCLUSIÓN	<u>48</u> 49
VI. LITERATURA CITADA	<u>49</u> 50
ANEXOS	<u>56</u> 57
ANEXO 1. Diagrama de flujo general del establecimiento del cultivo de m condiciones de invernadero	
ANEXO 2. Desarrollo de la preparación de los medios de cultivos para el microbiológico	
Anexo 3. Diagrama de flujo general del método del análisis microbiológico	o <u>59</u> 60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de Contaminación Química de Frutas y Hortalizas Frescas (OIRSA, 2001)	8
Figura 2. Mecanismos de Contaminación con Microorganismos Patogenos de Frutas y Hortalizas Cruda (OIRSA, 2001)	9
Figura 3. Pirámide para el Control y Aseguramiento de la Calidad e Inocuidad de Frutas y Hortalizas Frescas en la Producción Primaria y Cosecha (OIRSA, 2001)	21
Figura 4 Diagrama de flujo de la cadena de abastecimientos para melones	24

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro1. Limites microbiológicos permitidos en el compost y vermicompost para determinar su inocuidad	37
Cuadro 2. Tratamientos obtenidos para el desarrollo del melón en diferentes sustratos orgánicos	39
Cuadro 3. UFC de CT en la parte externa y en la pulpa de frutos de melón desarrollados en diferentes abonos orgánicos.	43
Cuadro 4. UFC de CF en la parte externa y en la pulpa de frutos de melón desarrollados en diferentes abonos orgánicos	45
Cuadro 5. Muestras iniciales y finales en un vermicompost a partir del manejo de biosólidos (Eastman <i>et al.</i> , 2001)	46
Cuadro 6. Análisis microbiológico en diferentes hortalizas (Ávila <i>et al.</i> , 2008)	47

I. INTRODUCCIÓN

Los riesgos para la salud humana transmitidos por los alimentos pueden deberse a causas de orden físico, químico y/o biológico. La evaluación de la contaminaciónbiológica siempre ha sido una parte importante en cualquier estudio sobre la calidad de alimentos (Bortman *et al.*, 2003; FAO-WHO, 2008). En este ámbito, los principales microorganismos que pueden estar presentes en los alimentos y que causan enfermedades son las bacterias (Familia:Enterobacteriaceae) las cuales se encuentran normalmente en el tracto digestivo de animales de sangre caliente y son transmitidas por alimentos, o a través del contacto directo con el estiércol, así como con el empleo de estiércoles como abonos orgánicos, o bien, por la manipulación que sobre éstos realizan los trabajadores, cuyas manos, a falta de higiene, pueden ser contaminadas (Jiménez-Díaz, 2004).

Dentro de la inmensa familia de bacterias patógenas se encuentran los Coliformes Totales (CT) y Coliformes Fecales (CF). Las bacterias CT se definen como bacilos cortos, Gram negativos, aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados, que fermentan la lactosa cuando se incuban entre 32 y 35 °C, en menos de 48 horas, generando ácidos y gas, éste último producto se manifiesta en las campanas de extracción. Incluye los géneros *Escherichia, Enterobacter, Klebsiella* y *Citrobacter*(Isaac-Márquez *et al.*, 1994).

Por su parte, al grupo de CF corresponden aquellos organismos que presentan capacidad para generar Indol y fermentar la lactosa a temperaturas que oscilan de 44 a 45 °C, estos organismos se consideran el indicador más adecuado de contaminación con heces de animales y humanos, en pescados, mariscos, carnes, leche, entre otros (Isaac-Márquez et al., 1994).

Por otro lado, debido a que en la agricultura moderna, se ha soslayado la sostenibilidad de la productividad agrícola. El uso de agroquímicos ha provocado incrementos substanciales de la producción; no obstante, sus efectos adversos han impactado de manera significativa la sostenibilidad de la agricultura(Márquez-Hernández et al., 2010).

En el mismo sentido, el monocultivo y la contaminación por el uso indiscriminado de agroquímicos han reducido la biodiversidad de los agroecosistemas, causando su inestabilidad, la cual se manifiesta, entre otros efectos nocivos, en una mayor incidencia de plagas y enfermedades en los cultivos y la alta posibilidad de contaminación de la producción de los diferentes órdenes de contaminación -Física, Química o Biológica. Lo que puede provocar que las exportaciones de diversas especies vegetales, hacia Estados Unidos de Norteamérica y Canadá, se hayan visto comprometidas hasta el punto de cierre de fronteras, como en el caso del melón (*Cucumis melo* L.) cuando fue asociado con brotes de salmonelosis (FDA, 2002).

Éste y los problemas de seguridad y salud pública inherentes a la fabricación y uso de agroquímicos han conducido a la búsqueda de alternativas para el ámbito de la producción agrícola(Zavaleta-Mejía, 1999). Dentro las

soluciones, Márquez-Hernández *et al.* (2010) destacan que la agricultura orgánica, —en la cual se aplican abonos orgánicos como el compost y el vermicompost- es una alternativa de gran transcendencia, en virtud de que provee alimentos libres de plaguicidas y de fertilizantes sintéticos, inocuos y con un gran valor nutricional.

Otras ventajas de estos abonos se relacionan con el proceso de su elaboración, así pues, Panikkar *et al.* (2004) determinaron que el compostaje de residuos orgánicos (estiércoles, residuos municipales, entre otros) reduce significativamente la presencia de organismos patógenos a través del incremento de la temperatura y de la concurrencia de microorganismos, los cuales emplean estos residuos como fuente de alimento y de energía.

Por su parte el vermicompostaje, en el cual se emplean diversas especies de lombrices, es un proceso más rápido y genera un producto de mayor calidad, no solo por la mayor disponibilidad de elementos nutritivos, sino que además se genera una reducción significativa de los microorganismos patógenos (Valadares-Veras y Povinelli. 2004).Por la transcendencia de los elementos descritos, el trabajo se basó en la búsqueda de CT y CF en frutos de melón Cantaloupe desarrollados en diferentes sustratos orgánicos.

I.I.- Objetivo General

Determinar la presencia de Coliformes Totales y Coliformes Fecales en frutos de Melón Cantaloupe (*Cucumis melo* L.) desarrollados en diferentes sustratos orgánicos.

I.I.I.- Objetivos específicos

- Determinar el recuento total de Coliformes Totales y Coliformes
 Fecales en la superficie y en la pulpa de frutos de melón desarrollados en diferentes sustratos orgánicos.
- Identificar el abono orgánico con los mayores índices de contaminación de Coliformes totales y fecales 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

La inocuidad de los frutos del melón, respecto a la presencia de organismos patógenos, se favorece al aplicar abonos orgánicos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- Intoxicación Alimentaria.

En general, la producción de alimentos libres de contaminantes no sólo depende del lugar de su producción o preparación, sino también de los procesos de elaboración y de las personas que toman contactos con ellos. Un alimento está contaminado cuando existen sustancias extrañas. La intoxicación alimentaria puede ser causada por el consumo de alimentos que contengan sustancias químicas tóxicas, como los plaguicidas o demás insumos agrícolas, y que no pueden eliminarse con un lavado o se han sometido a un lavado insuficiente, o las comidas contaminadas por microorganismos que producen toxinas o materiales peligrosos que son absorbidas por los organismos.En relación a lo anterior, se reconoce que un alimento contaminado es realmente peligroso y causante generalmente de las enfermedades de origen alimentario. Los gérmenes llegan a los alimentos de diversas formas ya que se encuentran en todas partes, algunos son perjudiciales para el hombre causando enfermedades, éstos toman el nombre de gérmenes patógenos (IBNORCA, 2013).

También pueden causar intoxicación alimentaria las sustancias contaminantes que penetran accidentalmente en los alimentos, como puede ser el caso del mercurio, o determinados elementos nutritivos que producen una reacción alérgica en el tracto digestivo de algunas personas susceptibles

a éstos. Por su parte, son enfermedades transmitidas por alimentos aquellas producidas por la ingestión de toxinas formadas en el tejido de plantas, animales o productos metabólicos de microorganismos en los alimentos o por sustancias químicas que se incorporan a ellos de modo accidental, incidental o intencionalencualquier momento desde producción hasta su consumo(Henry, 2005; Apella y Araujo, 2011).

Una vez que son ingeridos estos alimentos hay un retardo, llamado periodo de incubación, antes de que comiencen los síntomas de la enfermedad. Este retardo puede oscilar entre horas y días, dependiendo del organismo, y de cuántos de ellos se ingiera. Durante el periodo de incubación de las bacterias patógenas o toxinas, los microbios pasan a través del estómago al intestino y se readhieren a las células que recubren las paredes intestinales y comienzan a multiplicarse allí, comenzando a producir daños a la salud de los humanos(FAO-OMS, 2009).

Algunos tipos de microbios permanecen en el intestino, otros producen una toxina que es absorbida en la corriente sanguínea y algunos pueden invadir directamente tejidos corporales más profundos, los síntomas producidos dependen en gran medida del tipo de microbio. Numerosos organismos ocasionan síntomas análogos, especialmente diarrea, calambres abdominales y nausea. Hay tanta superposición en saber qué organismo está produciendo la enfermedad debido a la analogía de síntomas, que rara vez es posible determinar que microbio es probable que esté ocasionando una enfermedad dada; para ello se realizan pruebas de laboratorio para identificar al patógeno (Henry, 2005; FAO-OMS, 2009).

2.2 Categorías de peligros con los que se pueden contaminar los alimentos

Concepto de peligro. Agente biológico, químico o físico presente en un alimento o bien la condición en que éste se halla, que puede causar un efecto adverso para la salud de los humanos. Los peligros considerados en el Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control(HACCP, por sus siglas en inglés) están definidos en tres categorías: Biológicos (microbiológicos), químicos y físicos(FDA-CFSAN, 2001).

Peligros químicos. Se dividen en tres categorías en función de su origen: 1. Intrínsecos: (se encuentran en los alimentos por naturaleza: factores antinutricionales, alcaloides tóxicos, etc.), 2. Materiales añadidos: constituyen un peligro para el consumidor los agroquímicos, aditivos alimentarios y conservadores, 3. Por deficiencias técnicas: durante las operaciones de siembra, cosecha, transportación y procesamiento se pueden contaminar los alimentos con sustancias tóxicas provenientes del suelo, el aire, las aguas, materiales de empaque, desinfectantes y detergentes (Figura 1)(FDA-CFSAN, 2001).

Peligros físicos. Se dividen en dos categorías: 1. Intrínsecos de los alimentos; se encuentran en el producto por naturaleza, tales como semillas y espinas, 2. Por deficiencias técnicas; resultante de la contaminación de los alimentos con materias extrañas (vidrios, plásticos, tierra, polvo, restos de ramas u otros objetos por inadecuadas operaciones de cultivo, cosecha, transportación y procesamiento (FDA-CFSAN, 2001).



Figura 1. Mecanismos de Contaminación Química de Frutas y Hortalizas Frescas (OIRSA, 2001).

Peligros biológicos. Organismos patógenos infecciosos o sus toxinas que pueden infectar los alimentos en cualquier etapa de la cadena productiva. La contaminación por microorganismos resultará un peligro en función de ciertas circunstancias, durante la producción de alimentos, lo cual está relacionado con: la higiene de los alimentos durante la producción y las condiciones de crecimiento microbiológico propias o material (Figura 2). Entre estos peligros de origen biológico se encuentran: algas, parásitos, insectos, roedores, bacterias u otros que contaminan los alimentos durante el cultivo, cosecha y postcosecha(FDA-CFSAN, 2001).

