



COLEGIO DE POSTGRADUADOS
INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS PUEBLA

POSTGRADO DE ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA
REGIONAL

**“PRODUCCIÓN DE AUTOINDUCTORES Y
BIOPELÍCULAS MICROBIANAS Y SU RELACIÓN CON
LA CALIDAD Y COMPOSICIÓN QUÍMICA DE
JITOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill) CULTIVADO
EN LA REGIÓN DE AQUIXTLA, PUEBLA”**

MARÍA LORENA LUNA GUEVARA

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTORA EN CIENCIAS

PUEBLA, PUEBLA

2011.

La presente tesis titulada: “**PRODUCCIÓN DE AUTOINDUCTORES Y BIOPELÍCULAS MICROBIANAS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD Y COMPOSICION QUÍMICA DE JITOMATE (*Lycopersicum esculentum* Mill) CULTIVADO EN LA REGIÓN DE AQUIXTLA, PUEBLA**”; realizada por la alumna: María Lorena Luna Guevara; bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS

EN ESTRATEGIAS PARA EL DESARROLLO AGRÍCOLA REGIONAL

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA: _____


DRA. ADRIANA DELGADO ALVARADO

ASESOR: _____


DR. ALFREDO GABRIEL TORRES TEJEDA

ASESOR: _____


DR. EDGAR BRAULIO HERRERA CABRERA

ASESOR: _____


DR. MARIO ALBERTO TORNERO CAMPANTE

ASESORA: _____


DRA. ELSA IRACENA CASTAÑEDA ROLDÁN

PUEBLA, PUEBLA, JUNIO DE 2011.



COLEGIO DE POSTGRADUADOS


INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS
CAMPECHE-CÓRDOBA-MONTECILLO-PUEBLA-SAN LUIS POTOSÍ-TABASCO-VERACRUZ


CAMPUE- 43-2-03 ANEXO

CARTA DE CONSENTIMIENTO DE USO DE LOS DERECHOS DE AUTOR Y DE LAS REGALÍAS COMERCIALES DE PRODUCTOS DE INVESTIGACIÓN

En adición al beneficio ético, moral y académico que he obtenido durante mis estudios en el Colegio de Postgraduados, la que suscribe **María Lorena Luna Guevara** alumna de esta Institución, estoy de acuerdo en ser partícipe de las regalías económicas y/o académicas, de procedencia nacional e internacional, que se deriven del trabajo de investigación que realicé en esta Institución, bajo la dirección de mi consejera **Dra. Adriana Delgado Alvarado** por lo que otorgo los derechos de autor de mi tesis **“PRODUCCIÓN DE AUTOINDUCTORES Y BIOPELÍCULAS MICROBIANAS Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD Y COMPOSICION QUÍMICA DE JITOMATE (*Lycopersicum esculentum* Mill) CULTIVADO EN LA REGIÓN DE AQUIXTLA, PUEBLA”** y de los productos de dicha investigación al Colegio de Postgraduados. Las patentes y secretos industriales que se puedan derivar serán registrados a nombre del Colegio de Postgraduados y las regalías económicas que se deriven serán distribuidas entre la Institución, la Consejera o Directora de Tesis y la que suscribe, de acuerdo a las negociaciones entre las tres partes, por ello me comprometo a no realizar ninguna acción que dañe el proceso de explotación comercial de dichos productos a favor de esta Institución.

Puebla, Puebla 30 de mayo de 2011.


Firma


Vo. Bo. Profesora Consejera o Directora de Tesis

Dedicatoria y agradecimientos

Dedico esta tesis a:

A *Dios* por ayudarme y guiarme para culminar esta nueva etapa de mi vida.

A mi hijo *Miguel Angel* por su apoyo y sobre todo comprensión para poder finalizar esta investigación, hijito eres mi gran motivación y este trabajo es otro logro que conseguimos juntos.

A mis padres la *Sra. Ma. Rosa Guevara* y el *Sr. José Alberto Luna*, quienes me apoyaron en todo momento y de quienes he aprendido que solo hay una forma para conseguir las cosas y es a través del esfuerzo y la dedicación, aún cuando se requiera muchas veces empezar desde cero, los quiero mucho.

A mi hermano *Juan José*, a mi cuñada *Mayra*, sobrinitos *Daniel* y *Violeta* por su cariño y apoyo incondicional en esos momentos difíciles de mi preparación doctoral.

A mis tios *Violeta* y *Luis* que aún en la distancia me acompañaron y alentaron en estos años para conseguir el doctorado.

