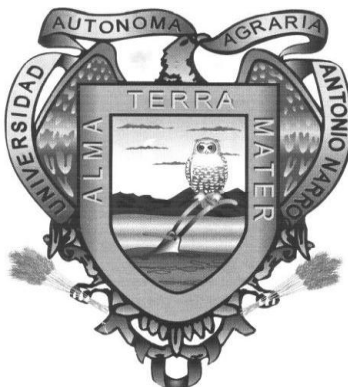


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Posible presencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) orgánico bajo Invernadero.

P O R:

LILIA GABRIELA MENDOZA ACOSTA

T E S I S

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

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

TORREÓN, COAHUILA MÉXICO

DICIEMBRE DE 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

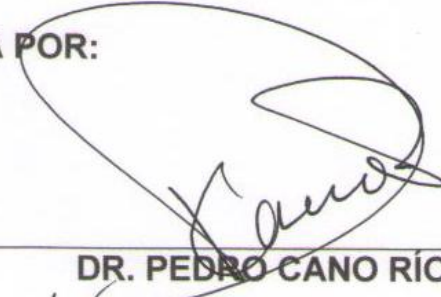
Posible presencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) orgánico bajo invernadero

TESIS DE C. LILIA GABRIELA MEDOZA ACOSTA QUE SE SOMETE A CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORES, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

APROBADA POR:

ASESOR PRINCIPAL



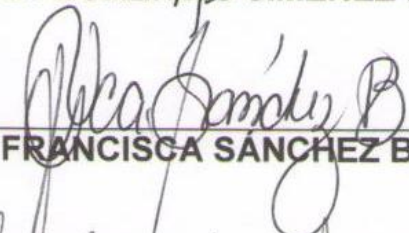
DR. PEDRO CANO RÍOS

ASESOR



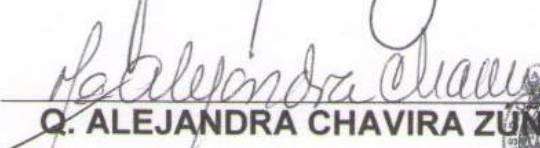
DR. FLORENCIO JIMENEZ DÍAZ

ASESOR



M.C. FRANCISCA SÁNCHEZ BERNAL

ASESOR



Q. ALEJANDRA CHAVIRA ZUNIGA



DR. FRANCISCO JAVIER SANCHEZ RAMOS
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



TORREÓN, COAHUILA MÉXICO

DICIEMBRE DEL 2011

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS

TESIS DE C. LILIA GABRIELA MENDOZA ACOSTA QUE SE SOMETE A LA
CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR, COMO REQUISITO
PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

APROBADA POR:

PRESIDENTE



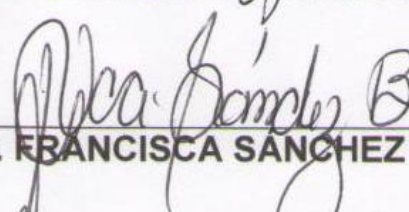
DR. PEDRO CANO RÍOS

VOCAL



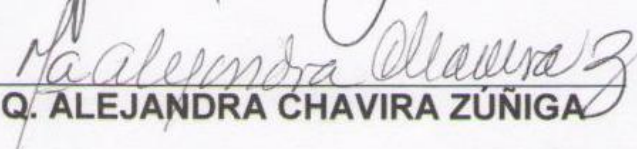
DR. FLORENCIO JIMENEZ DÍAZ

VOCAL



M.C. FRANCISCA SANCHEZ BERNAL

VOCAL SUPLENTE



Q. ALEJANDRA CHAVIRA ZÚNIGA



DR. FRANCISCO JAVIER SANCHEZ RAMOS
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS



Coordinación de la División de
Carreras Agronómicas

TORREÓN, COAHUILA MÉXICO

DICIEMBRE DEL 2011

AGRADECIMIENTOS

Alma Terra Mater

Por darme la oportunidad y tener el privilegio de desarrollarme profesionalmente

Dr. Pedro Cano Ríos

Por todo lo que hizo por mí durante la carrera, por su apoyo incondicional, sus palabras y sus regaños, mil gracias. Por ser nuestro papá de universidad, profesor de cual aprendí muchísimo y no solo en conocimiento de la carrera si no de vida, pero sobre todo por ser siempre ese amigo incondicional, un fuerte beso y un gran abrazo.

Dr. Florencio Jiménez Díaz

Mil gracias por que en el poco tiempo que lo he conocido se ha portado tan lindísima persona conmigo, su apoyo incondicional, es también como otro papá. Por todas sus enseñanzas como herramientas para nuestra próxima vida de profesionales, porque gracias a todo eso me sabré defender en el campo laboral, mil gracias.

M.C. Francisca Sánchez Bernal

Maestra muchísimas gracias por todo su apoyo, por sus enseñanzas en clase y por estar siempre con todos nosotros cuando la necesitamos, durante toda la carrera de una u otra forma siempre nos echó la mano y eso es algo que jamás se olvida, muchísimas gracias.

Q. Alejandra Chavira Zúñiga

Huy miss muchísimas gracias por todo, desde el principio y sin conocerme me ofreció su apoyo incondicional y es algo que valoro mucho de usted, la admiro como profesionalista, como persona y como mujer, mis respetos para usted, es como un ejemplo para mí, un millón de gracias, con usted aprendí un montón de cosas, que jamás olvidaré, jamás cambie.

A mis compañeros

A la Tribu, Lety, Sarain, Lupito, Samuel y Josué, por ser esos amigos tan especiales y lindos para mí, esos hermanos de carrera; por estar conmigo en las buenas y en las malas, los quiero muchísimo. A Mayra, Arturo, Joshua, Anita, Exar, Edwin, Deysi, Yaneli, Leonor, Ramón, David, Ana, Diego mis compañeros, por todos esos momentos tan inolvidables durante nuestra vida como estudiantes.

Oscar Neri Villanueva

Gracias Vida por ser mi amigo, compañero, confidente y mi pareja, por estar siempre a mi lado, por cuidarme como lo haces siempre, por que estando contigo sé que estoy bien, y segura, y que aun que te e echo enojar en más de una ocasión me has sabido aguantar, porque has compartido conmigo momentos lindos, no tan lindos y tristes, pero que todo eso a echo que te quiera mucho más cada día que pasa, porque eres la persona con la que quiero estar siempre, TE AMO.

DEDICATORIAS

A Dios

Por darme la oportunidad de vivir cada día con plenitud, por los bueno y malos momentos de lo que eh aprendido y he obtenido recuerdos, amigos y de más. Gracias por darle las palabras correctas, valor y sabiduría en los momentos en los que lo necesité.

A mis padres

A los dos; a mi madre por ser por tantos años madre y padre para nosotros, por sacarnos adelante, por dejar a un lado que es mujer y sacarnos adelante con todo; gracias por ese valor y fuerza con que se ha aferrado a vivir cada día y estar siempre cuando más la necesitamos y cuando menos también, por esas ganas de seguir y cuidar de los suyos, porque gracias a eso nosotros también tenemos ese valor para defendernos como familia. A mi padre, porque a pesar de estar en diferente techo no solo la sangre sino el corazón nos une, porque todos somos humanos que errores cometemos, gracias por ser mi papá porque gracias a usted y a mi mamá estoy hoy aquí en vida; gracias por esos intentos de consejo que me dio.

A mi abuelito

Por ser mi cómplice, mi amigo, y el más lindo de los abuelitos, porque los dos somos como Gabino Barrera, por estar siempre cuando lo necesito, por esos fuertes besos y abrazos de cariño en las buena, en las malas y en las no tan

buenas y no tan malas. Porque cubrió una parte de ese padre que nos faltó con todo su cariño. Por tomar la responsabilidad de seguirnos apoyando en todo sin tener obligación, por querernos como nos quiere.

A mis hermanos

A Ale primeramente disculpas, por haberle quitado esa infancia a cambio de ser una madre para nosotros de pequeños y ahora de grandes, por no apoyarte, perdón. Y gracias por todas esas cosas que has hecho por nosotros, que Dios te bendiga, ¡VIVE! A Diana porque aunque no me puso en su dedicatoria yo sí; gracias neguitos por ser también mi confidente, mi diario, por regañarme cuando lo necesito, por defenderme cuando no estoy y por tu gran apoyo. A Héctor, por demostrarme de cualquier manera que me quiere, por el apoyo y por ser como es conmigo.

INDICE

	Pag.
AGRADECIMIENTOS	
DEDICATORIAS	
INDICE DE CUADROS	
INDICE DE APENDICE	
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos	2
1.2. Hipótesis	3
II. REVISION DE LITERATURA	4
2.1 Generalidades del tomate	4
2.1.1 Origen	4
2.1.2 Clasificación taxonómica del tomate	4
2.1.3 Descripción Botánica	5
2.1.4 Valor nutritivo	7
2.3 Producción de hortalizas en invernadero	8
2.3.1 Generalidades del Invernadero	8
2.3.2 Posibles ventajas	8
2.3.3 Posibles desventajas	8
2.4 Agricultura orgánica	9
2.4.1 Composta	10
2.4.2 Vermicomposta	12
2.5. Producción orgánica de tomate en México	16
2.6 Producción orgánica en la Comarca Lagunera	17
2.7 Importancia del problema	18
2.8 Estrategias de México en relación a inocuidad alimentaria	20
2.9 Normatividad	20
2.10 Características generales de los microorganismos contaminantes	21
2.11 Características generales de género <i>Salmonella</i>	23
2.12 Características generales de <i>Escherichia coli</i>	25
III MATERIALES Y METODOS	28
3.1 Localización geográfica	28
3.2 Tipo y condiciones del invernadero	28
3.3 Actividades de campo	28
3.4 Cosecha	33
3.5 Actividades de laboratorio	33
IV RESULTADOS Y DISCUSION	39
4.1 Identificación de <i>Salmonella</i>	39
4.1 Identificación de <i>Escherichia coli</i>	41
V CONCLUSIONES	43
VI LITERATURA CITADA	44