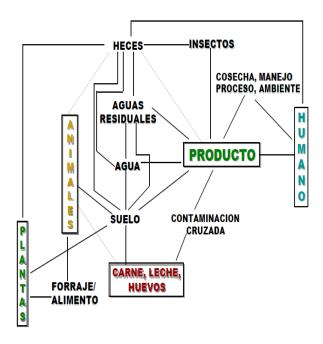


Figura 2. Mecanismos de Contaminación con Microorganismos Patógenos de Frutas y Hortalizas Cruda (OIRSA, 2001).

2.3.-Principales bacterias patógenas al hombre: Familia: Enterobacteriaceae

Las bacterias entéricas o Enterobacterias se definen como las bacterias que se encuentran en los intestinos de los animales de sangre caliente y el hombre. Las bacterias entéricas son los miembros más importantes de la familia Enterobacteriaceae debido a que algunos de éstos simbióticamente ayudan a la digestión de sus anfitriones, mientras que otras especies patógenas causan la enfermedad o la muerte de su organismo huésped. Los organismos patógenos de esta familia incluyen especies de los géneros

Escherichia, Salmonella, Shiguella, Klebsiella y Yersinia. Todos estos patógenos están estrechamente relacionados con la contaminación fecal de los alimentos (Bortman *et al.*, 2003; FAO-WHO, 2008).

Las Enterobacterias son microorganismos aerobios, los cuales fermentan una amplia variedad de carbohidratos, poseen una estructura antigénica compleja y producen varias toxinas u otros factores de virulencia. Son el grupo más común de bacilos Gram negativos cultivado en el laboratorio clínico y se encuentra entre las bacterias patógenas más comunes. La taxonomía de las Enterobacteriaceae es compleja, las Enterobacteriaceae clínicamente significativas comprenden 20 a 25 especies (Adams y Moss, 1997; Camacho *et al.*, 2009).

La familia Enterobacteriaceae crece sobre peptona o medios con extractos de carne con adición de Cloruro de Sodio (NaCl) u otros suplementos: crecen adecuadamente en Agar MacConkey, en condiciones aerobias y anaerobias (son anaerobias facultativos), fermentan la glucosa en vez de oxidarla y con frecuencia producen gas; son catalasa positivos; óxidos negativos y reducen el nitrato a nitrito. Dentro de este grupo se encuentran los denominados Coliformes (Adams y Moss, 1997; Camacho *et al.*, 2009).

El grupo coliforme es el grupo de bacterias que ha recibido la mayor atención para la aplicación como un indicador de la contaminación fecal. Su presencia en el ambiente del agua y de los alimentos indica la contaminación fecal y la posible presencia de agentes patógenos. La mayoría de las infecciones de patógenos entéricos requieren un gran número de organismos para ser ingeridos por adultos inmunocompetentes, con la excepción de *Shiguella*.

Las bacterias Coliformes se utilizan como indicadores de bacterias entéricas patógenas en los alimentos y el agua (Yakub, 2005).

2.3.1.-Bacilos Entéricos. Morfología y Características de los Coliformes.

Los CT son bacterias que tienen forma de bastoncillos (0.5 a 3 micras), que no forman esporas, y son Gram negativo aerobias y anaerobias facultativas, su característica principal es que fermentan la lactosa con formación de gases al cabo de 48 horas a una temperatura de 35 a 37°C, los CF se diferencian de CT por ser termotolerantes y resistentes a temperaturas de 44 a 46°C(Brooks *et al.*, 2011). Este grupo de microorganismos es un adecuado indicador de contaminación bacteriana ya que los Coliformes, de acuerdo con Koneman *et al.*, (2006) son:

- Comensales comunes del tracto gastrointestinal tanto del hombre como de los animales de sangre caliente.
- Están presentes en el tracto gastrointestinal de animales de sangre caliente en grandes cantidades.
- Permanecen más tiempo en el agua que las bacterias patógenas.
- Se comportan de igual manera que los patógenos en los sistemas de desinfección.

Los CF y la *E. coli* en particular, se han seleccionado como indicadores de contaminación fecal debido a su relación con el grupo tifoide-paratifoide y a su alta concentración en diferentes tipos de muestras clínicas(Koneman *et al.*, 2006).

Los CF son un subgrupo de los CT, capaz de fermentar la lactosa a 44.5°C. Aproximadamente el 95% del grupo de los coliformes presentes en las heces fecales están constituidos por la *E. coli* y ciertas especies de *Klebsiella*. Ya que los CF se encuentran casi exclusivamente en las heces de animales de sangre caliente, y se considera que éstos reflejan mejor la presencia de contaminación fecal (Frazier, 2002).

El grupo de Coliformes es adecuado como indicador de contaminación bacteriana, ya que es el grupo de más rápida y fácil detección. Los microorganismos indicadores son aquellos que tienen un comportamiento similar a los patógenos pero son más rápidos, económicos y fáciles de identificar. Una vez que se ha evidenciado la presencia de bacterias entéricas, se puede inferir que las bacterias patógenas se encuentran presentes en la misma concentración y que su comportamiento frente a diferentes factores como pH, temperatura, presencia de elementos nutritivos o sistemas de desinfección es similar a las de la familia Enterobacteriaceae. (Frazier, 2002; Páez-Delgado, 2009).

Los CT y CF para ser utilizados como indicadores de contaminación microbiana deben poseer las siguientes propiedades(Koneman *et al.*, 2006):

- > Especificidad: sólo se deben encontrar en el medio intestinal.
- Se hallaran en grandes cantidades de tal manera que pueden ser detectadas en altas diluciones.

- Ser muy resistentes a las condiciones ambientales, extraintestinales.
- Aunque se encuentren en una baja proporción puedan ser detectados de forma fácil y completa.
- Su tiempo de supervivencia debe ser igual o un poco superior al de las bacterias patógenas.
- > Deben ser fácil de aislar y cuantificar.
- Debe ser patógenos.

Los CT y CF son microorganismos que crecen a 20 °C y también a temperaturas próximas a 50°C. El crecimiento en los alimentos es pobre a temperatura de 5°C, aunque ciertos autores afirman que los Coliformes crecen adecuadamente entre 3 y 6°C. Con respecto al pH se ha señalado que crecen dentro de un amplio margen, con valores comprendidos entre 4.4 a 9. A diferencia de la mayoría de las bacterias, fermentan la lactosa con producción de gas y esta característica es suficiente para determinar la presencia o ausencia de Bacterias Coliformes. La inoculación de muestras que posiblemente poseen bacterias patógenas a los medios de cultivo de lactosa y sales biliares como Mac-Conkey, hace posible la identificación entre estos organismos patógenos u otras bacterias no patógenas que pueden encontrarse en los alimentos(Páez-Delgado, 2009).

Puesto que no todos los Coliformes son de origen fecal, fue necesario desarrollar pruebas para diferenciarlos, a efectos de emplearlos como indicadores de contaminación. Se distinguen por lo tanto, los CT, que

comprenden la totalidad del grupo y los CF, aquellos de origen intestinal (Pascual, 1992). En la inocuidad de los alimentos los CT no se consideran indicadores de contaminación fecal, sino solamente indicadores de calidad. Mientras que, los CF se usan para evaluar la calidad e inocuidad de los alimentos (Frazier, 2002).

Los CF son microorganismos con una estructura parecida a la de una bacteria común, denominada *Escherichia coli*, las cuales se transmiten por medio de los estiércoles. *Escherichia* es una bacteria que se encuentra en el intestino del hombre y en el de otros animales. Hay diversos tipos de *Escherichia*, algunos no causan daño en condiciones normales y otros pueden incluso ocasionar la muerte. La denominación genérica Coliformes designa a un grupo de especies bacterianas, que tiene ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos(Adams y Moss, 1997; Páez-Delgado, 2009).

2.3.2.-Distribución de los Coliformes

Las cepas de CT y CF se encuentran en el suelo, alimentos, agua, polvo y principalmente en el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente. Estos organismos se transmiten por contacto con el agua y alimentos contaminados y falta de higiene. Los alimentos de los que se sospecha que transmiten la enfermedad, son los que han sido preparados y manipulados sin normas adecuadas de higiene sin precautelar condiciones de inocuidad alimentaria(Brooks *et al.*, 2011).

Las enfermedades infecciosas son siempre el producto de tres eslabones imprescindibles de una cadena interrelacionada con el agente infeccioso, llamados factores epidemiológicos primarios: 1.- Reservorio/Fuente de infección, 2.- Mecanismo de Transmisión y 3.- huésped susceptible, que constituye la cadena epidemiológica de transmisiónpotenciando e incluso facilitando la infección de éstos se hallan los factores epidemiológicos secundarios, que según Brooks *et al.* (2011) condicionan la interrelación de los seres vivos y su ambiente:

- Factores Biológicos o Endógenos
- Edad, sexo y raza
- Factores ligados al entorno: Estacionales, medio laboral, socioeconómico (Vivienda, saneamiento, hacinamiento), demográficos (hábitat rural o urbano, estructura social, familiar).
- Factores ligados al estado de vida (Tabaquismo, Alimentación, Alcohol, etc.).

2.4.-Importancia de la Inocuidad en la Producción Orgánica de Hortalizas

La producción de alimentos orgánicos constituye un agronegocio en rápida expansión a nivel mundial, pues este mercado está enfocado a satisfacer las expectativas de un sector del mercado internacional de alimentos que desea consumir productos con mayor calidad e inocuidad, asegurada o certificada y, de hecho, dispuesto a pagar precios superiores por ello. Esta preferencia

de un sector de los consumidores, de acuerdo con Cañet *et al.* (2003) constituye una posibilidad de agregar valor para los productores que implementan prácticas de producción social y/o comercial ambientalmente sostenibles y responsables, basadas en principios aceptados internacionalmente, como:

- 1) Considerar el manejo integrado de la fertilidad del suelo como clave para el éxito de la producción,
- 2) La reducción de uso de insumos externos y abstención en la utilización de agroquímicos sintéticos, por ejemplo; insecticidas, herbicidas, fungicidas, fertilizantes y medicamentos veterinarios (antibióticos y hormonas de crecimiento),
- 3) Empleo de procedimientos naturales para la conservación de los alimentos y minimizar el uso de conservadores sintéticos,
- 4) Prohibición, a pesar de la base científica que apoya su uso, de variedades de especies de cultivos comprendiendo modificaciones genéticas u Organismos Genéticamente Modificados (OMG) cuyo consumo involucra riesgos a la salud,
- 5) Respeto a la capacidad natural de las plantas, los animales y el paisaje, para optimizar la calidad de la agricultura y del ambiente,
- 6) Desarrollar valores éticos en la producción agrícola tales como, comercio equitativo, salud y seguridad social de los trabajadores, bienestar de los animales y la sostenibilidad,
- 7) El proceso de producción ha de ser normado y certificado tomando como base las directrices y regulaciones nacionales e internacionales

 Normas del Codex Alimentario -o acuerdos específicos de armonización y certificación. Esto último es requisito cuando el producto es de exportación, ya que se debe cumplir con la reglamentación del lugar del destino.