A mis amigos del laboratorio (espero no omitir a nadie) por que se volvieron parte importante de mi vida, muchas gracias a: *Maday Anzaldo, Madai Sánchez, Franceline, Teresita, Diego, David, Esmeralda* y *Maribel*.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haber financiado mis estudios doctorales en el Colegio de Postgraduados Campus Puebla durante el período 2007-2011.

Al Colegio de Postraguados Campus Puebla, donde adquirí mi formación académica en con el Postgrado en Estrategias para el Desarrollo Agrícola Regional.

A la Fundación Produce Puebla, la cual financió parte de esta investigación con el proyecto: “Determinación de la rentabilidad económica y caracterización fitoquímica de jitomate bajo diferentes sistemas de producción y ambientes en el Estado de Puebla”. **No. de Folio 21-2007-0303.**

Al Colegio de Postraguados Campus Puebla, por su apoyo financiero con el Fideicomiso de Fondos para la investigación científica y desarrollo tecnológico del centro publico de investigación. Con el Proyecto: Calidad Química de jitomate cultivado en invernadero y su relación con la producción de autoinductores y biopelículas microbianas. **No. de Folio 167304-2010.**

A los integrantes de mi Consejo Particular:

Dra. Adriana Delgado Alvarado. Le agradezco mucho su apoyo como consejera en mis estudios doctorales y sus aportes como asesora en una nueva área para mi formación profesional, la composición química de los vegetales, la cual la pudimos complementar muy bien con los resultados obtenidos en la parte microbiológica del estudio.

Dr. Alfredo Torres Tejeda. Le quiero agradecer su apoyo por haberme conducido en esa *idea* inicial que platicamos sobre el *Quorum Sensing* y que ahora se convierte en este completo estudio. Muchas gracias por sus revisiones, comentarios y observaciones las cuales dirigieron muchas veces el rumbo de la investigación en momentos de gran desesperación y que no salían bien las cosas.

Dr. Edgar Herrera Cabrera. Le agradezco sus atinadas observaciones y comentarios en cada uno de los apartados de este trabajo, así como su apoyo en el ordenamiento de los datos e interpretación de los análisis estadísticos, muchas gracias por alentarme para finalizar mis estudios y como una vez me dijo “ud. ya está en la ratonera su capacidad enfoquela para buscar la salida”.

Dr. Mario A. Tornero Campante. Gracias por proporcionarme sus conocimientos sobre el cultivo del jitomate y sobre los aspectos del entorno social los cuales me permitieron ver de manera más integral el Municipio de Aquixtla.

Dr. Elsa Iracena Castañeda Roldán. Muchas gracias por los comentarios y observaciones durante la revisión de esta investigación, mismos que fomentaron la culminación y avance del trabajo.

A los Productores de Jitomate en invernadero de las localidades de Aquixtla, Cuautieco, La Loma y Tlaltempa, particularmente agradezco su colaboración al Sr. Guillermo Espinosa Becerra, Sr. Raúl Castilla Sosa, Sr. Norberto Zamora Sosa, Sr. Alberto Nava Ruano, Sr. Pascual Méndez León, Sr. Heriberto Castilla Vargas y de forma especial el apoyo constante y disponibilidad en todo momento del Ing. Armando Zamora Fernández.

Al **Dr. Armando Navarro Ocaña** del Laboratorio de Patógenos entéricos, UNAM por permitirme realizar las pruebas de identificación, confirmación bioquímica y serológica de la microbiota aislada de muestras de suelo y frutos de jitomate. Lo cual fue esencial para poder seleccionar los microorganismos utilizados en los siguientes apartados de la investigación.

A la **Bióloga Greta Hanako Rosas Saito** del área de Microscopía Electrónica del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo por las facilidades prestadas en el estudio fotográfico realizado durante el estudio de las biopelículas formadas sobre la superficie del jitomate.

A mis profesores del Colegio de Postgraduados y de los cursos externos del CIBA y BUAP por fortalecer mi formación académica.

Al personal Administrativo del Colegio de Postgraduados Campus Puebla por su atenta atención, la **Dra. Esther Méndez, Lulú** en la biblioteca y **Dionisio** en la sala de cómputo.

A mis compañeros del Colegio por reunimos en desveladas, trabajos y exposiciones para culminar esta etapa.

**PRODUCCIÓN DE AUTOINDUCTORES Y BIOPELÍCULAS MICROBIANAS
Y SU RELACIÓN CON LA CALIDAD Y COMPOSICION QUÍMICA DE
JITOMATE (*Lycopersicum esculentum* Mill) CULTIVADO EN LA REGIÓN DE
AQUIXTLA, PUEBLA**

María Lorena Luna Guevara, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2011.