INDICE DE CUADROS

Cuadros	Descripción	Pag.
Cuadro 2.1	Principales componentes del fruto del tomate (Chamarro, 1999). UAAAN UL 2011	7
Cuadro 2.2	Condiciones ideales para compostaje. Fuente: Rynk (1992) UAAAN UL 2011	12
Cuadro 2.3	Valores nutritivos de la vermicomposta. Fuente: Luévano y Velásquez (2001). UAAAN UL 2011	15
Cuadro 2.4.	Fertilización mineral durante el ciclo del cultivo (Fernández y Camacho 2008) UAAAN UL 2011	32
Fig. 2.5	Método para determinar el número de microorganismos coliformes totales. UAAAN UL 2011	35
Cuadro 2.7	Aislamiento de <i>Salmonella spp</i> UAAAN UL 2011	38
Cuadro 2.8	Identificación de <i>Salmonella</i> . Identificación de <i>Escherichia coli</i> . UAAAN UL 2011	41
Cuadro 2.9	Croquis del diseño del invernadero. UAAAN UL 2011	41
Cuadro 2.10	Gráfica de recuento de Coliformes Totales. UAAAN UL 2011	42

RESUMEN

El Gobierno Mexicano, al comprender la necesidad de prevenir la contaminación de los alimentos, crea dentro del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera, que desarrolla y ejecuta durante varios años esquemas de aplicación voluntaria sobre temas de inocuidad, dada la falta de un marco legal y normativo en el país. Durante el período de Febrero de Febrero Septiembre del 2011 se estableció un experimento en invernadero de tomate orgánico con diferentes sustratos, como lo fueron vermicomposta + arena, composta + arena, arena y arena+ vermicomposta + composta.

Se utilizaron semillas de tomate híbrido saladette (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Cuauhtémoc, El Cid y Kickapoo de la casa comercial Harris Moran. Se sembraron en una bandeja de poliestireno de 200 celdillas, utilizando turba (Premier Sphagnum Peat moss) como medio de crecimiento. El trasplante fue en macetas separadas a 30 centímetros una de otra. El riego se realizó con agua mineralizada, y té de composta según el diseño experimental lo mostraba en cada uno de los tratamientos.

La cosecha se realizó en los meses de finales de Julio, agosto y principios de Septiembre. Para la toma de las muestras se tomaron los racimos número 7, 8 y 9, tomándolos al azar, 4 frutos por línea de tratamiento en cada racimo respectivamente. Dichas muestras fueron cosechadas en bolsas estériles con el menor contacto posible con el fruto para evitar la contaminación cruzada. Posteriormente se llevaron a análisis para determinar coliformes totales y la presencia de *Salmonella*. Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el laboratorio de Ciencias y Tecnología de los Alimentos Orientados a la Salud (CyTAOS) de la Escuela de Ciencias Biológicas de la UA de C., analizando un total de 96 muestras. Para evaluar la calidad sanitaria del tomate se realizaron recuentos bacterianos por duplicado de, Coliformes totales y aislamiento de *Salmonella* spp.

El fruto está libre de *Salmonella* y de coliformes totales no representa un peligro para la salud o el consumo del producto; por lo que se considera que el fruto microbiológicamente es inocuo.

Palabras clave: Tomate, inocuidad, *Salmonella*, *Escherichia coli*, Consumo.

I. INTRODUCCION

Una tendencia actual en la agricultura es la búsqueda de alternativas de desarrollo sostenible, donde procesos como el compostaje y los productos derivados del mismo han adquirido un especial auge por su capacidad para restituir al suelo una cierta proporción de materia orgánica para mejorar sus propiedades físicas, químicas y biológicas, las cuales se han visto deterioradas por el uso continuo y exclusivo de fertilizantes minerales bajo condiciones intensas de cultivo (Johnson DL. 1997), y de elevar la productividad de los cultivos hortícolas. (Atiyeh RM. Ed. Al. 2000)

El intenso y constante crecimiento de las ventas de alimentos orgánicos registrado durante la segunda mitad del decenio del noventa ha proporcionado a estos productos un nicho de mercado viable y, algunas veces, de valor añadido. A dicho crecimiento han contribuido los cambios producidos en los hábitos alimentarios de los muchos sectores de la población de los países desarrollados a raíz de una mayor toma de conciencia de aspecto sanitario de la alimentación.

La producción de alimentos orgánicos está más orientada a la protección del medio ambiente, que a la inocuidad de los alimentos. Sin embargo, el uso de fertilizantes orgánicos y la falta de uso de desinfectantes para reducir patógenos durante el empaque han creado preocupación en algunos sectores sobre la posibilidad de que este tipo de productos tenga más altas probabilidades de transmitir microorganismos patógenos que los productos provenientes de cultivos convencionales.

En la actualidad la inocuidad es uno de los componentes más importantes en operaciones de comercio internacional de alimentos. Datos recientes indican que el costo de las enfermedades transmitidas por alimentos en EEUU es de al menos entre 3,000 y 7,000 millones de dólares cada año, por lo que es importante asegurarse de que una compra de alimentos no resultará en mayores costos posteriores si este se encontraba contaminado con algún peligro biológico, químico o físico.

La creciente participación de frutas y hortalizas frescas o mínimamente procesadas como agentes transmisores de brotes de enfermedades transmitidas por alimentos ha generado gran preocupación por parte de los grupos de consumidores y de industriales, así como de agencias gubernamentales. En México y países similares, existe doble motivo de preocupación, pues justo con la responsabilidad de prevenir la distribución de productos peligrosos para la salud, se encuentra el hecho de que los productos hortofrutícolas están dentro de los principales productos de exportación. La pérdida de clientes por problemas de inocuidad alimentaria puede afectar la economía nacional si las exportaciones de productos agrícolas disminuyen dramáticamente. Existen ejemplos de esto, como los recientes brotes de enfermedad por *Cyclospora cayetanensis* en Estados Unidos y Canadá. La frontera de los EEUU ha estado cerrada a la importación de melón cantaloupe durante los últimos 9 años. Con excepción de un número reducido de productores que han sido certificados, ningún productor de melón puede exportar este producto a los EEUU, mientras que anteriormente los melones eran uno de los principales productos hortofrutícolas de exportación en México. Esto fue el resultado de varios brotes consecutivos de salmonelosis que ocurrieron en EEUU y que fueron rastreados hacia fincas mexicanas. Por mencionar también el reciente caso de *Escherichia coli* O104:H4 en Alemania por semillas de soja en mayo del presente año, en el que resultaron 3255 casos, según la OMS, con 33 fallecidos.

Existen varios reportes de la presencia de bacterias patógenas en frutas y hortalizas crudas o pre cortadas. La lista de esos patógenos incluye: *Salmonella*, *Aeromonas*, *Campylobacter*, *Escherichia coli* patógena, *Shigela*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Yersinia enterocolitica*.

1.1 Objetivo

Evaluación de la posible presencia de *Salmonella* y *Escherichia coli* en tomate saladette bajo condiciones de invernadero.

Evaluar con cuatro tipos de sustrato (arena, arena + composta, arena + vermicomposta y arena + vermi + composta).

Realizar el recuento de coliformes y análisis para la presencia de Salmonella siguiendo el procedimiento microbiológico según las Normas Oficiales Mexicanas lo establecen.

Determinar los posibles factores que influyan en la presencia de Coliformes o Salmonella

Obtener información confiable de que la producción orgánica bajo invernadero de tomate saladette es una manera segura para la sustentabilidad de los suelos agrícolas y el consumo humano, sin riesgos de contaminación microbiológica (Salmonella y E. Coli).

1.2 Hipótesis

Bajo las condiciones de invernadero, la producción orgánica de tomate saladette puede ser confiable para su consumo, al tener un mejor manejo y posibilidades de impedir la contaminación cruzada de organismos microbiológicos (*Salmonella* y *E. Coli*) dañinos para el consumo humano.

II REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 Generalidades del tomate.

2.1.1 Origen.

El lugar de origen del género *Lycopersicon* es la región andina, la cual se extiende desde el norte de Chile al sur de Colombia y de la costa del pacífico (incluidas las Islas Galápagos) a las estribaciones orientales de los Andes. Hay muchas especies superpuestas, pero no se han encontrado pruebas de introgresión natural, con la excepción de *L. pimpinellifolium* y *L. esculentum* var. *Cerasiforme*. Hay motivos que inducen a creer que el origen de la domesticación de los tomates está en México (Esquinas y Nuez, 1999).

2.1.2 Clasificación taxonómica

De acuerdo con Esquinas y Nuez (1999) la taxonomía del tomate es la siguiente:

Clase..... Dicotiledóneas
Orden..... Solanes (personate)
Subfamilia..... Solanoideae
Familia..... Solanáceae
Tribu..... Solaneae
Género..... *Lycopersicon*
Especie *esculentum*

2.1.3 Descripción botánica.

Chamarro (1999) describe las principales características morfológicas de la planta de tomate como a continuación se indica:

Planta: es una planta perenne de porte arbustivo que se cultiva como anual. Puede desarrollarse de forma rastrera, semi-erecta o erecta.

Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) y otras de crecimiento ilimitado (indeterminadas) y semi-indeterminado, las cuales se requieren que su cultivo se realice en espalderas.

Indeterminadas: Los sucesivos tallos se desarrollan en forma similar, produciendo una inflorescencia cada tres hojas. El aspecto es el de un tallo principal, que crece en forma continua con inflorescencias internodales cada 3 hojas. Cuando este proceso se repite indefinidamente los cultivares se nombran indeterminados.

Determinadas: Las plantas tienen un crecimiento limitado, puede extenderse 2m; los segmentos del eje principal soportan un número inferior de hojas y terminan en una inflorescencia, el sistema de ramificación lateral experimenta un crecimiento limitado dando a la planta un aspecto arbustivo con simetría circular.

Sistema radical: La raíz principal (corta y débil), raíces secundarias (numerosas y potentes) y raíces adventicias. Seccionando transversalmente la raíz principal y de fuera a dentro encontramos: epidermis, donde se ubican los pelos absorbentes (especializados en tomar agua y nutrientes), córtex y cilíndrico central, donde se sitúa el xilema (conjunto de vasos especializados en el transporte de los nutrientes).