La calidad e inocuidad de los alimentos son objeto de preocupación por los consumidores que esperan que sus alimentos sean apetecibles, nutritivos e inocuos. En el caso particular de las hortalizas, producidas por los métodos convencionales, el aumento reciente de reportes sobre Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETAs), asociadas con el consumo de estos productos ha despertado inquietudes entre los organismos de salud pública y la población en muchos países de mundo, respecto a la inocuidad de los mismos. Debido a que se producen en una amplia variedad de condiciones agroecológicas, con la utilización de diversas tecnologías agrícolas, de cosecha, postcosecha y comercialización (Gonzáles *et al.*, 1996; Cañet *et al.* 2002).

En cualquier proceso de producción de alimentos, incluidos los orgánicos, corresponde a los productores garantizar la producción inocua y de calidad de las hortalizas, mediante la aplicación de programas y normas de control de calidad e inocuidad. Entre aquellas nomas de inocuidad, destacan las basadas en el sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (APPCC), ya que los productos deben de cumplir con los requerimientos higiénico-sanitarios y de calidad, planteados en los acuerdos sobre Medidas

Sanitarias y Fitosanitarias (MSF) de la Organización Mundial del Comercio (OMC)(FAO, 2002).

La calidad de los alimentos agrícolas está constituida por el conjunto de características externas e internas predeterminadas, que diferencian las unidades individuales de éste y tienen significado para definir la aceptabilidad por el consumidor (Cañet *et al.*, 2003). La calidad como resguardo de la inocuidad significa la ausencia o presencia confirmada en los alimentos de niveles de contaminantes biológicos, químicos y físicos en base a evidencias científicas perjudiciales a la salud de las personas que los consumen (FAO-OMS, 1999).

En el mismo sentido, la calidad e inocuidad de frutas y hortalizas son nivel básico imprescindible que debe satisfacer un producto alimenticio para ser comercializado y así asegurar la salud pública de los ciudadanos de contraer ETAs, entre las que se incluyen las infecciones causadas por bacterias, hongos, virus y parásitos, así como, las intoxicaciones producidas por las plantas y animales venenosos, plaguicidas, metales pesados, aditivos alimentarios, antibióticos, hormonas, sustancias radioactivas y las biotoxinas presentes en las plantas y animales o elaboradas por algunos microorganismos en los alimentos (FAO - OMS, 1999).

2.4.1.- Brotes de enfermedades causadas por Enterobacteriaceae.

La Administración de Medicamentos y Alimentos de los EUA (FDA), señala que mundialmente se han registrado incrementos en el reporte de ETAs,

algunas de éstas emergentes como las producidas por la *E. coli* 0157:H7, *Listeria, Cyclosporay Campylobacter*, asociadas con el consumo de frutas y hortalizas frescas, lo que ha despertado inquietudes entre los organismos de salud pública y la población en muchos países del mundo respecto a la inocuidad de los productos agrícolas, debido a la amplia variedad de condiciones agroecológicas donde se producen y a la diversidad de tecnologías agrícolas que se aplican durante las actividades de producción primaria, cosecha, postcosecha y comercialización (FDA, 2002).

Sobre la base de las consideraciones anteriores la Comisión del *Codex Alimentarius*, en su Código Internacional Recomendado de Prácticas y Principios Generales de Higiene de los Alimentos, considera que para reducir la probabilidad de que se origine un peligro que pueda menoscabar la inocuidad de los alimentos o su aptitud para el consumo en etapas posteriores de la cadena alimentaria, la producción primaria deberá realizarse de manera que se asegure que el alimento sea inocuo y apto para el uso que se destina (CCA, 2002).

En caso necesario, la FAO-OMS (1997) sugiere que en el proceso de producción de alimentos se debe de evitar el uso de zonas donde el ambiente presente una amenaza para la inocuidad de alimentos; controlar los contaminantes, las plagas y las enfermedades de animales y plantas, adoptar prácticas y medidas que permitan asegurar la producción de alimentos en condiciones de higiene apropiadas. Adicionalmente, como en todos los otros tipos de producción de alimentos se recomienda para lograr estos objetivos, la aplicación del sistema APPCC, así como, los Principios

para el establecimiento de los Criterios Microbiológicos para Alimentos (Figura 4).

2.5.- Sistema Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control en la cadena de producción de melón Cantaloupe

La diversidad de métodos de producción y procesamiento en la industria del melón, complica brindar un solo enfoque universalmente aplicable de la inocuidad en los alimentos. Por ejemplo, los productores pueden elegir empacar los melones en el campo o en un almacén de empaque. Más aun, pueden elegir enfriar el producto utilizando agua o aire. Es importante que cada forma evalué sus operaciones e implemente los métodos que cumplan con sus necesidades individuales. Lo más importante es la implementación de componentes básicos del programa de inocuidad de los alimentos por parte de todos los involucrados en la cadena de abastecimiento del melón, con la finalidad de asegurar la inocuidad de los melones y de los consumidores (Adams *et al.*, 2005).

El CCNCMA (2008), señala que cualquiera que sea el método de producción o procesamiento preferido para un productor en específico, la industria del melón reconoce los siguientes principios básicos que sirven como el cimiento para todos los programas de inocuidad de los alimentos que se encuentran dentro de la industria:

La industria del melón reconoce que una vez que el melón está contaminado, eliminar o matar los agentes patógenos es difícil. Por lo tanto, la prevención de contaminación microbial en todos los pasos desde la producción hasta la

distribución se ve ampliamente favorecida mediante tratamientos para eliminar la contaminación después de que ésta se presenta.



Figura 3. Pirámide para el Control y Aseguramiento de la Calidad e Inocuidad de Frutas y Hortalizas Frescas en la Producción Primaria y Cosecha (OIRSA, 2001).

- La industria del melón también respalda y fomenta la capacitación de concientización sobre la inocuidad de los alimentos para todas las personas que cultivan, manejan, distribuyen, procesan, preparan y/o sirven productos a base de melón.
- Los agentes patógenos que con frecuencia están asociados con las frutas y vegetales (Salmonella y E. coli 0157:H7) causan infección y enfermedades mediante la ruta oral fecal de la contaminación de alimentos y puede involucrar vectores, tales como las manos de los humanos, el agua, el suelo o sustratos orgánicos. Por lo tanto, en los programas de inocuidad de los alimentos a base de melón se debe poner atención especial a estos vectores

Mejorar la inocuidad de los alimentos a base de frutas y vegetales es una alta prioridad para toda la cadena de manejo de frutas y vegetales desde el área de producción hasta el consumidor. La industria de frutas y vegetales tiene una larga historia en suministrar a los consumidores frutas y vegetales seguros y saludables; sin embargo, conforme las prácticas de producción agrícola y comercialización/distribución se han vuelto más sofisticadas también se ha observado que las prácticas de inocuidad de los alimentos se deben volver más sofisticadas para abordar correctamente la inocuidad de los alimentos base de frutas y vegetales(Saper et al., 2005).

En años recientes, productores, procesadores y otras personas involucradas en la cadena de distribución adoptaron e implementaron diversas prácticas seguras para el manejo del melón y esto mejoró en gran medida la inocuidad de los melones frescos. El desarrollo de un enfoque integrado que abarque prácticas seguras de manejo de cultivo, cosecha, procesamiento y menudeo (food service) desde el área de producción hasta la mesa es el medio más efectivo de mejorar la calidad e inocuidad de los alimentos a base de melones frescos(Figura 4) (León, 2005).

Como tal, un grupo de interesados en la inocuidad del proceso productivo, que abarca toda la cadena de abastecimientos que consiste de socios de la industria y expertos en inocuidad de alimentos a base de frutas y vegetales, desarrollaron lineamientos los cuales se enfocan en minimizar los riesgos microbiales de inocuidad de los alimentos al proporcionar sugerencias de acciones potenciales para reducir, controlar o eliminar la contaminación

microbial de los melones en el medio continuo de distribución del campo al consumidor (Adams *et al.*, 2005).

2.5.1.- Operaciones unitarias de producción y cosecha.

a).- Problema: Condiciones climáticas y ambiente de producción.Los melones son frutas muy sensibles al daño por el frio y que requieren condiciones de cultivo de clima cálido. Las condiciones de humedad cálida pueden favorecer la persistencia de agentes patógenos humanos e incrementar la presión y actividad de plagas naturales. Muchas especies naturales (aves, insectos, anfibios y serpientes) se conocen por ser portadores potenciales de patógenos humanos. Las lluvias fuertes tambiénpueden causar que los melones se cubran con suelo debido a que la lluvia los humedece (Materón, 2003).

Para ello entre las prácticas de producción del melón se deben considerar la supervisión y reducción de la actividad de animales domésticos, flora y fauna e insectos en los ambientes que puedan contaminar el agua, suelo o sustratos de producción con agentes patógenos a humanos que entran en contacto directo o indirecto con los melones. Y si se presenta una inusual infestación de vida silvestre o si se detecta evidencia de vida silvestre (es decir, presencia de heces de fauna), se debe de considerar si se deben de cosechar o no las partes afectadas de un campo de melón (Bradley *et al.*, 2001).

b).- Problema: Características de la corteza del melón.

Los melones pueden tener superficies de corteza lisa o rugosa (de red). Debido a esta característica, sehan asociado significativamente una mayor cantidad de brotes de enfermedades provocadas por los melones que tienen corteza rugosa (Harris *et al.*, 2003).

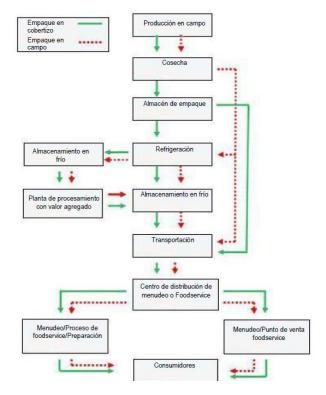


Figura 4.- Diagrama de flujo de la cadena de abastecimientos para melones(Adams et al., 2005).

Los agentes patógenos a humanos pueden adherirse, sobrevivir y ser más difíciles de eliminar de las superficies de la corteza del melón rugoso (Bradley *et al.*, 2001; Richards y Beuchat, 2004; Parnell*et al.*, 2005: Ukuku y Fett, 2002). Por lo tanto, se debe dar consideración especial a las prácticas que

provienen la contaminación de la superficie en los melones especialmente aquellos con este tipo de corteza, ya que una vez que ocurre la contaminación de la superficie, su eliminación es extraordinariamente difícil. En años recientes se han detectado brotes de enfermedades emitidas por los alimentos y retiro de productos del mercado asociados con los melones Cantaloupe debido a la contaminación inadvertida con *Salmonella*. Si bien no es la única ruta de contaminación posible, las partes comestibles de la pulpa del melón se pueden contaminar en el proceso de corte o retiro de la corteza debido a la contaminación microbiana en la corteza exterior del melón que se puede esparcir mediante la hoja del cuchillo. El lavado del melón antes del corte y pelado, si se realiza correctamente, puede reducir las poblaciones microbianas en la parte exterior de los melones en un 2-3 logs UFC (Ukuku y Fett, 2002).

c).-Problema: Marca del pedúnculo y madurez del melón.