RESUMEN

Aquixtla es una de las principales regiones productivas de jitomate en invernadero en el Estado de Puebla. Sin embargo, existen problemas técnicos y se requieren alternativas de comercialización en las cuales se contemplen la calidad e inocuidad del fruto. Con base a estos dos aspectos, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar las relaciones entre las condiciones ambientales y los sistemas de producción, sobre la composición química, parámetros de calidad, producción de autoinductores y formación de biopelículas microbianas sobre jitomate cultivado en invernadero. Se consideraron tres etapas para el desarrollo de la investigación, **Etapa I:** Identificación y selección de los sistemas de producción más importantes de jitomate en el Municipio de Aquixtla, Puebla, **Etapa II:** Determinación de la variabilidad de componentes químicos y microbiota presente en jitomate cultivado bajo un mismo sistema de producción y **Etapa III:** Relación de las condiciones ambientales con la composición química del jitomate e interacciones bacteria-fruto. Se seleccionaron como unidades experimentales, invernaderos hidropónicos y de fertirrigación pertenecientes a las localidades La Loma, Cuautieco, Aquixtla y Tlaltempa, las cuales son representativas por su productividad, rendimiento y paquete tecnológico utilizado. Las evaluaciones realizadas sobre las propiedades fisicoquímicas y composición químico-funcional de los frutos mostraron diferencias significativas de acuerdo con el grado de madurez, variedad y sistema de cultivo utilizado. Los invernaderos presentaron variaciones en sus condiciones ambientales internas (temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa) que afectaron particularmente los contenidos de los compuestos bioactivos como licopeno y ácido ascórbico. Estas condiciones también influyeron sobre el comportamiento de la microbiota nativa (*Enterobacter cloacae* y *Citrobacter freundii*) y patógena (patogrupos de *Escherichia coli*) presente en el pericarpio de los frutos, demostrándose que estas bacterias para su garantizar su sobrevivencia producen autoinductores de tipo acil homoserinlactonas (AHLs) y se adhieren a la superficie por medio de biopelículas.

Palabras clave: *Lycopersicum esculentum* Mill, composición química, fruto, invernadero, microbiota.

**PRODUCTION OF AUTOINDUCER AND MICROBIAL BIOFILMS AND ITS
RELATION TO THE QUALITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF
TOMATO (*Lycopersicum esculentum* Mill) GROWN IN THE REGION OF
AQUIXTLA, PUEBLA**

María Lorena Luna Guevara, Dra.

Colegio de Postgraduados, 2011.

ABSTRACT

Aquixtla is one of the main regions in greenhouse tomato production in the state of Puebla. However technical problems and marketing need alternatives, which are provided for the safety and quality of fruit. Based on these two aspects, the present study aimed to evaluate the relationships between environmental conditions and production systems on the chemical composition, quality parameters, production of autoinducers and microbial biofilm formation on tomatoes grown in greenhouses. The investigation was conducted in three stages, Stage I: Identification and selection of the most important systems of tomato production in the municipality of Aquixtla, Puebla, Stage II: Determination of the variability of chemical components and microbiota present in tomato grown under the same production system and Stage III: Relationship between environmental conditions and the chemical composition of tomato and interactions bacteria-fruit. As experimental units, hydroponics and fertirrigation greenhouses were selected from La Loma, Cuautieco, Aquixtla and Tlaltempa communities, which are representative for their productivity, performance and technological package used. The assessments made on the physicochemical properties and chemical composition of the fruits showed significant differences for the degree of maturity, variety and cropping system used. The greenhouses showed variations in their internal environment conditions (temperature, relative humidity and photosynthetically active radiation), particularly affecting the contents of bioactive compounds such as lycopene and ascorbic acid. These environmental conditions also influenced the behavior of the native (*Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*) and pathogenic (*Escherichia coli* pathogroups) microbiota present on the pericarp of the fruit, showing that these bacteria produce acyl homoserinlactone autoinducers (AHLs) and adhere to the surface through biofilms, to ensure its survival.