Tallo principal: Eje con un grosor que oscila entre 2-4 cm en su base, sobre el que se van desarrollando hojas, tallos secundarios (ramificación simpoidal) e inflorescencias. Su estructura de fuera a dentro, consta de: epidermis, de la que parten al exterior los pelos glandulares, corteza o córtex, cuyas células más externas son fotosintéticas y las más internas son colenquimáticas, cilindro vascular y tejido medular. En la parte distal se encuentra el meristemo apical, donde se inician los nuevos primordios foliares y florales.

Hoja: Compuesta e imparipinnada, con foliolos peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9 y recubierto de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alternas sobre el tallo.

El mesófilo o tejido parenquimático está recubierto por una epidermis superior e inferior, ambas sin cloroplastos. La epidermis inferior presenta un alto número de estomas. Dentro del parénquima, la zona superior o zona empalizada, es rica en cloroplastos. Los haces vasculares son prominentes, sobre todo en el envés, y consta de un nervio principal.

Flor: es perfecta, regular e hipógina y consta de 5 o más sépalos, de igual número de pétalos de color amarillo y dispuesto de forma helicoidal a intervalos de 135°.

De igual número de estambres soldados que se alternan con los pétalos y forman un cono estaminal que envuelven al gineceo, y de un ovario bi o plurilocular.

Las flores se agrupan en inflorescencias de tipo racimoso (dicasio), generalmente en número de 3 a 10 en variedades comerciales de tomate calibre M y G;

es frecuente que el eje principal de la inflorescencia compuesta, de forma que se han escrito algunas con más de 300 flores se distingue. La primera flor de forma en la yema apical y las demás se disponen lateralmente por debajo de la primera, alrededor del eje principal. Las inflorescencias se desarrollan cada 2-3 hojas en las axilas.

2.1.4 Valor nutritivo

El fruto en fresco es rico en vitamina C, el poder calórico del tomate es bastante modesto debido a su escaso contenido en materia seca y grasas. En el cuadro 2.1 se dan valores orientativos de los componentes de mayor interés.

Cuadro 2.1 Principales componentes del fruto del tomate (Chamarro, 1999).

Componentes	Peso fresco %	Componentes	Peso fresco %
Materia seca	6.50	Ácido málico	0.10
Carbohidratos Totales	4.70	Ácido cítrico	0.20
Grasas	0.15	Fibra	0.50
N proteico	0.40	Vitamina C	0.02
Azúcares reductores	3.00	Potasio	0.25
Sacarosa	0.10		
Sólidos solubles (°Brix)	4.50		

2.3 Producción de hortalizas en invernadero

2.3.1 Generalidades de invernadero

Definición: construcción cerrada cubierta con materiales transparentes, dentro de la posible obtener condiciones de microclima artificial y con ello cultivar plantas fuera de estación en condiciones óptimas (Sade, 1998).

2.3.2 Posibles ventajas

En Infoagro (2002) se menciona como posibles ventajas y desventajas las siguientes:

- Precocidad
- Aumento de calidad y rendimiento (3 a 5 veces mayor que en campo abierto)
- Producción fuera de época
- No se depende de fenómenos meteorológicos
- Mejor control de plagas y enfermedades
- Posibilidad de obtener más de un ciclo de cultivo al año
- Ahorro de agua (riego por goteo, microaspersión y subirrigación), se puede llegar a recuperar del 60% al 80% de agua aplicada que se evapotranspira.

2.3.3 Posibles desventajas

- Alta inversión inicial en la infraestructura
- Alto costo de aplicación
- Requiere personal ejecutivo de alto nivel de experiencia y conocimientos teóricos.

El cultivo bajo invernadero ha permitido obtener aplicaciones de primera calidad y mayor rendimiento, en cualquier época del año, a la vez que permite alargar el ciclo de cultivo, permitiendo producir más de una ciclo al año y obteniendo mejor precio. Un mal manejo del invernadero o del cultivo implica fuertes pérdidas económicas, además, se puede favorecer el desarrollo de aplicaciones, por lo que se requiere de aplicaciones más frecuentes de productos químicos (Infoagro, 2002).

2.4 Agricultura orgánica

Zamorano (2005) señala que la agricultura orgánica ha despertado gran interés, no solo en los sectores que están relacionados con el sector agropecuario y en la economía rural en su conjunto, sino también en amplios sectores de la sociedad. Este gran interés empezó en los países desarrollados hace ya más de dos décadas. La reconversión progresiva hacia la agricultura orgánica, la investigación, las actividades de transformación, comercialización y consumo de productos también llamados biológicos, ha registrado un comportamiento de gran dinamismo. La explicación reside en la preocupación creciente de la población con relación a la ingesta de productos alimenticios inocuos, sanos, de los cuales se conozca su origen y trayectoria real, así como la mayor conciencia por la conservación del medio ambiente y algunas posiciones de solidaridad con grupos sociales menos favorecidos en los países en vías de desarrollo.

Schlermeler (2004) menciona que va en aumento la producción orgánica en el mundo, además, Macilwain (2004) cita que la agricultura orgánica ha revolucionado sin perder la esencia de su fundamento, la materia orgánica.

FAO (2001) menciona que Japón, la Comunidad Europea y Estados Unidos, son los principales consumidores de productos orgánicos, los cuales tienen un sobre precio del orden del 40% mientras que en México, (López, 2004) menciona que el precio es del 30-40% más bajo que las convencionales.

Para que un producto se venda como orgánico, debe ser certificado por empresas especializadas, en México se encuentran la Quality Assurance Internacional (QAI) y la Oregon Tilth Certified Organic (OTCO), entre otras, las cuales cobran aproximadamente 100 y 25 dólar la hectárea, respectivamente; cabe señalar que la certificación es anual y contempla la revisión del aspecto administrativo como en el de producción, incluyendo en algunos casos visitas sorpresa (Gómez *et al.* 1999).

2.4.1 Composta

De acuerdo con Mustin (1987) el compostaje es el proceso biológico de descomposición de compuestos orgánicos hasta la formación de un producto estable rico en sustancia húmicas.

Para favorecer el compostaje es necesario crear las condiciones ideales para la actividad microbiana, como: la cantidad adecuada de agua, oxígeno y alimentación balanceada. La intensa actividad microbiana durante este proceso provoca un aumento en la temperatura. En el lombricompostaje para evitar este calentamiento que causa daño a las lombrices, se trabaja con camas de poca altura.

Una de las formas de transformar los residuos orgánicos en material fertilizante, es someterlos en un proceso de descomposición (aeróbico o anaeróbico) hasta un compuesto estable llamado humus.

Figueroa y Cueto (2002) mencionan que la elaboración de composta, ya sea bacteriana o mediante lombrices, tiene varias ventajas:

- a) Reduce los olores del estiércol.
- b) No atrae moscas.
- c) Minimiza concentraciones de patógenos.
- d) Reduce la diseminación de maleza.
- e) Adición de compuestos orgánicos estabilizados que mejoran la estructura del suelo.

Mientras que como desventaja, añaden el costo que implica su elaboración.

En la producción orgánica, las compostas son aceptadas dentro del proceso de producción, únicamente deben cumplir ciertos requisitos, como es el de voltearla por lo menos cinco veces, manteniendo la temperatura entre 131 y 170 °F por tres días y que la relación de C:N sea entre 25:1 y 40:1 (NOP, 2004).

La composta es el abono orgánico por excelencia y es lo más cercano a la manera en que la naturaleza fertiliza los bosques y los campos. La condensación de los fenoles junto con el amonio durante el proceso de humificación, es quizá la fase más importante del proceso de compostaje (Paul y Clark 1996). La formación más sencilla para determinar si durante el proceso del compostaje se ha logrado la formación de ácidos húmicos es por la disminución de temperatura,

siendo todas las condiciones de alimentación, humedad y oxígeno óptimas para la actividad microbiana. De esta forma si la temperatura es porque todo el sustrato balanceado ha sido transformado (Soto y Muñoz, 2002).

En general, no se requieren condiciones muy controladas para la elaboración de composta. A continuación se presentan las características deseables en una buena composta (Cuadro 2.2)

Cuadro 2.2 Condiciones ideales para compostaje.

Condición	Ámbito aceptable	Condición óptima
Relación C:N	20:4 – 40:1	25:1 – 30:1
Humedad	40 – 65%	50 – 60%
Oxígeno	+ 5%	a 8%
pH	5,5 – 9,0%	6,5 – 8,0
Temperatura	55 – 75	65 – 70 °C
Tamaño de partícula	0,5 – 1,0	Variable

Fuente: Rynk (1992)

2.4.2 La Vermicomposta

Luévano y Velázquez (2001) citan que la lombriz de tierra es un integrante natural que se encuentra en los suelos contribuyendo de manera decisiva en su fertilidad, ya que desarrolla una actividad esencial en la aireación y estructuración de los suelos. Se ha encontrado que es capaz de transformar restos orgánicos (hojas

mueratas, heces de animales, etc.) en compuestos fácilmente asimilables por las plantas además de favorecer la mineralización del suelo; acelera la formación de compostas y el ciclo de los nutrientes; mejora el drenaje y favorece la propagación de bacterias nitrificantes; ayuda al intercambio de las capas del suelo evitando el encostramiento, y coadyuva a la recuperación de suelos erosionados.

Magnano y Gómez (1999) señalan que las lombrices de tierra son indispensables en la agricultura orgánica, ya que ayudan al establecimiento de compostas de origen urbano, industrial o agrícola. La actividad de las lombrices puede resultar en una composta de calidad, la cual se obtiene después de que la materia orgánica ha sido degradada, por hongos, bacterias y protozoarios, organismos que son los que en realidad sirven de alimento a las lombrices y que son ingeridos junto con el sustrato en que se encuentran; toda esta mezcla la salir como excremento junto con el suelo, forma un producto ideal como mejorador del suelo.

Rynk (1992) menciona que a dicho producto, que es el abono producido por la lombriz, se le conoce como lombrí-abono o lombrí-composta o bien, vemi-composta, el cual contiene los materiales y nutrientes óptimos para los cultivos agrícolas.