La cosecha del melón Cantaloupe por lo general se basa en la etapa de madurez del este fruto, conforme se determine por la formación de una zona de separación entre la parra y el melón. Esta característica de madurez del melón es comúnmente denominada como *slip* y la mayoría de los melones se cosechan entre ¾ y *slip* completo. Sin embargo, las marcas del pedúnculo del melón pueden proporcionar una ruta potencial de entrada para patógenos a humanos hacia la pulpa comestible de los melones. Así mismo, conforme los melones maduran tienen una mayor propensión a permitir la

supervivencia y multiplicación de patógenos en la superficie (Richards y Beuchat, 2004).

d).- Problema: contacto directo del melón con el suelo o sustratos.

Los melones pueden entrar en contacto directo con el suelo o sustratos orgánicos (en la agricultura orgánica) durante su cultivo y desarrollo. Los melones también se pueden colocar en copas (es decir, pequeñas almohadillas de plástico) o camas de plástico cubiertas para impedir que el melón entre en contacto directo con estos materiales y de esta manera reducir el desarrollo de áreas con suelo. Los melones también pueden ser volteados a mano varias veces por los empleados durante la temporada de cultivo para prevenir el desarrollo de áreas con suelo. La importancia del volteo se debe a que, se ha demostrado que las áreas con tierra del melón contienen una cantidad superior de poblaciones microbiales que las áreas que no tienen tierra en la corteza de red del melón (Parnellet al., 2005).

e).- Problema: Daño mecánico.

Los melones son pesados, lo que los hace susceptibles al daño mecánico durante las operaciones de cosecha y manejo posterior a la cosecha. Se debe poner atención especial para minimizar el daño mecánico, tales como perforaciones, grietas y magulladuras de la corteza, ya que estas lesiones pueden proporcionar puntos de entrada para agentes patógenos de plantas y humanos (Adams *et al.*, 2005).

2.5.2.- Operaciones unitarias postcosecha.

- a).- Problema: Consideración de salubridad del equipo del almacén de empaque y del almacén en el campo. El diseño sanitario y los programas de salubridad para el equipo de empaque en el campo y en el almacén de empaque son imprescindibles para garantizar que los melones que salen de estas operaciones unitarias no experimenten un incremento neto en las poblaciones microbianas. El equipo de empaque en el campo y las operaciones de almacén de empaque solo se pueden utilizar por temporada y permanecen inactivas por muchos meses, dejándolos susceptibles a plagas (Castillo *et al.*, 2004; Akins *et al.*, 2005). El empaque en el campo y el equipo del almacén de empaque deben estar diseñados para facilitar las condiciones de salubridad. Las superficies de contacto del melón, incluyendo los cojinetes, se deben construir de materiales que se puedan limpiar y desinfectar con facilidad (Hammack y Bon, 2004).
- b).- Problema: Operaciones de descarga de melón en el almacén de empaque.Los melones se pueden descargar de las cajas en el campo, de vagones con cajón planos de utilidad de cama o de góndolas mediante operaciones de descarga en seco o descarga con agua. Los melones también se pueden poner a flote fuera de las góndolas colocando éstas en sumideros llenos con agua que permitan que los melones floten fuera de las góndolas. En la operación de esta unidad, existe el potencial de una contaminación cruzada de melón a melón, de la superficie de contacto del

alimento con el melón y del melón con el agua (Gagliardiet al., 2003; León, 2005).

c).-Problema: Demora en la refrigeración. La demora en la refrigeración del melón cuando la corteza del melón está húmeda por las operaciones de refrigeración o por el rocío puede permitir la multiplicación de patógenos de origen humano en la superficie de la corteza de los melones. Se deben de implementar operaciones de manejo de melón para minimizar la incidencia de humedad en la corteza del melón, refrigerar y almacenar en frio los melones tan pronto como sea posible después de su cosecha para reducir el crecimiento potencial de patógenos de origen vegetal y humanos (Behrsing et al., 2003).

La posibilidad del que el fruto del melón se contamine por especies del género *Salmonella*spp., *Escherichia coli* 0157:H7 o cualquier otro agente patógeno al humano, puede ser alta debido a su exposición a una serie de factores durante el crecimiento, desarrollo, cosecha y manejo postcosecha. Sembrar en suelos contaminados y utilizar abonos orgánicos mal compostados o agua de uso agrícola 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, son algunos de los factores o agentes que comprometen la calidad sanitaria del melón (Jiménez-Díaz, 2004).

2.6.- La Agricultura Orgánica como Alternativa para lograr la Inocuidad en Alimentos.

La agricultura orgánica (AO) es relativamente nuevaen México, sin embargo, el sistema de producción de alimentos en el pasado era la AO. La producción orgánica de alimentos —en la cual se aplican abonos orgánicos como el compost y el vermicompost- es una alternativa para los consumidores que prefieren alimentos libres de plaguicidas y fertilizantes sintéticos, inocuos y con un alto valor nutricional (Márquez-Hernández*et al.*, 2010).Lo anterior cobra relevancia en virtud de que la elaboración de abonos orgánicos constituye una práctica importante para la eliminación de algunos de los desechos generados por la agroindustria, así como la conversión de estos subproductos en materiales que puedan utilizarse para la mejora del suelo. El uso de sustratos orgánicos ha cobrado gran importancia por diversas razones. Desde el punto de vista económico, su uso se ha fomentado por la agricultura orgánica, ya que es una respuesta a la mejora de prácticas agrícolas (Nieto-Garibay*et al.*,2002).

Un abono en general se considera aquel material que se aplica al suelo y estimula el crecimiento de las plantas de manera indirecta, a través de mejorar las propiedades físicas del suelo. Por otro lado, un material se considera como fertilizante cuando estimula el crecimiento de manera directa a través de aportar elementos nutritivos indispensables para las plantas. En el contexto anterior, los abonos provenientes de residuos orgánicos, como los estiércoles, de diferentes especies de animales, los biosólidos, los

residuos de cosecha y los composts pueden considerarse como abonos y también como fertilizantes orgánicos (Chaney et al., 1992; Hernández-Rodríguez et al., 2010).

En años recientes ha aumentado el interés por el uso de abonos orgánicos. Sin embargo, es necesario un manejo adecuado para evitar riesgos de contaminación o de sobrefertilización, algunos riesgos de contaminación por el uso de abonos orgánicos, de acuerdo con Uribe-Lorio (2003) son, entre otros:

- 1.- En regiones lluviosas o en condiciones de riego, dosis excesivas de abonos pueden contaminar el acuífero con nitratos. Las actividades agrícolas han sido señaladas como fuentes de contaminación por nitritos.
- 2.- En regiones donde las lluvias provocan escurrimientos superficiales, el acarreo de partículas con fósforo fijado puede contaminar cuerpos de agua superficial, como son ríos, arroyos y lagos.
- 3.- Abonos orgánicos como los biosólidos (lodos residuales de plantas tratadoras de agua) pueden provocar riesgos de contaminación por metales pesados sino se dosifican adecuadamente.
- 4.- Es necesario considerar el tipo de abono y el tipo de cultivo a establecer para evitar riesgos de contaminación microbiológica.

Entre las ventajas atribuidas a la utilización de abonos orgánicos se les señala como fuente de elementos nutritivos disponibles y de microorganismos benéficos, además aumentan la materia orgánica del suelo

y por lo tanto, la estructura del mismo, propician el incremento en la capacidad de retención de humedad y favorecen el drenaje. También, los abonos orgánicos aportan organismos (como bacterias y hongos) capaces de transformar los materiales insolubles del suelo en elementos nutritivos para las plantas y degradar sustancias nocivas (FAO, 2013).

Adicionalmente, se espera que estos productos no afecten la salud de las plantas, animales y humanos debido a la presencia de sustancias tóxicas y/u organismos patógenos. Lo anterior en virtud de que el proceso de elaboración de los abonos debe de eliminar o reducir significativamente los patógenos y sustancias tóxicas presentes en los sustratos utilizados (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2010; FAO, 2013).

Debido a que el término abonos orgánicos incluye un grupo muy variado de materiales, a saber compost, lombricompost o vermicompost, bocashi, biofermentos, gallinaza, estiércoles de diferentes animales, etc., Solo se describirán los sustratos orgánicos utilizados en la investigación (compost y vermicompost); siendo éstos, los más sobresalientes ya a que en sus procesos de elaboración se aplican métodos biológicos que transforman restos orgánicos de distintos materiales en un producto relativamente estable (Claassen yCarey, 2004).

2.6.1.-El Compost.

El proceso de compostaje involucra la descomposición de materiales orgánicos bajo condiciones en las cuales se favorece el aumento de la temperatura como producto de la oxidación aerobia de los desechos (Coiné, 2000). En este proceso las temperaturas se mantienen entre 43 y 65 °C

(Rynk, 1992). Durante el compostaje ocurren cambios en las poblaciones de microorganismos presentes en los sustratos debido a las transformaciones químicas sufridas por los materiales así como a los cambios en temperatura producto de la actividad exotérmica (Paul y Clark, 1996; FAO, 2013).

De hecho, la transformación del compost es iniciada por bacterias mesofilicas (organismos cuya temperatura de crecimiento óptima se sitúa entre los 20-40 °C) que al descomponer los materiales aeróbicamente aumentan la temperatura del sistema. Durante la fase mesofilica inicial, donde las cantidades de carbohidratos asimilables son altas, predominan las bacterias, el aumento de temperatura y la reducción de sustratos lábiles provocan cambios en la población de microorganismos, en esta fase la población mesofilica disminuye y ocurre un aumento de los organismos termófilos (temperatura óptima de crecimiento entre los 60 y 80 °C) (Paul y Clark, 1996; Coiné, 2000; Atlas y Bartha, 2002; FAO, 2013).

La máxima actividad termofilica en el compost se sitúa entre 60 y 65 °C. El compost debe mantenerse bajo estas condiciones durante el mayor tiempo posible. Esto no solo sirve para acelerar el proceso de fabricación de compost –el aumento de temperatura incrementa la actividad microbianasino que destruye a los patógenos presentes en el material composteado. Lo que resulta particularmente importante en el caso de los lodos y estiércoles (Coiné, 2000; Shrestha *et al.*, 2011).

2.6.2.- Vermicompost.

El Vermicompost (VC) es el producto de una serie de transformaciones bioquímicas y microbiológicas que sufren los desechos orgánicos al pasar a través del tracto digestivo de las lombrices (Edwards *et al.*, 1984; Valadares-Veras y Povinelli, 2004; FAO, 2013). El vermicompostaje es un método que utiliza lombrices de tierra para consumir y procesar desechos orgánicos (estiércoles de animales, hojarasca, residuos de vegetales, entre otros) y convertirlos en un producto de uso agrícola (Coiné, 2000; Soto, 2001; Hernández-Rodríguez *et al.*, 2010).

Como sustrato el VC permite satisfacer la demanda de elementos nutritivos de los cultivos hortícolas en invernadero y reduce significativamente el uso de fertilizantes sintéticos. Además, el VC contiene sustancias activas que actúan como reguladores de crecimiento, elevan la capacidad de retención de humedad y la porosidad, lo que facilita la aireación, drenaje del suelo y los medios de crecimiento (Hashemimajd *et al.*, 2004; Rodríguez *et al.*, 2008).