Keywords: *Lycopersicum esculentum* Mill, chemical composition, fruit, greenhouse, microbiota

CONTENIDO

	TÍTULO	PÁGINA
I	INTRODUCCIÓN GENERAL	1
	1.1. JUSTIFICACIÓN.....	4
	1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
II	HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	6
	2.1. HIPÓTESIS GENERAL.....	6
	2.2 HIPÓTESIS PARTICULARES.....	6
	2.2. OBJETIVO GENERAL.....	7
	2.3 OBJETIVOS PARTICULARES.....	7
III	METODOLOGÍA GENERAL	8
IV	CAPÍTULO I. INCIDENCIA, FACTORES DE CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE LA MICROFLORA PRESENTE EN VEGETALES CRUDOS	18
V	CAPÍTULO II. IMPORTANCIA, BIOSÍNTESIS Y COMPOSICIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN JITOMATE (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill)	41
VI	CAPÍTULO III. IDENTIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE LOS PRINCIPALES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE JITOMATE BAJO INVERNADERO EN EL MUNICIPIO DE AQUIXTLA, PUEBLA	57
	Resumen.....	57
	Abstract.....	58
	Introducción.....	59
	Materiales y Métodos.....	60
	Resultados y Discusión.....	61
	Conclusión.....	73
	Bibliografía.....	73
VII	CAPÍTULO IV. “CALIDAD Y COMPOSICIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN JITOMATE (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill) CULTIVADO EN INVERNADEROS DE FERTIRRIEGO”	75
	Resumen.....	75
	Abstract.....	76
	Introducción.....	77
	Materiales y Métodos.....	78
	Resultados y Discusión.....	80
	Conclusión.....	88
	Bibliografía.....	88
VIII	CAPÍTULO V. DIVERSIDAD DE LA MICROBIOTA PRESENTE EN	

	JITOMATE (<i>Lycopersicum esculentum</i> Mill) Y SUELO EN RELACIÓN CON LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FRUTO.....	91
	Resumen.....	91
	Abstract.....	92
	Introducción.....	93
	Materiales y Métodos.....	94
	Resultados y Discusión.....	96
	Conclusión.....	103
	Bibliografía.....	103
IX	CAPÍTULO VI. INTERACCIONES BACTERIA-HOSPEDERO EN LA SUPERFICIE DEL FRUTO DE JITOMATE”	107
	Resumen.....	107
	Abstract.....	108
	Introducción.....	109
	Materiales y Métodos.....	110
	Resultados y Discusión.....	114
	Conclusión.....	127
	Bibliografía.....	127
X	CAPÍTULO VII. PARAMETROS DE CALIDAD Y COMPONENTES QUÍMICOS DE JITOMATE CULTIVADO EN DIFERENTES TIPOS DE INVERNADERO Y CONDICIONES AMBIENTALES.....	134
	Resumen.....	134
	Abstract.....	135
	Introducción.....	136
	Materiales y Métodos.....	137
	Resultados y Discusión.....	139
	Conclusiones.....	153
	Bibliografía.....	153
XI	DISCUSIÓN GENERAL.....	158
XII	CONCLUSIONES GENERALES Y ALCANCES DE LA INVESTIGACIÓN.....	176
	12.1. CONCLUSIONES GENERALES.....	176
	12.2 ALCANCES DE LA INVESTIGACIÓN.....	178
XIII	PROPUESTA DE ESTRATEGIA DESARROLLO.....	180
XIV	LITERATURA CITADA.....	186
XV	ANEXOS.....	207

LISTA DE CUADROS

CUADRO	TÍTULO	PÁGINA
4.1	Microorganismos asociados con brotes de enfermedades por el consumo de frutas, hortalizas crudas y productos no pasteurizados.....	20
4.2	Posibles fuentes de contaminación durante las etapas pre y post cosecha en la producción de vegetales crudos.....	21
5.1	Variación de los carotenos durante los diferentes estadios de maduración del jitomate.....	46
5.2	Variación en el contenido de ácido ascórbico de acuerdo con el procesamiento de jitomate.....	49
5.3	Contenido de compuestos antioxidantes en fruto fresco y productos de jitomate.....	49
6.1	Localidades y distribución de la población total del municipio de Aquixtla, Puebla.....	63
6.2	Número de invernaderos en los sistemas de producción de hidroponía y suelo en las localidades del Municipio de Aquixtla, Puebla.....	64
6.3	Componentes y condiciones de cultivo de los sistemas de producción de jitomate en Aquixtla, (2007).....	66
6.4	Nutrientes aplicados durante un mismo ciclo de cultivo en los invernaderos seleccionados en el estudio.....	70
7.1	Concentraciones de nutrientes aplicados en los sistemas de riego en las diferentes localidades del Municipio de Aquixtla, Puebla.....	78
7.2	Valores de pH, acidez titulable y °Brix de frutos de jitomate con diferentes grados de madurez en localidades del Municipio de Aquixtla, Puebla.....	81
7.3	Contenidos de licopeno en jitomates con 100% de madurez provenientes de las diferentes localidades y su relación con la materia orgánica presente en los invernaderos. V1 (variedad Reserva), V2 (variedad Charleston) y V3 (variedad 7705).....	86
8.1	Índices de diversidad, microbiota y valores medios del %MO analizados en suelo de invernaderos de tres localidades del municipio de Aquixtla, Puebla.....	99
8.2	Índices de diversidad, microbiota y composición química evaluados en frutos de jitomate con diferentes grados de	102