Nogueroles y Sicilia (2004) mencionan que el humus de lombriz es un fertilizante bioorgánico de estructura coloidal, producto de la digestión, que se presenta como un producto desmenuzable, ligero e inodoro. Es un producto terminado, imputrescible y no fermentable.

Contiene una elevada carga enzimática y bacteriana que aumenta la solubilización de los nutrimentos haciendo que puedan ser inmediatamente asimilables

por las raíces. Por otra parte, impide que estos sean lavados por el agua de riego, manteniéndolos por más tiempo en el suelo (Luévano y Velásquez, 2001). Se considera como uno de los abonos orgánicos de fácil manejo y producción rápida en las plantas del composteo; tiene buenas características físicas, químicas, microbiológicas y nutrimentales (Kulkarni *et al.*, 1996).

Las características más importantes del vermicompuesto en su alta carga microbiana, a cual le hace como el excremento material regenerador del suelo. Con un pH prácticamente neutro, con valores que oscilan entre 6.8 y 7.2, características que le permiten ser aplicadas aun en contacto directo con las semillas (Martínez, 1997) los valores nutritivos de la vermicomposta se presentan en el cuadro 2.3.

**Cuadro 2.3 Valores nutritivos de la vermicomposta UAAAN UL
2011**

Factores	Valores
Humedad	30-60%
pH	6,8-6,2%
Nitrógeno	1-2,6%
Fósforo	2-8%
Potasio	1-2,5%
Calcio	2-8%
Magnesio	1-2,5%
Materia orgánica	30-70%
Carbono orgánico	14-30%
Ácidos fúlvicos	2,8-5,8%
Ácido húmico-fúlvico	1,5-3%
Sodio	0,02%
Cobre	0,05%
Hierro	0,02%
Manganeso	0,006%

Fuente: Luévano y Velásquez (2001).

García (1996) describe las ventajas de la vermicomposta de la siguiente manera:

Aporta los elementos nutritivos para la planta, tales como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio.

La presencia de bacterias que por su acción ayudan a una mejor asimilación de los elementos para la planta.

No contiene productos químicos que alteren el ecosistema del suelo.

Por su estructura granular retiene la humedad y propicia un buen desarrollo de las raíces.

No produce malos olores y está libre de patógenos.

La aplicación de lombri-composta disminuye la población de plagas en el suelo por su contenido que compite con las mismas.

Por su contenido de materia orgánica se obtiene una óptima capacidad de intercambio catiónico del suelo.

El contenido microbiano de este abono acelera la descomposición de elementos orgánicos e inorgánicos.

2.5 Producción orgánica de tomate en México.

El rendimiento en la producción nacional de tomate orgánico es de 10 t ha^{-1} (SAGARPA, 2005), sin embargo, si bien la cosecha es certificada, los rendimientos pueden aumentar, incrementando la relación beneficio-costos.

La producción de tomate orgánico en México se lleva a cabo en Baja California Sur (Navejas, 2002), pero si bien la cosecha es orgánica, los rendimientos son bajos, por lo que es conveniente, producir en invernadero, garantizando rendimientos mucho más elevados, garantizando obviamente la aplicación de insumos orgánicos para

garantizar la obtención de un producto orgánico y prácticamente inocuo, por lo que la obtención de un sustrato orgánico, evitaría los tres años mencionados, lo anterior coincide con lo citado por Castellanos *et al* (2000).

Navejas (2002) menciona que en Baja California Sur, el tomate orgánico ocupa diez veces menos superficie que el convencional, pero genera divisas diez veces más.

Navajas (2002) mencionan que lo esencial contra la lucha de los insectos y enfermedades en los sistemas orgánicos, es la prevención y que en la actualidad hay productos permitidos por las normas internacionales de productos orgánicos, los cuales son todos a base de extractos vegetales.

2.6 Producción orgánica en la Comarca Lagunera

Cano *et al* (2004) menciona que hoy en día existe creciente interés por utilizar fuentes orgánicas para abonar los suelos, en un intento de regresar los sistemas agrícolas actuales a la producción orgánica. Una alternativa en la Comarca Lagunera sería crear dicho sustrato a partir de estiércol composteado, del cual se producen alrededor de 49 mil toneladas de materia seca mensuales (Luévano y Velásquez, 2001) en combinación con arena o perlita, materiales presentes en la Región.

Dodson *et al* (2002), mencionan que la diferencia entre la producción en invernadero de tomate convencional contra la orgánica, varía en tipo el sustrato, las prácticas de fertilización y el método de control de problemas fitosanitarios.

2.7 Importancia del Problema.

En años recientes la preocupación debido al consumo de alimentos contaminados se ha incrementado a nivel mundial. En los Estados Unidos, el Consejo de Tecnología y Ciencia Agrícola estimó que en 1994 ocurrieron 9,000 muertes y de 6.3 a 33 millones de enfermos relacionados al consumo de alimentos en ese país. El Departamento de Agricultura estimó los costos médicos y pérdidas en productividad debido a 7 patógenos específicos en un rango entre \$6.5 billones a \$34.9 billones de dólares anualmente. Para los países desarrollados con una alta demanda de alimentos como es el caso de Estados Unidos, el consumidor exige una mayor cantidad de productos frescos todo el año, lo cual desaparece el concepto de productos de estación, aparecen alimentos exóticos y la generalidad de los productos son traídos de regiones agrícolas con diferentes prácticas de producción, lo que durante la década de 1990 duplicó los casos de enfermedades causadas por alimentos asociados con frutas y vegetales frescos (Saltsman, 1999).

El centro para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos determinó la magnitud del problema de la contaminación de los alimentos, consignando la ocurrencia en ese país de 98 brotes de enfermedades relacionados al consumo de los alimentos durante 1990 a 1999, siendo los productos más frecuentemente afectados los germinados de alfalfa, jugos sin pasteurizar, lechuga, tomates, ensaladas verdes, melones, repollos, siendo los organismos presentes *Escherichia coli* 0157:H7, *Salmonella*, *Shigella*, *Cyclospora cayetanensis* y el virus A de la hepatitis (Sapers, 1999)

En el caso de México para el año de 1993 se estimó una incidencia de 2.2 niños menores de 5 años con casos de enfermedades diarreicas agudas en el hogar, así como 694,316 consultas por enfermedades diarreicas agudas para niños menores de 5 años (Hernández *et al*, 2000), mientras que en el INEGI reporta la ocurrencia de 9,585 muertes por enfermedades infecciosas intestinales por cada 100,000 habitantes durante el año 1995 (Cisneros, 1999).

Las organizaciones mundiales relacionadas con los alimentos como es el caso de FAO y OMS (Organizaciones de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación y Organización Mundial de la Salud) estima que aun cuando la inocuidad de los alimentos había sido un tema importante, actualmente ocupa un lugar preponderante en el programa político de muchos países, esto debido al mayor conocimiento de los consumidores sobre el tema, así como a los riesgos y desafíos emergentes en el ámbito de la inocuidad de los alimentos, uno de los cuales son los peligros microbiológicos que presentan los mismos. Los factores que han contribuido a esta situación son los agentes patógenos emergentes y reemergentes, las innovaciones en los métodos de producción de alimentos, cambios en el procesamiento y en las exigencias del consumidor (FAO, 2000).

En octubre de 1999, la OMS, FAO y OMC organizaron el evento titulado “Producción de Alimentos más allá del 2000”, con la participación de más de 140 países y que tuvo como objetivo establecer los principios que deben aplicarse para la producción y comercio de alimentos que no representen un riesgo para la salud, definiendo como principales conclusiones las siguientes: (1) Los países toman como referencia la metodología del CODEX para determinar sus niveles de protección, (2)

Convocar a los países para que establezcan sus regulaciones en inocuidad con base en principios científicos, (3) Encomendar al CODEX el desarrollo de lineamientos para determinar la equivalencia en sistemas de inspección y certificación, (4) Prevenir que la inocuidad se utilice injustificadamente como una barrera técnica al comercio y (5) Adaptar prácticas agrícolas y de manufactura para producir alimentos seguros (Frias, 2000).

2.8 Estrategias de México en Relación a Inocuidad Alimentaria

En base a los acuerdos internacionales, México ha definido su estrategia sobre inocuidad alimentaria, la cual está basada en el desarrollo de un Proyecto Integral de Desarrollo para la Calidad Alimentaria (PIDTCA), el cual contempla entre sus actividades los siguientes aspectos: (1) Programa de información y difusión, (2) Programa de infraestructura y equipamiento rural, (3) Programa de investigación, (4) Programa de atención a jornaleros agrícolas, (5) Programa de calidad del agua, (6) Programa de coordinación con organismos internacionales y (7) Programa de adecuación y marco logístico y normativo en el sector (SAGAR, 2000).

2.9 Normatividad

En relación al marco normativo, la Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural emitió la Norma Oficial Mexicana (con carácter emergente) NOM-EM-034-FITO-2000, requisitos y especificaciones para la aplicación y certificación de Buenas Prácticas Agrícolas en los procesos de producción de frutas y hortalizas frescas, la cual comprende calidad de agua, manejo de cultivo, manejo de plagas, empacadora, transporte y trabajadores (SAGARPA, 2000).

El FDA publicó en Estados Unidos las “Guías para Reducir al Mínimo el Riesgo Microbiano en los Alimentos en el caso de Frutas y Vegetales Frescos”, la cual contiene lineamientos relacionados con la aplicación de Buenas Prácticas Agrícolas relacionados con agua, estiércol animal y desechos orgánicos municipales sólidos, salud e higiene de los trabajadores, instalaciones sanitarias, sanidad en el campo, limpieza de las instalaciones de empaque y transporte, lo cual está dirigido a lograr la producción de frutas y hortalizas libres de riesgos para la salud humana (FDA, 1999).