El VC presenta las siguientes características químicas: es rico en Materia Orgánica (MO) total y de baja conductividad eléctrica (Sharma *et al.*, 2005), contiene elementos nutritivos en formas fácilmente asimilables por las especies vegetales, tales como nitratos, fósforo intercambiable, potasio, calcio y magnesio en formas solubles y un pH neutro (Atiyeh *et al.*, 2000). Además, Panikkar *et al.*, (2004) señalan que las transformaciones sufridas por los desechos al ser ingeridos por las lombrices, los cambios en el pH, así como la inoculación con la flora microbiana existente en el tracto digestivo

éstos organismos, provocan cambios en la población microbiana de los desechos reduciendo así la carga de organismos patógenos.

2.7.- Aplicación del compost y vermicompost en la agricultura y su relación con la presencia de organismos patógenos

Habitualmente la descomposición de los residuos orgánicos es un proceso de baja velocidad, sin embargo otros mecanismos de humificación, como el compostaje, pueden acelerar dicha velocidad. El compostaje frecuentemente es utilizado, cuando la conversión de la Materia Orgánica (MO) fresca a sustratos, con un alto grado de descomposición, es realizada en un período de tiempo relativamente corto (habitualmente pocos meses). Durante el proceso de compostaje, los residuos orgánicos se descomponen bajo la acción de diversos microorganismos y factores ambientales, y los productos principales son CO₂, H₂O, iones minerales y MO estabilizada, rica en substancias húmicas que recibe el nombre de humus (Velazco *et al.*, 2003).

Como resultado del proceso de compostaje, los residuos orgánicos son reciclados en productos estabilizados que pueden ser aplicados al suelo como una fuente de MO relativamente seca y sin olor, la cual podría responder más segura y eficientemente a los requerimientos de fertilidad orgánica del suelo que la incorporación de materiales frescos. Así pues, para acelerar el proceso de recuperación del suelo, muchos productores utilizan además de las fuentes frescas de MO, la elaboración y aplicación de abonos

orgánicos como el compost y ellombricompost o vermicompost (Soto y Muñoz, 2002).

El compostajees una técnica muy antigua 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. Las materias primas utilizadas en el compostajerepresentan una amplia gama de residuos orgánicos tales como los residuos sólidos municipales (MSW, por sus siglas en inglés), los lodos de aguas negras (biosólidos), residuos de jardín y verdes, estiércoles que son fuentes de organismos patógenos a humanos (Raviv, 2005).

En relación con éste último, los análisis microbiológicos constituyen un aspecto importante para determinar la calidad sanitaria del compost y vermicompost. Para ello se utilizan grupos de organismos indicadores de calidad y organismos patógenos (FAO, 2013):

1.- Coliformes termotolerantes (denominados también fecales)

De acuerdo a la EPA10 la presencia de este grupo en un alto númeroes un posible indicador de la presencia de bacterias patógenas como *Salmonella, Shigella y E. coli.* También su presencia en concentraciones altas enun compost o material orgánico indica que el proceso térmico ha sido insuficienteo deficiente. Es decir, el compost no alcanzó las temperaturas adecuadas o quese alcanzaron pero por periodos de tiempo muy cortos o que se presentó unacontaminación posterior con agua durante las etapas de enfriamiento. Se haestablecido que recuentos por debajo de 1.000 UFC• g

¹de peso seco delcompost significa que los patógenos entéricos han sido destruidos.

2.- Bacterias patógenas

En las materias primas como los estiércoles pueden encontrarse bacterias patógenas para humanos y animales, siendo de especial interés la presencia de *Salmonella* spp. Este microorganismo es uno de los principales agentes de ETAs y puede ser habitante normal del tracto digestivo de animales que incluyen aves (siendo el pollo un importante reservorio), bovinos, porcino entre otros (Carrascal, 2011).

Igualmente es de interés *E. coli* O157:H7, que se ha asociado enfermedades causadaspor consumo de frutas y vegetales crudos o sus productos no pasteurizados (Islam*et al.*,2005). Tiene como reservorios animales como el ganado vacuno, ciervos y ovejas,y puede sobrevivir hasta 70 días en el estiércol, dependiendo de la concentración yla temperatura. Otros patógenos que se han encontrado en compost y que podríanllegar al hombre por el consumo de alimentos contaminados incluyen: *Clostridium perfringens, Listeria monocytogenes, Bacillus cereus y Cryptosporidium parvum*(Beuchat, 2006).

En los procesos de compostaje y vermicompostaje, la presencia de patógenos, son considerados para definirla calidad del material aplicado al suelo. Los límites varían según los países, aunque se tiene como referente elmarco de normativa propuesto por la EPA y por la Unión Europea (EU) (Cuadro 1) (FAO, 2013).

Hechas las consideraciones anteriores, se deduce que la presencia o ausencia de organismos patógenos en el compost y vermicompost, utilizados en la producción agrícola, depende de los procesos de compostaje y vermicompostaje que lleven a cabo las materias primas utilizadas (estiércoles, lodos de aguas negras, hojarasca, etc.) y de la temperatura de estos procesos (FAO, 2013).

Cuadro 1.- Limites microbiológicos permitidos en el compost y vermicompost para determinar su inocuidad.

		Países con el límite de tolerancia					
Microorganismos	Chile	Unión Europea	Colombia	México			
Coliformes	□1000	□1 x 10 ³	□1000	□1000			
fecales	NMP•g	NMP•g	UFC•g	UFC•g			
Salmonella spp	Ausente	Ausente en 25	Ausente en	□3 •g en bs			
	en 25 g de	g de producto	25 g de				
	producto		producto				
Enteroococcus	-	-	1000	-			
faecalis			NMP•g				
Huevos viables	Ausente	Hasta 1	ND	□10•g en bs			
de	en 1 g	organismo en 1					
Helmintos/Ascaris		g de producto					
Hongos	-	Algunos países	Ausente	Ausente			
fitopatógenos		incluyen	según				
_		Plasmodiophora	especie				
		brasicae	vegetal				

NMP = Número Más Probable; UFC = Unidades Formadoras de Colonias; bs = base seca

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.- Establecimiento y manejo del Melón Cantaloupe.

El establecimiento del cultivo, del cual se obtuvieron los frutos para la realización del análisis microbiológico, se realizó en el invernadero del Cuerpo Académico Sistemas Sustentables para la Producción Agropecuaria (CASISUPA) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Unidad Laguna, localizada en el Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe s/n, en Torreón, Coahuila. Y el estudio bacteriológico en el laboratorio de Ciencia y Tecnología de Alimentos Orientados a la Salud (CyTAOS), de la escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Coahuila. El desarrollo del cultivo se llevó a cabo durante el ciclo Primavera-Verano; comprendiendo los meses de Febrero a Julio del 2013. Como sustratos para el crecimiento de las plantas de melón se utilizaron mezclas de diferentes abonos orgánicos [compost simple (CS), compost con yeso (CY) y vermicompost (VC)] con arena de rio (AR), como material inerte (cuadro 1), Los tratamientos obtenidos (T0-T12) con cuatro repeticiones se distribuyeron dentro del invernadero en cuatro bloques completamente al azar. El manejo agronómico del melón se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Moreno-Resendez et al., (2010). Para una mejor descripción del manejo agronómico se muestra en el ANEXO 1 Diagrama de flujo general del manejo del cultivo del melón.

Cuadro 2. Tratamientos obtenidos para el desarrollo del melón en diferentes sustratos orgánicos.

_				
	Materia	les en relación volu	men (T)	
	VC:AR (T)	CS:AR (T)	CY:AR (T)	Testigo (T0)
	1:1 (T1)	1:1 (T2)	1:1 (T3)	AR al 100% + SN
	1:2 (T4)	1:2 (T5)	1:2 (T6)	AR al 100% + SN
	1:3 (T7)	1:3 (T8)	1:3 (T9)	AR al 100% + SN
	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 rio; SN= Solución nutritiva de Steiner (1994); T= Tratamientos (T0-T12); T= Sin frutos para evaluar.

3.2.- Toma de Muestras de Frutos en el Invernadero.

La toma de muestras se llevó a cabo cuando los frutos alcanzaron su maduración, al momento de formarse tejido de absorción alrededor del pedúnculo (Cantamutto *et al.*, 2000). La cosecha se realizó del 4 al 16 de Julio del 2013; dividiéndose el muestreo en tres etapas debido a que los frutos alcanzaron su madurez en diferentes momentos. El primer muestreo se realizó el día 4 de Julio, el segundo el día 9 y el tercero el 15 de Julio de 2013.

Estas actividades se llevaron a cabo de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM 109-SSA1-1994, Bienes y servicios. Procedimiento para la Toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico; utilizando los materiales estériles para la toma de frutos (guantes, batas, tapabocas, tijeras) para no alterar las condiciones de los mismos, colocándolos en bolsas de plástico, debidamente etiquetadas, y posteriormente se depositaron en hieleras para su conservación durante el

traslado hacia el Laboratorio CyTAOS de la Escuela de CienciasBiológicas, U A de C, Unidad Torreón.

De cada repetición por tratamiento se obtuvo un fruto y al momento del corte, cada uno de éstos se colocó en un bolsa de plástico, conteniendo 250 mL de agua peptonada al 1% donde se realizó el enjuague a la superficie exterior de los frutos (Exocarpio), de los cuatros enjuagues se obtuvo una muestra compuesta de 1 L, sobre la cual se realizó el análisismicrobiológico (Isidro-Requejo *et al.*, 2006).

Para el análisis microbiológico de la parte interna (Mesocarpio o pulpa) los cuatro frutos se descascararon y una cuarta parte de éstos se cortó en forma de cubos, de aproximadamente 0.5 cm³, estos cubos se homogenizaron y posteriormente se extrajo una muestra representativa de 10 g, la cual fue colocada en 90 mL de agua peptonada al 1%. (ANEXO 2 Desarrollo de la preparación de los medios de cultivo).

3.3.- Análisis microbiológico.

Las bacterias determinadas en este experimento fueron CT y CF, para ello se utilizó el Método descrito por la NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. El recuento de CT y CF, el Método para la cuenta de Microorganismos CT en placa, considerando para cada tratamiento hasta la dilución 10⁻³ con tres repeticiones de cada dilución (ANEXO 3 Diagrama del procedimiento del análisis microbiológico de las muestras).

De cada muestra, tanto de la muestra compuesta del enjuague y de pulpa de melón, se realizaron tres diluciones (10⁻¹ a 10⁻³), las que se prepararon

mezclando 1 mL de la muestra con 9 mL de solución salina (0.85 g de NaCl•100 mL de agua), de cada una de las diluciones se depositó 1 mL en una caja Petri. Se utilizó un tubo de ensaye para cada una de las diluciones para cada una de las repeticiones.

Enseguidade la inoculación de la dilucionesen las cajas Petri (debidamente etiquetadas con el Nombre del grupo bacteriano, Número de Dilución y Número de repetición), se realizó el vaciado del medio de cultivo de Agar Bilis Rojo-Violeta (ABRV)15 mL, para la primer capa de inoculación de CT y CF y se dejó solidificar durante 30 minutos. Posteriormente, una vez que se concluyó el proceso de solidificación de la primer capa de ABRV, se rellenó con una segunda capa de Agar Bilis Rojo-Violeta de aproximadamente 4 mL. Finalmente, solidificada la segunda placa de Agar Bilis Rojo-Violeta, las cajas Petri para bacterias CT se incubaron durante 24 h a una temperatura de 35 °C y las cajas Petri para bacterias CF se incubaron (Incubadora: Felisa®) durante 48 h a una temperatura de 42 °C.