	madurez (0%, 50% y 100%).....	
9.1	Características y origen de las cepas bacterianas empleadas.....	111
9.2	Crecimiento de los patotipos EHEC, ETEC y <i>E. cloacae</i> en presencia de <i>C. freundii</i> inoculados en frutos de jitomate con diferente grado de madurez e incubados a distintas condiciones de temperatura y humedad relativa.	118
9.3	Crecimiento de los serotipos <i>E. coli</i> EHEC, ETEC y <i>C. freundii</i> en presencia de <i>E. cloacae</i> inoculados en frutos de jitomate con diferente grado de madurez e incubados a diferentes condiciones de Temperatura y Humedad Relativa.	119
9.4	Valores del parámetro firmeza y de color <i>a*</i> de frutos de jitomates con diferentes grados de madurez inoculados y almacenados a distintos tiempos de incubación (24y 72h) y dos condiciones de temperatura y humedad relativa.....	121
9.5	Producción de AHLs por <i>C. freundii</i> y/o EHEC y ETEC en dos condiciones de temperatura y humedad relativa.....	123
9.6	Producción de AHLs en <i>E.cloacae</i> y/o <i>E.coli</i> (EHEC, ETEC) en dos condiciones de temperatura y humedad relativa.....	124
10.1	Valores promedio de las condiciones ambientales prevalecientes en el cultivo de variedades de jitomate en invernaderos de fertirrigación e hidroponía.....	140
10.2	Parámetros de calidad interna de diferentes variedades de jitomate en tres estados de madurez y cultivados en hidroponía.....	142
10.3	Parámetros de calidad interna de diferentes variedades de jitomate en tres estados de madurez y cultivados en invernaderos bajo el sistema de fertirrigación.....	143
10.4	Coefficientes de correlación de Pearson entre los índices de color (a^*/b^* , $(a^*/b^*)^2$, Hue y Chroma), firmeza, licopeno y clorofila total de frutos de jitomate con madurez de consumo.....	147
10.5	Contenido de compuestos bioactivos en diferentes variedades jitomate y grados de madurez.....	149
10.6	Contenido de compuestos bioactivos en diferentes variedades jitomate y grados de madurez, cultivados en el sistema de producción con fertirrigación.	152
11.1	Descripción del número de productores, superficie cultivada y variedades de jitomate en los invernaderos de cuatro localidades del Municipio de Aquixtla, Puebla.....	159

11.2	Factores relacionados con la composición química de frutos colectados en tres sitios diferentes del invernadero (entrada, centro y parte posterior), de las variedades Charleston, 7705 y Reserva, cultivados en fertirrigación.....	161
11.3	Efectos de las condiciones ambientales sobre el comportamiento microbiano y fruto inoculado.....	169
11.4	Factores relacionados con la variabilidad en los parámetros de calidad y composición química del jitomate.....	175
15.1 A	Relación de problemáticas y componentes de los sistemas de producción de jitomate en los invernaderos, del Municipio de Aquixtla.....	208