2.10 Características generales de los microorganismos contaminantes

La familia Enterobacteraceae está compuesta por un gran número de especies estrechamente relacionadas que se encuentran en el suelo, el agua, la materia en descomposición y en el intestino grueso del hombre, los animales y los insectos. Esta familia incluye muchos géneros como *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Proteus* y otros. Debido a su hábitat a su hábitat natural en los seres humanos, estos microorganismos reciben el nombre de “bacilos entéricos”. Dentro de esta familia se encuentran algunos de los agentes causales más importantes de enfermedad gastrointestinal: los agentes de la fiebre tifoidea y de la disentería bacilar. Los bacilos entéricos son responsables de la mayor parte de las infecciones nosocomiales (adquiridas en el hospital) que se observan en la actualidad. El problema se complica más por el hecho de que muchos de los organismos aislados son resistentes a múltiples agentes antimicrobiales (Espinoza y Lozano, 2002).

Morfología. Las Enterobacteraceae son bacilos gram negativo pequeños (0.5 por 0.3 milimicras) que no forman esporas. Pueden ser móviles o inmóviles. Cuando son

móviles la locomoción se realiza por medio de flagelos peritricos, una propiedad que ayuda a diferenciarlos de las Pseudomonaceae y las Vibronaceae, que son flagelos polares. Dos géneros *Shigella* y *Klebsiella*, son típicamente inmóviles (Espinoza y Lozano, 2002).

Fisiología. Las Enterobacteraceae son organismos facultativos con diversidad bioquímica. Cuando se desarrollan en anaerobiosis o en atmósfera con baja tensión de oxígeno, fermentan los hidratos de carbono; pero cuando se les ofrece suficiente cantidad de oxígeno utilizan en ciclo del ácido tricarboxílico y el sistema de transporte de electrones para la producción de energía. Por definición, todos los miembros de la familia fermentan la glucosa, reducen nitratos a nitritos pero no licúan el alginato y son oxidasa-negativos. Casi todos los bacilos entéricos fermentan la glucosa por la vía ácida mixta, pero los miembros de los géneros *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Serratia* utilizan la vía fermentativa del butanodiol. Las distintas especies en los hidratos de carbono que fermentan a estas diferencias, junto con las variaciones en la producción del producto terminal y en la utilización del sustrato, constituye la base para la determinación de las especies dentro de esta familia (Espinoza y Lozano, 2002).

Morfología e identificación. Las Enterobacteraceae son bacilos gram negativos cortos. Cuando crecen *in vitro* sobre medio sólido se observa la morfología característica, pero en muestras clínicas la morfología es muy variable. La cápsula son grandes y regulares en la *Klebsiella* menos en *Enterobacter* y poco comunes en otras especies.

Cultivo. La *E. coli* y la mayor parte de las bacterias entéricas forman colonias lisas circulares, convexas, con bordes bien diferenciados. Las colonias *Enterobacter* son similares pero un poco más mucoides. Las colonias de *Klebsiella*, mucoides y tienden a confluir cuando la incubación se prolonga. Las salinelas y las shigelas producen colonias similares a *E. Coli* pero no fermentan la lactosa. Algunas sepas de *E. Coli* producen emolisis en agar sangre (Espinoza y Lozano, 2002).

2.11 Características generales del género *Salmonella*

En la mayor parte del mundo, *Salmonella* es el microorganismo más reportado como causante de daño por ingesta de alimentos contaminados, mientras que en países desarrollados, no son frecuentes los alimentos contaminados con *E. coli* donde los estándares de calidad en higiene y sanidad son normalmente altos. Sin embargo la incidencia de daño por consumo de alimentos contaminados con *E. coli* O157:H7 se ha incrementado desde 1980 incluso en estos países. Otros organismo frecuentemente encontrado en carnes son *S. aureus* y *L. monocytogenes*, el primero como consecuencia de contaminación a partir de manipuladores y animales y el segundo proveniente de una gran diversidad de fuentes debido a su hábitat cosmopolita, capaz de crecer y multiplicarse a bajas temperaturas (4' c) por lo cual se de gran importancia para alimentos que se conseryan en refrigeración. (Espinoza y Lozano, 2002).

Morfología. Bacilos pequeños, gram negativos, anaerobios facultativos no esporulados, presentan más de 2000 serotipos acorde al sistema basado en antígenos somático (O) V flagelar (H), conocido como el esquema Kauffmann- White. Distribuidos ampliamente en la naturaleza y que tiene como reservorio tanto al hombre como a los animales. La

enfermedad que ocasiona es consecuencia de la ingestión de alimentos inadecuadamente almacenados o preparados y por lo cual el microorganismo alcance la dosis de infección adecuada. (Espinoza y Lozano, 2002).

Patogénesis. Después de la ingestión y paso a través del estómago, la bacteria se multiplica y adhiere al borde de las células epiteliales a final del intestino delgado y del colon. Después de multiplicarse en el folículo linfático en el desarrollo de la respuesta de leucocitos, siguen una hiperplasia linfática hipertrofia. Esta respuesta inflamatoria media la liberación de prostaglandinas, las cuales estimula el CAMP y producen secreción activa de fluido, resultando en diarrea. (Espinoza y Lozano, 2002).

Aspectos clínicos. El síndrome por Salmonella se presenta de 12 a 14 h después de la ingestión del alimento infectante y básicamente consiste de náuseas, vómito, dolor abdominal, dolor de cabeza, calambres y diarrea. Se puede acompañar por postración, fiebre moderada ó fatiga. Generalmente se recuperan a los 7 días y el antibiótico no se prescribe si solo presenta síntomas gastrointestinales. La mortalidad es baja (4.1%) aunque S. cholerae se ha reportado hasta con un 21%. Algunas complicaciones por S. enteritidis son fallo renal, osteomielitis y meningitis, que requieren de una terapia apropiada con antimicrobianos. (Espinoza y Lozano, 2002).

Ecología. El hábitat de Salmonella es el tracto intestinal del hombre y animales de sangre caliente, ocasionalmente insectos, los cuales pueden transportarla a otros lugares, por lo que es común encontrarla en agua, especialmente las muy contaminadas. Crece y se multiplica en un rango amplio de temperaturas y alimentos, es fácil de diseminar y pasarse de persona a persona; existe un prolongado periodo de

excreción después de adquirirse. La frecuencia de esta bacteria en las poblaciones se debe en parte a la presencia de individuos portadores infectados por el microorganismo. Huevos, aves, carne y productos cárnicos son los alimentos más frecuentemente involucrados como vehículos de la enfermedad. (Espinoza y Lozano, 2002).

2.12 Características generales de *Escherichia coli*.

Es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo y no formador de esporas. Habitualmente la *E. coli*. Es empleada como indicador de contaminación fecal en alimentos y agua debido a su hábitat intestinal en humanos y animales. No se considera patógena, sin embargo algunas cepas han adquirido la capacidad de producir enfermedad como consecuencia de la adquisición de plásmidos codificantes para los factores de virulencia. Algunas de estas cepas son conocidas como enteropatogénicas (EPEC), enteroinvasivas (EIEc); enterotoxigénicas (ETEC) y enterohemorrágicas (EHEC) que son de las más estudiadas. (Espinoza y Lozano, 2002).

GRUPO EHEC. En este grupo las cepas de *E. coli* ocasionan una enfermedad que tiene como complicación la colitis hemorrágica y el síndrome urémico hemolítico. Por lo tanto se le conoce a la *E. coli* 0157:H7 como el agente causal de dichos padecimientos y es de las más estudiadas. Presenta tres características importantes que la diferencian de la *E. coli* típica y que corresponde a la incapacidad para fermentar sorbitol en 48h/o, no produce B-gluconidasa no fluorescencia de la colonia y no crece a 42°C (Espinoza y Lozano, 2002)

Patogénesis. La enfermedad es consecuencia de la acción a nivel intestinal de una o más toxinas (verotoxinas) codificadas por un plásmido y que es responsable de su

producción. Los efectos patológicos incluyen cambios morfológicos en células epiteliales, incremento en la actividad mitótica de criptas, falta de mucina y de infiltración de células polimorfonucleares en la mucosa. Estos cambios son asociados a la presencia de verocitotoxinas libres en el colon y resulta en diarrea acuosa y/o sanguinolenta. La dosis infectiva es menos a 100 células, afecta a todos los grupos erarios, toleran acidez y se adhiere a células epiteliales ocasionando pérdida de microvellosidades. Produce verotoxina 1 y 2 las cuales probablemente abandonan el lumen intestinal para causar efectos sistémicos. (Espinoza y Lozano, 2002).

Aspectos clínicos. Se produce Colitis Hemorrágica (CH) o Síndrome urémico Hemolítico (SUH). En la CH se presenta diarrea acuosa y sanguinolenta acompañada de dolor abdominal, el cual causa confusión con apendicitis, poco vómito y fiebre baja, después de 2 a 9 días de incubación, que varía alargándose hasta los 12. En el SUH la diarrea sanguinolenta se observa en el 90% de los casos, hay anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y nefropatía aguda. Estos síntomas son muy similares a la púrpura trombocitopénica trombótica en donde sistema nervioso llega a involucrarse. Aunque en la mayoría de los pacientes se presenta la recuperación después de los ocho días, se han reportado casos de mortalidad en niños y ancianos con problemas médicos. La terapia antimicrobiana es poco efectiva pero en casos serios la ciprofloxacina es la droga de elección. (Espinoza y Lozano, 2002)

Epidemiología. El primer reporte de CH causado por EHEC fue en 1982 en los Estados Unidos de Norteamérica (USA). Subsecuentemente se han presentado epidemias y casos esporádicos en Canadá, Japón y Reino Unido (UK) Entre 10 000 y 20 000 infecciones por E. coli O157:HT ocurren cada año en USA. Se reportaron 16 epidemias

en 1993 y otras 11 durante los primeros 6 meses de 1994. Su aspecto epidemiológico no es muy claro, ya que es muy raro aislar a *E. coli*0157:H7 de alimentos. Se reportó en UK en 1989 en heces de bovino e indicó que la vaca podría ser el posible reservorio de la infección, pudiendo darse la transmisión del organismo de vaca a humanos, ya sea por la carne cruda o inadecuadamente cocida así como por leche no pasteurizada. (Espinoza y Lozano, 2002).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización geográfica del proyecto.