Concluido el periodo de incubación de cada una de las bacterias CT y CF, se realizó el conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC)con un cuenta colonias tipo Quebec 120 V (Modelo: TS3298A80, LEICA ®).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de las CT, determinadas de la parte externa y la pulpa de los frutos de melón, se aprecian en el Cuadro 2. En el enjuague que se obtuvo de la parte externa de los frutos, los tratamientos T1, T3, T4 y T12, para la dilución 10⁻¹ Obtuvieron los valores mayores de CT; el cual el T1 obtuvo el mayor número de UFC de CT (932 UFC de CT) y este tratamiento estuvo constituido con Vermicompost y Arena de Rio con la relación de volumen 1:1.

Los tratamientos T1, T3, T4 y T12, en las tres repeticiones (R1, R2 y R3),sobrepasaron el nivel ≥100 UFC•mL⁻¹ de CT, el cual se considera como el límite permitido por la Secretaria de Salud de México de acuerdo a las normasNOM-113-SSA1-1994; Limites microbiológicos de la *International Comisión para las especificaciones de los alimentos* (ICMSF, por sus siglas en ingles). Mientras que en el análisisaplicado a la pulpa del melón los tratamientos que rebasaron este nivel fueron T1, T3, T7 y T10; de estos tratamientos, el tratamiento T1 (Vermicompost con Arena de Rio, con relación de volumen: 1:1)registró640 UFC de CT en la dilución 10⁻¹; repetición tres; siendo este resultado el mayor número de CT obtenido.

Pascual, (1992) señala que no todos los Coliformes son de origen fecal, por lo que se hizo necesarios desarrollar pruebas para diferenciarlos, a efectos de empleados como indicadores de contaminación.

Cuadro 3. Unidades Formadoras de Colonias de CT en la parte externa y en la pulpa de frutos de melón desarrollados en diferentes abonos orgánicos.

	<u> </u>	Coliformes Totales						
Т	R		Diluciones			Diluciones		
		(PE UFC•mL ⁻¹)			(Pulpa UFC•g ⁻¹)			
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	
	1	1	NP	NP	1	NP	NP	
T0	2	NP	NP	NP	4	4	NP	
10	3	2	NP	NP	NP	NP	NP	
	1	545	73	15	120	64	NP	
T1	2	575	148	85	175	2	NP	
• • •	3	932	173	60	640	27	NP	
-	1	71	2	NP	NP	NP	NP	
T2	2	89	3	NP	NP	NP	NP	
12	3	29	4	NP	NP	NP	NP	
	1	180	43	7	147	6	2	
Т3	2	135	30	9	93	6	NP	
13	3	165	75	NP	47	NP	NP	
	1	400	207	90	54	NP	NP	
T4	2	375	198	125	NP	NP	NP	
17	3	415	207	95	9	NP	NP	
	1	74	NP	NP	NP	NP	NP	
T5	2	97	NP	NP	NP	NP	NP	
13	3	7	NP	NP	NP	NP	NP	
	1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
Т6	2	NP	NP	NP	1	NP	NP	
10	3	NP	NP	NP	2	NP	NP	
	1	43	18	NP	199	33	NP	
T7	2	1	1	NP	144	27	6	
1,	3	17	6	NP	99	38	1	
	1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
T8	2	1	NP	NP	NP	NP	NP	
10	3	1	NP	NP	NP	NP	NP	
	1	-	-	-	-	-	-	
T9 [¶]	2	-	_	_	_	-	-	
13	3	-	-	-	-	-	-	
	1	5	NP	NP	123	4	NP	
T10	2	NP	NP	NP	129	22	NP	
	3	NP	NP	NP	53	5	NP	
	1	4	NP	NP	NP	NP	NP	
T11	2	2	NP	NP	NP	NP	NP	
	3	2	NP	NP	NP	NP	NP	
	1	165	107	31	71	NP	NP	
T12	2	115	22	41	97	NP	NP	
112	3	130	6	37	19	1	NP	

T = Tratamientos (T0-T12): R = Repetición; UFC = Unidades Formadoras de Colonias; NP = No presentó; PE = Parte Externa; = Sin desarrollo de frutos.

Se distinguen por lo tanto, los CT, que comprenden la totalidad del grupo y los CF aquellos de origen intestinal. La presencia de CT en los frutos de

melón Cantaloupe tanto en la parte externa e interna no significa que se encuentren contaminados por patógenos a humanos ya que Frazier, (2002) establece que en la inocuidad de los alimentos los CT no se consideran indicadores de contaminación fecal, sino solamente indicadores de calidad, y que los CF son los únicos para evaluar la calidad e inocuidad de los alimentos.

Con respecto a la presencia de CF en la parte externa de los frutos (cuadro 3) el tratamiento T4 registró un promedio de 36.6 UFC•mL⁻¹en la dilución 10⁻³ y en pulpa el T7 registró 3UFC•g⁻¹ en la dilución 10⁻¹.

La escasa presencia de CF en los análisis realizados en los frutos de melón, tanto en la parte externa o como en la pulpa, excepto en los tratamientos T4 (Vermicompost-Arena de Rio, en relación a volumen: 1:2) y T7 (Vermicompost-Arena de Rio, en relación de volumen: 1:3) corrobora lo señalado por Panikkar *et al.*, (2004) quienes establecieron que la mayoría de los organismos patógenos a humanos, incluyendo *E. coli* son eliminados por las lombrices que participan en el vermicompostaje. Situación que coincide también con lo establecido por Eastman *et al.*, (2001) quienes lograron reducir la carga de patógenos (*Salmonella, E. coli*, virus entéricos y huevos de helmintos) en el tratamiento de vermicompostaje de lodos. Estos mismos autores observaron en un experimento una mayor reducción de CF en el tratamiento vermicompost que en el control, este resultado no se repitió en el caso de los otros patógenos evaluados (Cuadro 4).

Cuadro 4. UFC de CF en la parte externa y en la pulpa de frutos de melón desarrollados en diferentes abonos orgánicos.

	21011 403	Coliformes Fecales						
Т	R						uciones	
		(PE UFC•mL ⁻¹)		(Pulpa UFC•g ⁻¹)				
		10 ⁻¹	10 ⁻¹ 10 ⁻² 10 ⁻³		10^{-1} 10^{-2} 10^{-3}			
T0	1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
10		NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
• •	2	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2 3	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
T2	1	3	NP	NP	NP	NP	NP	
. –		NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	3	2	NP	NP	NP	NP	NP	
T3	2 3 1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
10		NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2 3	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
T4	1	810	95	38	NP	NP	NP	
	2	717	85	27	NP	NP	NP	
	2 3 1	309	100	45	NP	NP	NP	
T5	1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2 3	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
T6	1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2 3 1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
T7	1	133	NP	NP	3	NP	NP	
	2	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	3	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
T8	1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2 3 1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
T9 [¶]	1	=	=	-	-	-	-	
	2	-	=	-	-	-	-	
	3	-	-	-	-	-	-	
T10	1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	3 1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
T11		NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	3 1	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
T12		NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	2	NP	NP	NP	NP	NP	NP	
	3	NP	NP	NP	NP	NP	NP	

T = Tratamientos (T0 – T12): R = Repetición; UFC = Unidades Formadoras de Colonias; NP = No presentó; PE = Parte Externa; ¶ = Sin desarrollo de frutos.

Cuadro 5. Muestras iniciales y finales en un vermicompost a partir del manejo de biosolidos (Eastman *et al.*, 2001).

Indicador	Vermicompost			Control		
Coliformes Fecales (UFC•g)						
Inicial	301	314	313	313	326	329
Final	2.8	0	0	70	99	76
Coliformes Fecales (LogNMP•g)						
Inical	0.09	1.05	1.05	1.05	1.05	1.06
Final	-0.16	0	0	0.05	0.06	0.05
Salmonella spp. (células•g)						
Inicial	7	3	4	9	2	6
_Final	□1	□1	□1	1	□1	□1
Virus entéricos						
(Efecto citopatico)						
Inicial	-	+	+	+	-	+
Final	-	-	-	-	-	-
Huevos de helmintos						
(huevos•4 g)						
Inicial	4	1	4	□1	2	1
Final	□1	□1	□1	□1	□1	□1

Por lo tanto, en el vermicompost como en el tratamiento control, los números patógenos se redujeron abruptamente (Cuadro 5). En un experimento a nivel de campo, Eastman *et al.*, (2001) encontraron en el tratamiento sometido a vermicompost, una reducción en las poblaciones de patógenos con respecto al control; obteniéndose en el vermicompost niveles de CF menores al límite sugerido por Strauch (1987) de 5 x 10⁻² UFC•g⁻¹ como adecuado para el tratamiento de este tipo de desechos. De acuerdo con los razonamientos que se han venido realizando, los resultados obtenidos en este experimento contienen valoresmás altos de CF en los tratamientos T4 y T7 respecto a los datos reportados por Eastman *et al.*, (2001) (Cuadro 5).

Cabe agregar que Ávila *et al.* (2008) realizaron un diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México, y determinaron

claramente que en las muestras de diferentes tipos de chile, tomate y melón no se detectó la presencia de *Salmonella* Spp (Cuadro 6). Tampoco se detectó la presencia de *Escherichia coli* en estas muestras, excepto en chile chilacas (verde), aunque no fue la cepa *E. coli* 0157:H7. A pesar que el melón tiene una epidermis rugosa, el mismo no presentó contaminación significativa. En efecto, en comparación a los resultados en este experimento; la presencia de CF en los T4 y T7 denotan la posible presencia de CF en el melón. Considerando que en esta evaluación se utilizaron abonos orgánicos a base de estiércoles de ganado bovino.

Cuadro 6. Análisis microbiológico en diferentes hortalizas (Ávila *et al.*, 2008).

Análisis	Chile chilaca	Chile jalapeño	Chile serrano	Tomate saladet	Tomate grape	Melón
Salmonella spp <i>E. coli</i> (NMP•mL)	No detectable 22*	No detectable No detectable	No detectable No detectable	No detectable No detectable	No detectable No detectable	No detectable No detectable
Coliformes totales (NMP•mL)	262	1398	>1100	2,4	NA	NA NA
Hongos y levaduras (UFC•MI)	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

V. CONCLUSIÓN

Bajo las condiciones en las que se llevó a cabo el experimento, y debido a que los frutos del melón no presentaron UFC de CF en la mayoría de los tratamientos evaluados, excepto en los tratamientos T4 y T7 en la parte externa del fruto y en la pulpa del melón. Se concluyó:

- 1.- Que los sustratos orgánicos utilizados: Vermicompost, Compost simple y Compost Yeso; mezclados con Arena de Rio, favorecieron a la inocuidad de los frutos de melón.
- 2.- Se redujo el riesgo de contaminación biológica por el uso de abonos orgánicos a base de estiércoles en la producción agrícola. Siendo así, la Agricultura Orgánica una alternativa para proveer al consumidor alimentos libres de plaguicidas y fertilizantes sintéticos, inocuos y ricos en elementos nutritivos para su consumo.