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	TÍTULO	PÁGINAS
3.1	Diagrama General de la metodología utilizada en la investigación incluyendo las etapas y capítulos correspondientes.....	8
3.2	Procedimiento de la Etapa I correspondiente a las Fases del Diagnóstico Sistémico realizado en el Municipio de Aquixtla, Puebla, para identificar y seleccionar los sistemas de producción de jitomate en invernadero.....	9
3.3	Procedimientos de la Etapa II considerando el análisis en la variación de los parámetros de calidad, componentes bioactivos y diversidad bacteriana presentes en frutos colectados en diferentes sitios entrada (E), centro (C) y parte posterior (P) de invernaderos de fertirrigación.....	10
3.4	Procedimientos para la determinación de los componentes químicos presentes en jitomate. A) Procedimiento para la determinación de azúcares totales por el método espectrofotométrico de Antrona. B) Procedimiento para la determinación de Ácido Ascórbico Total por método enzimático ascorbato oxidasa.....	11
3.5	Procedimientos para el análisis de pigmentos y componentes bioactivos del fruto de jitomate. A) Procedimiento para la determinación de clorofila “a”, clorofila “b” y carotenoides totales. B) Procedimiento para la determinación de licopeno.....	12
3.6	Análisis de la microbiota y contenido de materia orgánica de muestras compuestas de suelo pertenecientes a invernaderos de fertirrigación.....	13
3.7	Procedimientos de la Etapa III en la que se relacionan las condiciones ambientales con los parámetros de calidad, composición química y microbiota presentes en frutos de jitomate. GM: Grado de Madurez, M50%: Madurez 50%, MF: Madurez Fisiológica, MC: Madurez de Consumo, T: Temperatura, HR: Humedad Relativa, RFA: Radiación Fotosintéticamente Activa, AI: Autoinductor.....	14
3.8	Procedimiento para la detección del autoinductor I: <i>Acil Homoserina Lactonas</i> (AHLS), mediante bioensayos en la detección de la inducción en la actividad de expresión de la β -galactosidasa.....	15
3.9	Procedimiento a seguir en la preparación de muestras para microscopía electrónica de barrido y exanimación de biopelículas.....	16
4.1	Mecanismos y fuentes de contaminación de vegetales crudos durante las etapas pre y post cosecha.....	22

4.2	Estructuras químicas de autoinductores. A) Acetil Homoserina Lactonas (AHLS), B) Furanosilborato diester y C) Péptidos de cadena corta. Donde R es el radical- OH, =O ó - H.....	27
4.3	Estructura química de las AHLS con diferente longitud de la cadena acilo lateral y sustituyente del carbono C3: Grupo carbonilo o hidroxilo.....	28
4.4	Síntesis de Acetil Homoserina Lactonas (AHLS) en la cual LuxI cataliza la biosíntesis teniendo como sustratos Acil-ACP (Proteínas transportadoras de acilo) y SAM (adenosilmetionina).....	29
4.5	Síntesis de AI-2 a partir de SAM (S-adenosilmetionina) como precursor, donde SDR es S-ribosilhomocisteína, SAM: S-adenosilmetionina, SAH: adenosil-homocisteína y DPD: 4,5-dihidroxi 2,3 pentanodiona.....	29
4.6	Mecanismo de Quorum Sensing AHL-LuxR dependiente, perteneciente a las bacterias Gram negativas.....	30
4.7	Mecanismo de inducción a la bioluminiscencia por medio de la detección del AI-2 en <i>Vibrio harveyi</i>	31
4.8	Sistema de <i>Salmonella</i> y <i>E. coli</i> considerando la detección de AHLS por SdiA y produciendo AI-2 por medio de LuxS.	32
4.9	Etapas durante el desarrollo de un biopelícula: Etapa 1: Adherencia inicial, Etapa 2: Adherencia irreversible, Etapa 3 Maduración I, Etapa 4 Maduración II y Etapa 5 Dispersión. Las microscopias muestran las distintas etapas y se encuentran en la misma escala.....	35
5.1	Ruta de la biosíntesis de carotenoides, los nombres de los sustratos aparecen en azul y las enzimas en negro, rojo y verde.....	52
6.1	Ubicación de la región de estudio: Municipio de Aquixtla en el noreste del Estado de Puebla.....	62
6.2	Micro localización de la región de estudio y municipios colindantes.....	62
6.3	Número de invernaderos productores de jitomate establecidos por localidad en el Municipio de Aquixtla, Puebla.....	64
6.4	Invernaderos “prototipo” utilizados en el Municipio de Aquixtla para la producción de jitomate (A) fertirriego y (B) hidroponia.....	65
6.5	Proceso para el cultivo de jitomate en invernadero propuesto para el Municipio de Aquixtla.....	67
7.1	Contenido de azúcares totales en frutos de jitomate con: A)	