El trabajo experimental se realizó en el invernadero de 200 m² con cubierta plástica, piso de grava y sistema de enfriamiento automático con pared húmeda y dos extractores, en el ciclo 2011, en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro URL, situada en 101° 40' y 104° 45' de longitud oeste y los paralelos 25° 05' y 26° 54' de la latitud norte en Torreón Coahuila. Esta región recibe una precipitación media anual de 235 mm, tiene una altitud 1.139 msnm y su temperatura media anual es de 18.6°C (Schmidt, 1989). Los análisis microbiológicos se llevaron a cabo en el laboratorio de Ciencias y Tecnología de los Alimentos Orientados a la Salud (CyTAOS) de la Escuela de Ciencias Biológicas de la UA de C., de Junio a Octubre de 2010, analizando un total de 96 muestras. Para evaluar la calidad sanitaria del tomate se realizaron recuentos bacterianos por duplicado de, Coliformes totales y aislamiento de *Salmonella* spp.

3.2 Tipo y condiciones del Invernadero.

Es un invernadero de tipo semicircular compuesto de una cubierta plastificada de polietileno y con una estructura totalmente metálica de 180 m². El sistema de enfriamiento consistió en una pared húmeda y dos extractores sin sistema de calefacción.

3.3 Actividades de Campo.

Los tratamientos fueron conformados de acuerdo a un arreglo factorial que consistió en seis genotipos y ocho formas de fertilización, evaluados en un diseño

completamente al azar. La unidad experimental estuvo compuesta por una maceta, con una planta por maceta. Se utilizaron bolsas de plástico de 18 litros de capacidad y se acomodaron en doble hilera, con arreglo en tresbolillo y separación entre hileras de 1.6 m, para una densidad de 4 plantas/m².

Los tipos de fertilización fueron:

1. Fertilización inorgánica con solución nutritiva en sustrato arena considerado este como testigo (cuadro 1), a la cual se le agregó microelementos quelatados (Maxiquel multi FeZnMnB 579 EDDHA), hierro, magnesio, zinc y boro suministrados en una dosis de 1.15, 0.49, 0.16 y 0.16 mgL⁻¹, respectivamente.
2. Té de vermicompost en sustrato de arena
3. Té de vermicompost diluido, en una relación té:agua (1:3), aplicado en un sustrato de arena + compost en una porción 1:1 en volumen.
4. Té de vermicompost diluido, en una relación 1:3, de esta mezcla se utilizarán un litro por planta, aplicado en un sustrato de arena + vermicompost en porción 1:1 en volumen.
5. Té de vermicompost diluido en una relación 1:3, aplicado en un sustrato de arena + compost + vermicompost, en proporción 1:0:5:0:5 en volumen
6. Té de vermicompost diluido + algas, en una relación té:agua 1:3, aplicado en un sustrato de arena + compost, en proporción 1:1 en volumen.
7. Té de vermicompost diluido + algas, en una relación té:agua 1:3 aplicado en un sustrato de arena + vermicompost en proporción 1:1 en volumen.

8. Té de vermicompost diluido + algas, en una relación te:agua (1:3), aplicado en un sustrato de arena + compost + vermicompost en proporción 1:0:5:0:5 en volumen (cuadro 2)

El té de vermicompost se elaboró de acuerdo a la metodología de Ingham (2005), como se describe a continuación: para eliminar el exceso de cloro que se utiliza para potabilizar el agua, en un tambo de 100 litros de colocarán 60 litros de agua y se generará turbulencia durante tres horas con una bomba de aire. Luego, se colocará 6 Kg de vermicompost en una bolsa de plástico de red y se colocará la bolsa con la vermicompost dentro del tanque con agua previamente aireada. Finalmente de una fuente de ácido húmico y nitrógeni orgánico (Biomix-N 30% N, Bioagromex S.A.) y 10 mililitros de una fuente fósforo orgánico (Biomix-P 25%, Bioagromex, S.A.). La mezcla se dejará fermentar por 24 horas con la bomba de aire encendida. Se aplcará 500 mililitros de té de vermicompost a cada maceta sin diluir con este tratamiento, mientras que para el té diluido a una proporción 1:3 se utilizará 1 litro de té de vermicompost por cada 3 litros de agua, de esta mezcla se aplicará 1 litro por maceta. Se harán seis aplicaciones del producto con algas (Algaenzims), para los tratamientos con algas; la 1ª aplicación será al momento del trasplante (aplicación foliar al cepellón del 1%), la 2ª aplicación foliar (1 Lha-1) se efectuará al inicio de la floración y después de cada corte de aplicará vía foliar el producto (250 mL ha-1).

Por otra parte, para satisfacer las necesidades nutritivas del tratamiento testigo, se consideraron cuatro etapas de desarrollo del cultivo:

1. Primer cuaje

2. Primer y tercer cuaje
3. Tercer y quinto cuaje
4. Más del quinto cuaje.

En cada una de estas etapas la solución nutritiva madre se diluyó con agua potable, de acuerdo a las siguientes relaciones: 1/3, 2/3 y 3/3 (SNM/AP) e igualmente se aplicó un volumen de 0.5 L maceta-1 d-1 de cada dosolución durante la etapa respectiva.

Se utilizó un sistema de riego por goteo para aplicar tres riegos diarios; el volumen por día variará con la etapa del cultivo, de 850 mililitros por maceta en la etapa de trasplante al inicio de la floración, a 2500 ml de floración a la cosecha. La solución nutritiva o el té de vermicompost se aplicó previo a uno de los tres riegos.

Cuadro 2.4. Fertilización mineral durante el ciclo del cultivo (Fernández y Camacho 2008)

Fertilizante (g m ⁻³)	Fertilización Mineral			
	Etapa 1 1er cuaje	Etapa 2 1er 3er cuaje	Etapa 3 3er 5° cuaje	Etapa 4 >5° Cuaje
Ac fosfórico	122.5	122.5	122.5	122.5
Nitrato de calcio	330	330	330	430
Nitrato de potasio	212.1	414.1	656.6	717.1
Sulfato de magnesio	147.6	270.6	393.6	393.6
Fosfonitrato	48	48	88	48
CE (dS m ⁻¹)	1.8	2.1	2.3	2.6

Se utilizaron semillas de tomate híbrido saladette (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Cuauhtémoc, El Cid y Kickapoo de la casa comercial Harris Moran. Se sembraron en una bandeja de poliestireno de 200 celdillas, utilizando turba (Premier Sphagnum Peat moss) como medio de crecimiento. Se colocó una semilla por cavidad.

Parámetros agronómicos en manejo: se estuvo observando la higiene y medidas de prevención de contaminación cruzada al cultivo en todas las tareas de manejo al cultivo con respecto a inocuidad.

3.4 Cosecha

Parámetros microbiológicos: los racimos 7, 8 y 9 fueron tomados como muestras para realizar los análisis microbiológicos, donde se detectarían la posible presencia de Salmonella y E. Coli del producto final (fruto).

Las muestras que fueron tomadas por tratamiento por separado, es decir, una muestra de arena, una de vermicompost + arena, una de arena + compost y una de arena + compost + vermicompost. Se cosecharon por racimo 4 frutos/ tratamiento al azar en cada tratamiento.

Las muestras se colectaron en bolsas de hule estériles y evitando cualquier contacto físico con el fruto. Se marcaron por tratamiento, racimo y fecha de recolección.

Al tener las muestras debidamente colectadas, se llevaron al laboratorio para realizar los análisis correspondientes.

3.5 Actividades de laboratorio.

Análisis Bacteriológico.

Las muestras se tomaron en condiciones asépticas en bolsas estériles (figura 1.1) con cierre hermético, se conservaron a temperatura de refrigeración en el laboratorio para su análisis.



Figura 1.1

El método microbiológico para determinar el número de microorganismos coliformes totales presentes en productos alimenticios fue por medio de la técnica de cuenta en placa que se realizó en base a la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa y para la determinación de Salmonella se realizó en base a la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-114-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para determinación de Salmonella en Alimentos. (Figura 1.2)

Fig. 2.5 Método para determinar el número de microorganismos coliformes totales



- PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO



- ESTERILIZADO DEL MATERIAL Y MUESTRAS



- PESAJE Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS



- INOCULACIÓN DE MUESTRA



- PREPARACIÓN DEL AGAR BILIS ROJO VIOLETA



- VACIADO DEL AGAR BILIS ROJO VIOLETA



- IDENTIFICACIÓN DE COLONIAS



- RECuento DE COLONIAS

Para la preparación de diluciones para el examen microbiológico de las muestras fue en base a la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-110-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Se pesaron 10 g de la muestra en una media caja Petri estéril y transferida a un frasco de dilución con 90 ml de agua peptonada al 0,1% dilución 10⁻¹. A partir de esta primera dilución, se realizaron diluciones decimales en solución salina 0,85 % hasta 10⁻³. Se depositaron en cajas Petri por duplicado 1 ml de la muestra de cada dilución utilizando para tal propósito puntillas estériles. Se agregó de 10 a 15 ml del medio Agar Bilis Rojo Violeta (RVBA) fundido y mantenido a 45 ± 1,0°C en baño de agua. Para la homogenización del inóculo con el medio se llevó a cabo por medio de seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada; se dejó solidificar las cajas Petri a temperatura ambiente sobre una superficie horizontal. Después de que el medio solidificó en la caja, se agregaron aproximadamente 4 ml del

medio RVBA a $45 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ en la superficie del medio inoculado, se esperó hasta que el medio solidifico. Se Incubaron a 35°C , durante $24 - 48 \pm 2$ horas de forma invertida. Después del periodo especificado para la incubación se realizaron los cálculos correspondientes, para expresar los resultados de los contajes en placa como unidades formadoras de colonia por gramo (UFC/g).