VI. LITERATURA CITADA

Con formato: Español (alfab. internacional)

- Adams, D., Crawford, M., Fleming, P., Gorny J., Young, T. 2005.Lineamientos de inocuidad específicos para los productos de la cadena de abastecimiento del melón. 1a. Edición. Editado por: Produce Marketing Association y United Fresh Fruit and Vegetable Association. 7 de Noviembre de 2005.
- Adams, M. R. y Moss, M. O. 1997. Microbiología de alimentos. Universidad de Surrey. 1^{ra} Edición. Editorial Acribia, S. A. Royo, 23-50006 Zaragoza, España. 478 pp.
- Akins, E. D., M.A. Harrison y W.C Hurst. 2005. Microflora en los cantaloupes cultivados en Georgia relacionados con las prácticas de empaque y manejo. 92va Reunión Anual; 2005 14 17 de agosto; Baltimore, MD: p 105
- Apella, M. C. y Araujo, P. Z. 2011. Microbiología de agua. Conceptos básicos. Centro de Referencia para Lactobacilos y Universidad Nacional de Tucumán. Chacabuco 145, San Miguel de Tucumán, Argentina. 14ª Edición. Pág. 33-50.
- Atiyeh, R. M., Domínguez, J., Subler, S., Edwards, C. A. 2000. Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eiseniaandrei* B.) and the effects on seedling growth. PEDOBIOLOGIA 44: 709-724.
- Atlas, R.M; Bartha, R. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. 2° edición en español. Pearson Educación, S.A. Madrid. 677 p.
- Ávila-Quezada, G., Sánchez, G. E., Muñoz, E., Martínez, L. R., Villalobos E. 2008. Diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México. Centro de Investigación en Alimentos y Desarrollo. A. C. Av. 4ta. Sur No 3820. Delicias, Chihuahua. México. Revista Internacional de Botánica Experimental.
- Behrsing, J. y Jaege, J. 2003. Supervivencia de *Listeria innocua, Salmonella salford* y *Escherichia coli* en la superficie de frutas con pieles no comestibles. Postharvest Biol. Technol 29(3): 249256.
- Beuchat L. 2006. Vectors and conditions for preharvest contamination of fruits andvegetables with pathogens capable of causing enteric diseases.British Food Journal. 2006;138:38-53.
- Bortman, M. P., M. A. Brimblecome, W. P. Cunningham y W. Freedman.2003. EnvironmentalEncyclopedia.3th Edit.Vol. 1. Thomson Gale. EUA.
- Bradley, M. L. y J. Lukasik. 2001. La localización y persistencia de contaminantes virales y bacteriales en la superficie del Cantaloupe inoculado y su respuesta a los tratamientos de desinfección [abstracto]. 88va Reunión Anual de la IAFP [Programa y resumen]; 2001 5 8 de agosto; Minneapolis, MN: p 54.

- Brooks, Geo. F., Morse, A. S., Carroll, C. K., Mietzner, A. T. y Janet S. 2011. Microbiología Médica. Primera Edición. Editorial McGRAW-HILLINTERAMERICANA S.A de C. V. México, D. F. ISBN 968-426-972-2. 773 pp.
- Camacho, A., m. Giles, A. Ortegón, M. Palao, B. Serrano y O. Velázquez. 2009. Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.
- Cañet, F. M, Gordillo, M., Y C. Bernal.2002. Calidad y seguridad de frutas y vegetales de la finca a la mesa. Fórum Tecnológico de Aseguramiento de la Calidad del Programa Alimentario en Sancti Spiritus.
- Cañet, F. M., Vega, M., Gordillo, M., Y E. Peña. 2003. Importancia del aseguramiento de la calidad e inocuidad en las producciones orgánicas de frutas y vegetales. V Encuentro de Agricultura Orgánica. ACTAF.
- Cantamutto, M., M. Ayastuy, I. Kroeger, V. Elisei y P. Marinangeli. 2000. Efecto del sistema de iniciación y del acolchado del suelo sobre la producción de melón en el sur de la provincia de Buenos Aires, Argentina. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata 104 (2): 157-162.
- Carrascal A K, Castañeda R, Pulido A. 2011. Perfil de riesgo *Salmonella spp* en pollo entero y en piezas. In: Salud INd, editor. Bogota. p. 1-138.
- Castillo, A., I. Mercado, A. Bustamante, F., Escalante. 2004. Contaminación de *Salmonella* durante la producción de Cantaloupe: un estudio binacional. J. Food Prot. 67(4): 713720.
- Chaney, D. E., Drinkwater, L. E. and Pettygrove, G. S. 1992 Organic soil amendments and fertilizers. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 21505.36 pp.
- Claassen, V. P. y Carey, J. L. 2004.Regeneration of nitrogenfertility in disturbedsoilsusing compost. Compost Sci. &Util 12(2): 145-152.
- Codex Recommended International Code of Practice-General Principles of Food Hygiene (CAC/RCP 1-1969). 2009. *In*: FAO and WHO. *Food Hygiene Basic Texts* [En línea]. Fourthedition. Consultado en: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs125/es/. Revisado el: 22/11/2013).
- Comisión del Codex Alimentarius (CCA). 2002. Informe de la décima reunión del comité del Codex sobre frutas y hortalizas frescas. Ciudad de México, México, 10-14 de junio.
- Comité Consultor Nacional sobre Criterios Microbiológicos para los Alimentos (CCNCMA) 2008. Evaluaciones de inocuidad microbiológica y recomendaciones sobre frutas y vegetales frescos". Food Control 10: 117143.
- Coyne, 2000. Microbiología de Suelos: un enfoque exploratorio. Editorial Paraninfo. Madrid, España. 416 p.
- 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.

- Edwards, C. A., Burrows, I., Fletcher, K. E., Jones, B. A. 1984. The use of earthworms for composting farm wasted. *In*: Gasser JKR (ed). Composting of agricultural and other wastes. Els. App. Sci. Publ. London. 241 pp.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations y World Health Organization (FAO-WHO). 2008. *Microbiological hazards in fresh leafy vegetables and herbs: meeting report*. Microbiological Risk Assessment Series No. 14, Rome.
- Food and Drug Administration (FDA). 2002. La FDA anuncia importante alerta sobre cantaloupes mexicanos. Disponible en://www.fda.gov/bbv/topics/ANSWERS/SPANISH/span01167.html. Fecha de consulta: 15 de julio de 2013.
- Food and Drug Administration Centre for Food Safety and Applied Nutrition (FDA-CFSAN). 1998. Guide to minimize microbial food safety hazards for fresh fruits and vegetables [On line]. Consultado en: http://www.foodsafety.gov/~dms/prodguid.html>. Fecha de consulta: 23-Oct.13.
- 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 [en línea]. Consultado en: http://www.cfsan.fda.go/~comm/ift3-a.hltm. Fecha de consulta: 14-Oct-2013.
- Frazier, W. C. 2002. Microbiología de Alimentos. 6ª ed. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 693 pp.
- Gagliardi, J. V. y Millner, P. D. 2003. Procesamiento en la granja y posterior a la cosecha como fuentes de contaminación bacteriana para la corteza del melón". J. Food Prot. 66(1): 8287.
- González, S., de Camargo, Natal Jatai, Castellanos, P. L., González, G., Perdomo, M., Grillo Rodríguez, M., Romero, A. Y F. Quevedo. 1996. GUIAVETA, Guía para el establecimiento de sistemas de vigilancia epidemiológica de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) y las investigaciones de brotes de toxiinfecciones alimentarias. OPS, HPV/FOS/103/96, 39 pp.
- Hammack, T. S. y Bon, I. E. 2004. Efectividad relativa del método Manual Analítico Bacteriológico para la recuperación de la *Salmonella* de los melones enteros cantaloupes enjugados con medios pre-enriquecidos seleccionados y métodos rápidos. J. Food Prot. 67(5): 870877.
- Harris, L.J. y J.N. Farber.2003.Brotes asociados con las frutas y vegetales frescos: Incidencia, crecimiento y supervivencia de patógenos en frutas y vegetales precortados. Comprehensive Rev. Food Sci. Food Safety.2:78141.
- Hashemimajd, K., Kalbasi, M., Golchin, A., Shariatmadari, H. 2004 Comparison of vermicompost and compost as potting media for growth of tomatoes. J. Plant Nutr. 27: 1107-1123.
- Henry, J. B. 2005. Laboratorio en el Diagnóstico clínico Todd-Sanford. 20' Edición. Editorial Marbán. Madrid, España. Vol. 2. 641 pp.

Con formato: Español (alfab. internacional)

Con formato: Español (alfab. internacional)

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

- Hernández-Rodríguez, O. A., Ojeda-Barrios, D. L., López-Díaz, J. C., Arras-Vota, A. M. 2010. Abonos orgánicos y su efecto en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. TECNOCIENCIA, Chihuahua. Vol. IV, No 1. Pp. 23-32.
- Instituto Boliviano de Normalización y Calidad (IBNORCA). 2013. Técnicas de Muestreo de Alimentos para el Análisis Microbiológico [En línea]. NB 32001-05. Tercera revisión.1-2 p. Consultado en: http://abeleon.files.wordpress./2010/03/catalogo08.pdf. Fecha de recuperación: 25/10/2013.
- Isaac-Márquez, A. P., C. M. Lezama-Dávila, P. P. Ku-Pech y P. Tamay-Segovia. 1994. Calidad sanitaria de los suministros de agua para consumo humano en Campeche. Salud Pública de México. 36(6): 655-661.
- Isidro-Requejo, L. M., M. Ramírez-Pérez, A. Vega-Piña, Ma. A. Chavira-Zúñiga, Ma. DeL Froto-Madariaga y P. Cano-Ríos. 2006. Identificación de la flora microbiana presente en la cadena agroalimentaria del melón (*Cucumismelo* 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.
- Islam M, Doyle MP, Phatak SC, Millner P, Jiang X. 2005. Survival of *Escherichia coli*O157:H7 in soil and on carrots and onions grown in fields treated withcontaminated manure composts or irrigation water. Food Microbiology. 2005 1//;22(1):63-70.
- Jiménez-Díaz, F. 2004. Manejo del melón (*Cucumismelo* L.) en condiciones de inocuidad en la Comarca Lagunera. *In*: Memoria de la XVI Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED. Septiembre de 2004. Gómez Palacio, Durango. México.
- Koneman, W. E., Procop, W. G., Allen, D. S. Schreckenberger, C. C., Woods, L. G., Janda, M. W., & Winn, C. W. 2006. Diagnóstico Microbiológico: texto y atlas en color. 6^a edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. Pág. 204-207.
- León J. 2005. Limpieza de vegetales de hoja verde: la calidad microbiológica de las frutas y vegetales domésticas e importadas recopilados de los empaques en cobertizos del sureste de los Estados Unidos". 92va Reunión Anual.14 17 de agosto; 2005; Baltimore, MD: p 190.
- 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.p.
- Materón, L. A. 2003. Supervivencia de *Escherichia coli* O157:H7 aplicado a los melones cantaloupes y la efectividad del agua tratada con cloro y el ácido láctico como desinfectantes. World J. Microbiol.Biotechnol. 19(8): 867-873.
- Moreno-Reséndez, A., H. Meza-Morales, N. Rodríguez-Dimas and J. L. Reyes-Carrillo. 2010. Development of muskmelon with different

- mixtures of vermicompost: sand under greenhouse conditions. J. Plant Nutrition, 33(11): 1672-1680.
- Nieto-Garibay, A., Murrillo-Amador B., Troyo-Diéguez E., Larrinaga-Mayoral, J. A., García-Hernández, J. L. 2002. El uso de compostas como alternativa ecológica para la producción sostenible del chile (*Capsicum annuum* L.) en zonas áridas. INTERCIENCIA 27(8): 417-421.
- Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994, Bienes y servicios. Procedimiento para la toma, Manejo y Transporte de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. Diario Oficial de la Federación. México, D. F. Disponible en: (http://www.cofepris.gob.mx/MJ/Documents/Normas/111ssa1.pdf). Fecha de recuperación: 29 de Julio de 2013.
- Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos Coliformes Totales en placa. Diario Oficial de la Federación 7 P. México, D. F. Disponible en: (http://www.cofepris.gob.mx./MJ/Documents/Normas/111ssa1.pdf) Fecha de recuperación: 29 de Julio de 2013.
- Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). 2001.