	0%, 50% y 100% de madurez y B) Frutos de jitomate colectados en tres partes dentro del invernadero. Contenido de ácido ascórbico en frutos de jitomate con: C) 0%, 50% y 100% de madurez y D) Frutos de jitomate colectados en tres partes dentro del invernadero.....	83
7.2	Contenidos de A) clorofila total y B) carotenoides totales en frutos de jitomate de 0% y 100% de madurez recolectados en diferentes sitios dentro de los invernaderos.....	87
8.1	Frecuencia de aislamiento de enterobacterias en: A). Suelo y B). Frutos de jitomate en tres grados de madurez: M 0% (verde maduro), M50%(inicio pintón) y M100% (rojo claro).....	98
9.1	Crecimiento de las cepas bacterianas sobre la superficie del jitomate con diferentes grados de madurez y almacenamiento. (A y B) <i>E. coli</i> (ETEC), (C y D) <i>E. coli</i> EHEC, (E y F) <i>C. freundii</i> , (G y H) <i>E. cloacae</i> . Condiciones de almacenamiento: 22°C /60 de %HR y 40°/85% de HR. Grados de madurez: del 50%= M50%, fisiológica= MF y de consumo= MC. HR=humedad relativa.....	116
9.2	Microscopias de barrido en el pericarpio de jitomate inoculado con <i>C. freundii</i> y la interacción <i>C. freundii</i> y ETEC a 22 y 40°C con 65y 85% de HR. A y B) 1.5 horas las microscopias muestran iniciada la adherencia de <i>C. freundii</i> sobre la superficie del fruto. C) 72horas con 22°C y 65% de HR <i>C. freundii</i> y <i>E. coli</i> ETEC formar una estructura tipo biopelícula y D) 72horas con 40°C y 85% HR se observa la adherencia de células <i>C. freundii</i> y ETEC sobre la superficie de tejido vegetal agrietado.....	126
9.3	Microscopias de barrido de pericarpio de jitomate inoculado con <i>E. cloacae</i> a 40°C y 85% de HR. A y B) 72 horas se observan poblaciones de células adheridas y material extracelular. C y D) 162 horas de incubación se observa material extracelular y solamente algunas bacterias embebidas.....	127
10.1	Comparación de los parámetros de color en frutos con diferentes grados de madurez 50% y de consumo, pertenecientes a siete variedades de jitomate cultivados en invernaderos bajo los sistemas de producción de hidroponía y fertirrigación. A) valores de los parámetros a^* , b^* y L^* y B) valores del parámetro a^*	146
10.2	Relaciones de condiciones ambientales (temperatura mínima-TMin, temperatura moda-TMo y temperatura	

	máxima-TMax) y contenido de licopeno en frutos de jitomate de las variedades A) Charleston y B) La Joya colectados en madurez del 50% (M50%), madurez fisiológica (MF) y madurez de consumo (MC).....	150
13.1	Diagrama General de la Estrategia de Desarrollo para la Producción, Procesamiento y Comercialización de jitomate cultivado en invernadero.	180
13.2	Componentes del Punto Estratégico1 (PE1): Producción y Distribución.....	181
13.3	Componentes del Punto Estratégico 2 (PE2): Viabilidad económica.....	182
13.4	Alternativas para reducir pérdidas y mermas por medio del procesado del fruto	183
13.5	Punto Estratégico 3 (PE3). Sinergia de las Instituciones participantes para la formulación de la Estrategia de Desarrollo.....	183
13.6	Punto Estratégico 4 (PE4). Satisfacción de requisitos de Inocuidad, Calidad y Normatividad vigentes.....	184
13.7	Componentes y funciones del Sistema Operativo de Comunicación (TYP).....	187
15.1^a	Instrumentos utilizados durante la Segunda Fase del Diagnóstico con la finalidad de identificar y seleccionar los sistemas de cultivo. A) Encuestas y entrevistas con productores, B) recorridos de campo en invernaderos, C) y D) Talleres participativos.....	207

I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La mitad de la producción mundial de hortalizas la constituyen principalmente la papa y el jitomate, lo cual refleja la importancia que tienen estos cultivos para la seguridad alimentaria de cualquier país en el mundo (FAOSTAT, 2006). México ocupa el décimo lugar a nivel mundial como productor de jitomate y segundo como comercializador del producto (Sandoval, 2008). Asimismo la producción de jitomate en México en las últimas décadas se ha incrementado notablemente debido a las nuevas tendencias de consumo por hortalizas que se reconocen por su atractivo sensorial, frescura, facilidad de preparación y un reconocimiento creciente de los beneficios a la salud (Raffo *et al.*, 2006).

En el Estado de Puebla en años recientes se ha promovido el cultivo de jitomate en invernadero como una alternativa de Desarrollo Agrícola en los Municipios de Tetela de Ocampo, Aquixtla, Zacatlán e Itacamaxtitlan (SAGARPA, 2007). Específicamente el municipio de Aquixtla cuenta con una superficie cultivada de jitomate en invernadero de aproximadamente 19 ha con un total de 80 productores, quienes utilizan como principales sistemas de producción la hidroponía y la fertirrigación (Diagnóstico Agrícola Regional, 2007), lo anterior justifica la rentabilidad de este cultivo en el Municipio. Sin embargo aunque la producción de jitomate se viene desarrollando bajo condiciones controladas, se requieren propuestas que permitan introducir los frutos en mercados con mayor valor, con base en la diferenciación de productos de alta calidad y sanidad, para lo cual se tiene dar cumplimiento con los atributos de calidad, composición químico-funcional y especificaciones de inocuidad (Pacheco, 2005).