Para la investigación de *Salmonella* spp., se pesó 25 g de la muestra y se adiciono a 225 ml de caldo lactosa se incubó a 35°C ; de 18 a 24 h, se transfirió un 1 ml de la mezcla a un tubo con 10 ml de caldo tetrionato con 2 ml de una solución yodo-yoduro e Incubado de 18 a 24 h a 35°C ; después del tubo se estrió en agar xilosa lisina desoxicolato (XLD), agar verde brillante (VB) y en agar sulfito de bismuto(SB) y se incubó a 35°C ; de 18 a 24 h; después se procedió a examinar las placas para investigar la presencia de colonias típicas de *Salmonella*. En Agar XLD: colonias rosas o rojas que pueden ser transparentes con o sin centro negro. En algunos casos las colonias pueden aparecer completamente negras; en Agar VB: colonias rojas o rosas que pueden ser transparentes rodeadas por medio enrojecido; las bacterias fermentadoras de la lactosa dan colonias amarillas. En Agar MAC CONKEY dan colonias incoloras o de color muy claro. Si las placas no muestran colonias típicas o no se observa crecimiento, incubar 24 h adicionales, misma que fue negativa.

Cuadro 2.7 Aislamiento de *Salmonella spp*



- PREPARACIÓN DE LA MUESTRA



- AISLAMIENTO DE SALMONELLA

SPP



- ESTRIADO EN AGAR XLD, VB Y

SB



- EXAMINACIÓN DE LAS PLACAS

IV RESULTADOS Y DISCUSION

Información de sustratos

Antes del trasplante se le hizo un lavado de sales con un riego pesado a los sustratos de: Vermicomposta y Composta, así como a sus combinaciones.

Se utilizaron bolsas de plástico de 18 litros de capacidad y se acomodaron en doble hilera, con arreglo en tresbolillo y separación entre hileras de 1.6 m, para una densidad de 4 plantas/m².

Los tipos de fertilización serán:

1. Fertilización inorgánica con solución nutritiva en sustrato arena considerado este como testigo (cuadro 1), a la cual se le agregará microelementos quelatados (Maxiquel multi FeZnMnB 579 EDDHA), hierro, magnesio, zinc y boro suministrados en una dosis de 1.15, 0.49, 0.16 y 0.16 mgL⁻¹, respectivamente.
2. Té de vermicompost en sustrato de arena
3. Té de vermicompost diluido, en una relación te:agua (1:3), aplicado en un sustrato de arena + compost en una porción 1:1 en volumen.
4. Té de vermicompost diluido, en una relación 1:3, de esta mezcla se utilizarán un litro por planta, aplicado en un sustrato de arena + vermicompost en porción 1:1 en volumen.
5. Té de vermicompost diluido en una relación 1:3, aplicado en un sustrato de arena + compost + vermicompost, en proporción 1:0:5:0:5 en volumen
6. Té de vermicompost diluido + algas, en una relación té:agua 1:3, aplicado en un sustrato de arena + compost, en proporción 1:1 en volumen.
7. Té de vermicompost diluido + algas, en una relación te:agua 1:3 aplicado en un sustrato de arena + vermicompost en proporción 1:1 en volumen.
8. Té de vermicompost diluido + algas, en una relación te:agua (1:3), aplicado en un sustrato de arena + compost + vermicompost en proporción 1:0:5:0:5 en volumen (cuadro 2)

El Té de Vermicomposta

El té de vermicompost de elaboró de acuerdo a la metodología de Ingham (2005), como se describe a continuación: para eliminar el exceso de cloro que se utiliza para potabilizar el agua, en un tanque de 100 litros se colocarán 60 litros de agua y se generará turbulencia durante tres horas con una bomba de aire. Luego, se colocará 6 Kg de vermicompost en una bolsa de plástico de red y se colocará la bolsa con la vermicompost dentro del tanque con agua previamente aireada. Finalmente se agregará una fuente de ácido húmico y nitrógeno orgánico (Biomix-N 30% N, Bioagromex S.A.) y 10 mililitros de una fuente fósforo orgánico (Biomix-P 25%, Bioagromex, S.A.). La mezcla se dejará fermentar por 24 horas con la bomba de aire encendida. Se aplicará 500 mililitros de té de vermicompost a cada maceta sin diluir con este tratamiento, mientras que para el té diluido a una proporción 1:3 se utilizará 1 litro de té de vermicompost por cada 3 litros de agua, de esta mezcla se aplicó 1 litro por maceta.

Análisis microbiológicos.

Según lo señala la norma NOM-037- FITO-1995. Por la que se establecen las especificaciones del proceso de producción y procesamiento de productos agrícolas orgánicos. En el punto 3.4.2 inciso "c" nos dice que *En casos de controversia sobre el carácter orgánico del producto se mandará realizar análisis al laboratorio aprobado que se designe por la Secretaría.*

Una de las enfermedades más comunes en los productos orgánicos es la *Salmonella* y una de las más peligrosas la *Escherichia coli* por lo que en el proyecto se hizo el análisis bacteriológico de estas dos bacterias en una producción orgánica de Tomate bajo condiciones de invernadero, en la cual el conteo de Coliformes Totales y el aislamiento de *Salmonella spp*, los resultados se muestran en el cuadro 2.5.

Cuadro 2.8. Identificación de *Salmonella*. Identificación de *Escherichia coli*.

TRATAMIENTO	# RACIMO/TRATAMIENTO	# MUESTRA	RECUENTO DE COLIFORMES												SALMONELLA				
			1			X̄	2			X̄	3			X̄		4			X̄
			10 ⁻¹	10 ⁻¹	10 ⁻²		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻³		10 ⁻⁴	10 ⁻⁴							
ARENA	7	1	5	2	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
	9	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
A + C	7	4	3	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
	8	5	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
	9	6	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
A + V	7	7	8	56	32	38	48	43	3	0	2	0	0	0	0	0	Negativo		
	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
A + v + c	7	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
	8	11	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
	9	12	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Negativo		
X̄						3.21			3.67		0.13				0.00				

DISCUSIÓN.

Cuadro 2.9 Croquis del diseño del invernadero.

PARED HUMEDA															
1	2	F3	1	2	F4	1	2	F5	1	2	Cuauhtemoc	RIEGO CADA 3 DIAS	}	TOMATE	
3	4	F3	3	4	F4	3	4	F5	3	4	Cuauhtemoc				
5	6	F3	5	6	F4	5	6	F5	5	6	Cid				
7	8	F3	7	8	F4	7	8	F5	7	8	Cid				
9	10	F3	9	10	F4	9	10	F5	9	10	Kickapoo				
11	12	F3	11	12	F4	11	12	F5	11	12	Kickapoo				
13	14	F3	13	14	F4	13	14	F5	13	14	Cherry				
15	16	F3	15	16	F4	15	16	F5	15	16	Cherry				
17	18	F3	17	18	F4	17	18	F5	17	18	Cuauhtemoc				
19	20	F3	19	20	F4	19	20	F5	19	20	Cuauhtemoc				
21	22	F3	21	22	F4	21	22	F5	21	22	Cid				
23	24	F3	23	24	F4	23	24	F5	23	24	Cid				
25	26	F3	25	26	F4	25	26	F5	25	26	Kickapoo				
27	28	F3	27	28	F4	27	28	F5	27	28	Kickapoo				
29	30	F3	29	30	F4	29	30	F5	29	30	Cherry				
31	32	F3	31	32	F4	31	32	F5	31	32	Cherry				
33	34	F3	33	34	F4	33	34	F5	33	34	Cuauhtemoc				
35	36	F3	35	36	F4	35	36	F5	35	36	Cuauhtemoc				
37	38	F3	37	38	F4	37	38	F5	37	38	Cid				
39	40	F3	39	40	F4	39	40	F5	39	40	Cid				
41	42	F3	41	42	F4	41	42	F5	41	42	Kickapoo				
43	44	F3	43	44	F4	43	44	F5	43	44	Kickapoo				
45	46	F3	45	46	F4	45	46	F5	45	46	Cherry				
47	48	F3	47	48	F4	47	48	F5	47	48	Cherry				
												RIEGO DIARIO	}	TOMATE	
101	102	F6	101	102	F7	101	102	F8	101	102					
103	104	F6	103	104	F7	103	104	F8	103	104					
105	106	F6	105	106	F7	105	106	F8	105	106					
107	108	F6	107	108	F7	107	108	F8	107	108					
109	110	F6	109	110	F7	109	110	F8	109	110					
111	112	F6	111	112	F7	111	112	F8	111	112					
Arena	A+C	A+V	A+C+V												
ENTRADA															

F1= Fertilización inorganica

F2= Fertilización con té de vermicompost

Fertilización Té de vermicompost diluido

A+C = Arena + Compost

A+V = Arena + Vermicompost

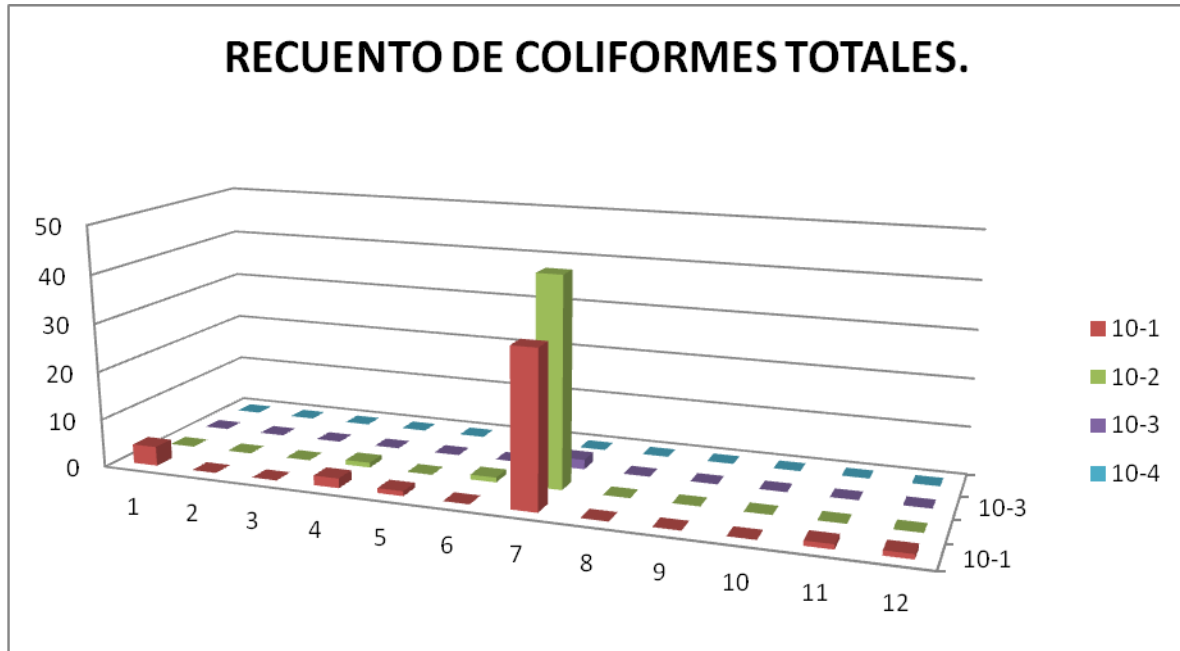
A+C+V = Arena + Compost + Vermicompost

A+C+P = Arena + Compost+Algas

A+V+P = Arena + Vermicompost+Algas

A+C+V+P = Arena + Compost + Vermicompost+Algas

Cuadro 2.10 Gráfica de recuento de Coliformes Totales.