 Manual para el control y aseguramiento de la calidad e inocuidad de frutas y hortalizas frescas. Coordinación Regional de Inocuidad de Alimentos. Mayo 2001. San Salvador, El Salvador.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y Organización Mundial de la Salud (OMS).1997. Sistema de Análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP) y directrices para su aplicación. 45-59 pp.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y Organización Mundial de la Salud (OMS). 1999. Principios para el establecimiento y la aplicación de criterios microbiológicos para alimentos. (CAC/GL-21), 61-74 pp.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2002. Inocuidad y calidad de los alimentos en relación con la agricultura orgánica. Tema 10.1. Documento ERC/00/7. 22ª Conferencia Regional de la FAO para Europa. Oporto, Portugal, 24-28 de Julio.
- 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: 24/11/2013.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2013. Manual de compostaje del agricultor; Experiencias en América Latina (En línea]. Oficina Regional para América Latina y el Caribe. Santiago de Chile, 2013. Consultado en: http://www.fao.org/alc/file/media/pubs/2013/Manual_Compostaje.pdf. Fecha de consulta: 19/11/2013.

- Páez-Delgado, C. G. 2009. Determinación de Coliformes fecales y totales en expendio de alimentos en establecimientos formales en el macro distrito centro de la ciudad de la Paz de Septiembre a Diciembre de 2007. Universidad Mayor de San Andrés. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Carrera de Bioquímica. Laboratorio municipal. La Paz, Bolivia
- Panikkar, A. K., Riley, S. J., Shrestha, S. P. 2004. Risk Management in Vermicomposting of Domestic Organic Waste. Environ. Health 4, 11-19
- Parnell TL, L.J. Harris y T.V. Suslow. 2005. Reducción de la *Salmonella* en los melones cantaloupes y honeydew utilizando prácticas de lavado aplicables para el manejo posterior a la cosecha, servicio de alimentos y preparación para el consumidor". Int. J. Food Microbiol. 99(1):5970.
- Pascual, A. Ma. del Rosario. 1992. Microbiología Alimentaria: Metodología Analítica para Alimentos y Bebidas. Editorial Díaz Santos. Madrid, España. 1992. ISBN: 8479780304. 360 pp.
- Paul, E.A. and Clark, F.E. 1996. Soil Microbiology and Biochemistry.2° Ed. Academic Press.340 p.
- Raviv, M., 2005. Production of high-quality composts for horticultural purposes: A mini-review. Hort. Technology. 15(1): 52-57.
- Richards, G.M. y L.R. Beuchat. 2005. Infección de la corteza del melón Cantaloupe con *Cladosporiumcladosporioidesy Penicilliumexpansum*, y migración asociada de la *Salmonella poona* en los tejidos comestibles". Int. J. Food Microbiol. 103(1):110.
- Rodríguez, D. N., Cano-Ríos, P., Favela-Chávez, E., Figueroa-Viramontes, U., Paul-Álvarez, V. de P., Palomo-Gil, A., Márquez- Hernández, C., Moreno-Reséndez, A. 2008. Producción de tomate en invernadero con humus de lombriz como sustrato. Rev. Fitotec. Méx. 31(3): 265-272.
- Rynk, R. 1992. On-Farm composting Handbook.Northeast Regional Agricultural Engineering service.Cooperativeextensión.New York, USA. 186 p.
- Saper, G.M., J.R. Gorny y A.E. Yousef. 2005. Microbiología de las frutas y vegetales. CRC Taylor y Francis Group Boca Ratón, FLORIDA.
- Shrestha, K., Shrestha, P., Walsh, K. B., Harrower, K. M., Midmore, D. J. 2011.Microbial enhancement of compost extracts based on cattle rumen content. Compost- Characterization of a system. Bio resourceTechnology. 103:8027-8034.
- Soto, G. 2001. Abonos orgánicos: Producción y uso de compost. En memorias Taller de suelos y manejo de la nutrición de los cultivos en costa rica. CIA.UCR. 142 P.
- Soto, G., y Muñoz, C. 2002. Consideraciones teóricas y prácticas sobre el compost y su empleo en la agricultura orgánica. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica). (65): Pág.123-129.
- Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution. Proc. 6th Int. Cong. On Soilless Culture. ISOSC. Lunteren, Holanda. Pp. 633-649.
- Suslow, T.V. 2004. Descripción de las prácticas de la industria: Minimizar el riesgo de las enfermedades transmitidas por los alimentos asociadas

Con formato: Inglés (Estados Unidos)

Con formato: Español (alfab. internacional)

- con la producción y el manejo de melones Cantaloupe en California. Publicación del Centro de Información e Investigación de Vegetales de la Universidad de California.
- Ukuku, D. O. and Fett, W. 2002 Behavior of *Listeria monocytogenes* inoculated on cantaloupe surfaces and efficacy of washing treatments to reduce transfer from rind to fresh-cut pieces. J. Food Prot. 65, 924-30.
- Uribe-Lorio, L. 2003. Inocuidad de abonos orgánicos. Laboratorio de Microbiología Agrícola. Centro de Investigaciones Agronómicas. Correo: luribe@cariari.ucr.ac.cr. *In:* Taller de Abonos Orgánicos. 3 y 4 de Marzo, 2003. Sabanilla, Costa Rica.
- Valadares-Veras, L.R., and J. Povinelli. 2004. A vermicompostagem do lodo de lagoas de tratamento de efluentes industriais consorciada com compost de lixo urbano. Eng. Sanit. Ambient. 9, 218-224.
- Velasco-Velasco, J., Ferrera-Cerrato, R. and Almaraz-Suárez, J.J., 2003. Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillumbrasilense*en tomate de cáscara. Terra, 19(3): 241-248.
- Yakub, Gary P. 2005. "Indicator Organisms".Water Encyclopedia.Ed. Jay H. Lehr and Jack Keeley. Vol. 2: Water Quality and Resource Development. Hoboken. Disponible en: (http://go.galegroup.com/ps/i.do?id=GALE%7CCX2589200306&v=2.1 &u=uaaam&it=r&p=GVRL&sw=w). Recuperado: 29 de June 2013. 292-294 p.p.
- Zavaleta-Mejía, E. 1999. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. Terra 17(3):201-207.

ANEXOS

ANEXO 1. Diagrama de flujo general del establecimiento del cultivo de melón bajo condiciones de invernadero.

Selección de la semilla (Cantaloupe SSC160F1)

Germinación de semilla en charolas de poliestireno

Lavado y sanitización del invernadero CASISUPA localizado en la UAAAN-UL

Llenado de macetas con los diferentes sustratos y volumenes

Distribucion en bloques al azar y etiquetado de las macetas en invernadero

Saturación de las macetas con agua de riego

Transplante de las plantulas cuando alcanzaron la tercer hoja verdadera en su desarrollo

Apliaciones del agua de riego y solucíon nutritiva hasta la cosecha

Manejo agronómico del cultivo

Uso del extractor, mojado de la grava para controlar la temperatura, Medicion semanal del desarrollo de la planta, eliminación de los brotes secundarios

Floracion

Eliminación de flores machos

Polinizacion (Colocación de abejas Apis mellifera L.) dentro del invernadero)

Conteo de tratamientos con amarre de frutos

Tutoreo de los frutos con rafia y malla

Manejo de plagas y enfermedades

Se identificó la enfermedad Tizón temprano

Se eliminaron hojas con sintomas de la enfermedad

Apliicación periodica de Resisten (Silicato de potasio, dosis: 8 mL*10 L de agua)) y Termigrard (Extracto vegetal, biopolimeros y aceites minerales, dosis: 18 mL*12 L de agua); se aplicaron ambos productos cada 7 dias para el control de Tizón temprano (Alternaria cucumis)

Control de mosca blanca, Colocación de trumpas amarillas pegajosas, Aspersiones de agua y jabon, Uso de aspiradoras y aplicaiciones de Imidacloprid (Dosis: 4 mL Imidacloprid*14 L de agua.

Cosecha: Toma de muestras para el laboratorio.

Limpieza del invernadero

ANEXO 2. Desarrollo de la preparación de los medios de cultivos para el análisis microbiológico.

- Preparación de agua peptonada al 1% (1 g de peptona•100 mL-¹ de agua). Se pesaron los gramos de peptona en una balanza analítica de precisión, serie HR (Marca: Precisión tecnológica S.A.C ®), posteriormente se disolvieron en agua. Enseguida el agua peptonada al 1% se depositó en frascos de vidrio con tapa metálica de rosca. Alos frascos, se le colocó un pedazo de cinta testigo y se esterilizaron a 115 °C durante 15 minutos. Finalmente se dejó enfriar a temperatura ambiente y se utilizaron para la toma de muestra del enjuague de los frutos. En total se utilizaron 13.08 L de agua peptonada para los cuales se pesaron 130.8 g de peptona.
- Preparación del Cloruro de sodio (NaCl) (0.85 g de NaCl•100 mL⁻¹ de agua). Este medio de cultivo se realizó para preparar los tubos de las diluciones 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³ de la inoculación de CT y CF. Se pesaron los gramos de NaCl en una balanza analítica de precisión, serie HR (Marca: Precisión tecnológica S.A.C ®), posteriormente se disolvieron en agua. Enseguida la solución salina fue depositada en tubos de ensaye con 9 mL cada uno. Finalmente se le colocó un pedazo de cinta testigo y se esterilizó a 115 °C durante 15 minutos. En total se utilizaron 80 tubos de ensaye, para los cuales se pesaron 6.12 g de NaCl.

Preparación de Agar Bilis Rojo Violeta (ABRV)(41.5 g de ABRV•1 L⁻¹ de agua). El ABRV es el medio de cultivo donde mejor se desarrollan y crecen los CT y CF e incluso es el más utilizado para la determinación de estas bacterias. Se pesaron los gramos de ABRV en una balanza analítica de precisión, serie HR (Marca: Precisión tecnológica S.A.C ®), posteriormente se disolvieron en agua dentro de matraces Erlenmeyer, se mezcló bien con un agitador. Enseguida, se calentó con un mechero de Bunsen hasta que comenzó a hervir la solución, y se dejó en ebullición durante un minuto teniendo el cuidado de que no se derramara. Se dejó enfriar a temperatura ambiente durante unos minutos.

Finalmente, se le colocó un pedazo de cinta testigo y se esterilizó durante 15 minutos a una temperatura de 115 °C. Se dejó enfriar a temperatura ambiente a 40 °C y se vertieron15 mL de ABRV en las cajas Petri para la primera capa, se dejó solidificar, y por último, se le agregó la segunda capa de 4 mL de ABRV.

Anexo 3. Diagrama de flujo general del método del análisis microbiológico.