- * 1-3 Arena
- * 4-6 Arena más Composta
- * 7-9 Arena más Vermicomposta
- * 10-12 Arena + Vermicomposta + composta

Se muestran los recuentos de coliformes totales, los cuales indican que no hay un número significativo de coliformes que alerte la producción orgánica de tomate bajo invernadero. Si se implementa en una producción de mayor magnitud las Buenas Prácticas Agrícolas, las cuales presentan la mejor recomendación con su aplicación práctica, una disminución o eliminación de los riesgos más comunes que ocasionan la contaminación del fruto; y se aplican las Normas Oficiales Mexicanas según cada caso se comprueba que la producción puede ser confiable para el consumo así como para el buen mantenimiento del suelo y su sobre explotación con productos químicos.

Los géneros de bacterias más ampliamente reportados a nivel mundial que causa enfermedades en humanos al ingerir alimentos contaminados son *Salmonella* y *Escherichia coli*. El origen de estas bacterias es generalmente la presencia de heces fecales de origen humano y animal, considerándose como un problema debido a su amplia distribución y presencia en los suelos agrícolas y agua contaminada, así como el contacto con las manos contaminadas de las personas que maniobran con el fruto.

V CONCLUSIONES

El mayor número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de coliformes totales se presentó en las líneas de los sustratos de arena + Vermicomposta y arena + Composta, por lo que se concluye que su presencia se debe a la manipulación inadecuada del producto y a la cercanía de la puerta de la nave de los que entran y salen del invernadero, como lo es de cerrar una de las puertas antes de abrir la otra para evitar la contaminación dentro del invernadero.

La presencia de *Salmonella spp* en las 96 muestras analizadas fue negativa; la carga de coliformes totales es baja sin representar un riesgo para el consumo humano.

Por lo anterior, la presencia de coliformes totales en la muestra se debió a la manipulación inadecuada, ya que la presencia de estos microorganismos sólo se presentó en las líneas de los sustratos de arena + Vermicomposta y arena + Composta y el resto están libres de estas bacterias. Es necesario implementar las buenas prácticas agrícolas y cumplir con el reglamento de lugares de producción orgánica para evitar la contaminación cruzada de bacterias.

Por lo anterior se puede decir que la presencia de coliformes se debió más al ambiente que al manejo de los trabajadores en el lugar, es necesario implementar bien las buenas prácticas agrícolas y el reglamento en lugares de producción orgánica para disminuir la probable contaminación cruzada de bacterias como lo son *Salmonella* y *Escherichia coli*.

VI LITERATURA CITADA

Atie RM, Edwards CA, Subler S y Metzger JD. 2000. Earthworm-processed organic wastes as components of horticultural potting media for growing marigold and vegetable seedlings. *Compost Science & Utilization* 8, 3:215:223

Cano R. P., Moreno R. A., Márquez H. C., Rodríguez D. N. y Martínez C. V. Producción Orgánica de Tomate bajo Invernadero en la Comarca Lagunera. Memorias del IV Simposio Nacional de Horticultura. Invernaderos: Diseño, Manejo y Producción, Torreón, Coah., México 2004. p. 2.

Castellanos (Eds). Manual de producción hortícola en invernadero. INACAPA. México

Chamarro, L. J. 1999. Anatomía y fisiología de la planta, p. 43-87. En: F. Nuez (Ed) *El Cultivo del Tomate*. Editorial Mundi-Prensa México.

Cisneros, O. Y. 1999. Calidad del Agua. Memorias sobre Inocuidad Alimentaria. SAGAR.BANCOMEXT. P 15-16.

Dodson M., Bachmann J. & Williams P. 2002. Organic Greenhouse Tomato Production. ATTRA. USDA

Esquinas, A. J. y F. V. Nuez 1999. Situación taxonómica, Domesticación y Difusión del Tomate, p: 13:23. En: F. Nuez (ed) *El cultivo del Tomate*. Editorial Mundi-Prensa México.

FAO. 2000. Consulta de expertos ADHOC sobre la evaluación de riesgos asociados a los peligros microbiológicos en los alimentos. Documento de trabajo. 17-21 de Julio., p 55.

FAO. 2001. Los mercados mundiales de frutas y verduras orgánicas. Roma, Italia. Figueroa V. U. y Cueto W. J. A. 2002. Uso sustentable del suelo y abonos orgánicos. Ponencia presentada como parte del curso: "Abonos orgánicos", Impartido dentro del XXI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo, 15 de octubre del 2002. Torreón, Coahuila.

FDA, 1999. Guía para reducir al mínimo el riesgo microbiano en los alimentos en el caso de frutas y vegetales frescos. 48 pp.

Frias, T. G. 2000. Estrategia Mexicana sobre Inocuidad Alimentaria. 7a Reunión Anual de CONACOFI; 1a Semana Nacional de Sanidad Agropecuaria. 24-26 de Octubre. Puebla, Puebla., p 66-68.

García, P. R. E. 1996. La lombricultura y el vermicompost en México. En: Agricultura orgánica: Una opción sustentable para el agro mexicano. Editor Ruiz, F. J. F. Universidad Autónoma Chapingo.

Gómez, C. M. A. y Gómez T. L. 1999. El mercado mundial de la horticultura orgánica en México. VII Congreso de Horticultura. 25 al 30 abril del 1999, Manzanillo, Col.

Hernández, J. L., Valdéz., M. Lagorreta y J.L. Flores. 2000. Contaminantes microbiológicos y físicos en frutas y hortalizas. Curso de capacitación sobre Buenas Prácticas Agrícolas. 26 de Nov-1 de Dic. Boca del Río, Veracruz. P. 31-35.

Infoagro. 2002. [HYPERLINK_ Del cultivo de tomate en primavera en invernadero.](#) Fuente: documento tecnológico agrícola, estación experimental "las palmillas". Caja rural de América.

Johnson DL. 1997. Using earthworm systems. *BioCycle* 38, 7:63-64

Kulkarni, B. S.; U. G. Nalawadi and R. S. Giraddi. 1996. Effect of vermicompost and Vermiculture on growth and yield in China aster (*Callistephus chinensis* Nees) cv. Ostrich Plume mixed. *South Indian Horticulture*. 44 p: 33-35 (Abstr.)

López A. 2004. Productos orgánicos ganan popularidad en el mercado. *El financiero*. 11 de marzo.

Luévano G. A. y Velásquez G. N. E. Ejemplo singular en los agronegocios, estiércol vacuno: de problema ambiental a excelente recurso. Año V. Volumen 9, julio - Diciembre del 2001. Torreón, México. Vol.: 9 (2) p. 70-71.

Macilwain C. 2004. Organic: is it the future of farming? *Nature* 428 p: 792-793

Magnano, J. C. y Gómez O. 1999. Curso de Lombricultura. Vita-Fertil.

Martínez, C. C. 1997 Martínez C., C. 2001. La lombricultura, una alternativa viable en la agricultura sustentable. CONACYT 5265 - N9407. Área de microbiología, PROEDAF - INR, Colegio de postgraduados, Montecillo, Estado de México., p: 3-4.

Mustin, M. 1987. *Le Compost, Gestion de la Metiere Organique*. Paris, Editions Francois DUBUSC, p: 954.

Navejas J. J. 2002. Producción orgánica de tomate. INIFAP-CIRNO. Desplegable Técnica No. 5.

Nogueroles, C; Sicilia, A. 2004. Conocimientos, técnicas y productos para la agricultura y la ganadería. *Imag Impressions*, S. I., Benifaio, Valencia., p. 68.

NOP 2004. The national organic program, USDA-USA.

Paul, EA; Clark, FE 1996. Soil Microbiology and Biochemistry. 2 ed. Academic Press. p. 340

Rynk, R 1992. On-Farm composting handbook. Northeast regional Agricultural Engineering Service. Cooperative Extension. New York, p. 186.

Sade, A. 1998; Cultivos bajo condiciones forzadas. Nociones Generales. Rejovot, Israel. p 143.

SAGAR. 2000. Estrategia sobre Inocuidad y Calidad Alimentaria. Memoria de Primera reunión sobre investigación en materia de Inocuidad Alimentaria México - E.U.: 40 pp.

SAGARPA, 2000. Norma Oficial Mexicana (con carácter de emergente) NOM-EM-034-FITO-2000, requisitos y especificaciones para la aplicación y certificación de Buenas Prácticas Agrícolas en el proceso de Producción de Frutas y Hortalizas Frescas. 29 pp.

Saltsman, J. 1999. Iniciativa de seguridad de Productos agrícolas (PSI): Perspectiva Reglamentaria. 1a Conferencia Regional de Salud Alimentaria para Norte y Centroamérica. 22-23 de sept. México, D.F. p 6-22

Sapers, G. M. 1999. Inventions to prevent contamination of fresh produce with pathogenic microorganisms. Memorias sobre Inocuidad Alimentaria. PIDTCA., p 1-6.

Schlermeler Q. 2004. Organic world view. Nature 428 p:794-795

Soto, G y Muñoz C. 2002. Manejo integrado de plagas y Agroecología. Costa Rica, p. 124.

Zamorano, U. J. 2005. Evolución y perspectivas de la agricultura orgánica en México. Claridades agropecuarias. p 3-4.