Los atributos de calidad están determinados por las propiedades físico-químicas como son el pH, contenido de sólidos solubles totales (°Brix) y ácidos orgánicos (acidez titulable), además de los parámetros externos como firmeza y color los cuales son requeridos para la comercialización y elección del fruto por parte del consumidor (Kader *et al.*, 1977).

La composición del jitomate se reconoce ser la principal fuente de licopeno, el tercer contribuidor de vitamina C, cuarta fuente de vitamina A, flavonoides, potasio y otros constituyentes como proteínas y fibra dietética (Leonardi *et al.*, 2000; Willcox *et al.*, 2003). Algunos de estos compuestos son considerados como “bioactivos”, cuyas propiedades “antioxidantes” se encuentran asociadas con la prevención de enfermedades de tipo carcinogénicas y cardiovasculares (Juroszek *et al.*, 2009).

Asociados a los atributos de composición químico-funcional se encuentran las especificaciones relacionadas con la inocuidad del fruto, las cuales dependen de la interacción de varios factores como son las condiciones ambientales, prácticas de cultivo, procesos post cosecha, quienes determinan la sobrevivencia de ciertas poblaciones microbianas. (Tauxe *et al.*, 1997; Orozco *et al.*, 2008).

Entre los géneros de la familia *Enterobacteriaceae* identificadas con mayor frecuencia en jitomate se encuentran *Enterobacter* (*E. aerogenes*, *E. cloacae* y *E. agglomerans*),

Klebsiella terrigena, y ciertos patógenos tales como *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella*, los cuales se relacionan con múltiples brotes de enfermedades gastrointestinales (Escartín, 2002; Beuchat, 2002; Harris *et al.*, 2003; Smith y Fratamico, 2005; Orozco *et al.*, 2008; Berger *et al.*, 2010).

Según Archer, (1996) y Smith *et al.* (2004) la sobrevivencia y virulencia de la flora patógena y deteriorativa depende de la expresión de ciertos genes en respuesta a las condiciones del ambiente que las rodea. El proceso que regula esta expresión es conocido como *Quorum Sensing* (QS) el cual depende de la síntesis y reconocimiento de señales químicas conocida como autoinductores (Smith *et al.*, 2004). En los vegetales crudos se considera que la capacidad de los microorganismos para colonizar, internalizar o adherirse a la superficie o bien mantenerse en comunicación con la flora nativa dependen del QS. El QS también contribuye a que las bacterias sobrevivan frente a los cambios de las condiciones ambientales mediante la formación de biopelículas, Lu *et al.* (2005) reportan la relación entre las moléculas autoinductoras y la formación de biopelículas bacterianas en jitomate. Entre las moléculas autoinductoras (AI) utilizadas por las bacterias Gram negativas se encuentran las acetil homoserin lactonas (AHLs) y las furanosilborato diester consideradas como autoinductor 1 (AI-1) y autoinductor 2 (AI-2), respectivamente (Surette y Bassler, 1998; Smith *et al.*, 2004). La síntesis del AI-1 depende de la proteína LuxM y AI-2 depende de Lux S (Lu *et al.*, 2005). La producción de AI permite la comunicación entre bacterias de una misma especie o entre diferentes especies (Cloak *et al.*, 2002).

Conociendo el funcionamiento del QS sobre la ecología microbiana se pueden desarrollar propuestas que impacten sobre las señales de comunicación o AI y por lo tanto alterar los mecanismos de patogenicidad microbiana, como es la formación de biopelículas sobre las superficies de los alimentos.

Por lo que la presente investigación enfocó su objetivo general a estudiar cómo las condiciones ambientales prevaletentes en los sistemas de cultivo de jitomate, influyen en la composición química, producción de autoinductores y formación de biopelículas, generados por la población microbiológica presente sobre la superficie del fruto. A partir de la información generada se podrán proponer alternativas de cultivo que prevengan la producción y formación de autoinductores y biopelículas en el fruto y con ello mejorar la calidad en la producción de jitomate en invernadero en el Estado de Puebla.

La investigación está conformada por siete capítulos, los Capítulos I y II consisten en una revisión bibliográfica en la que se abordan los factores de crecimiento y sobrevivencia de la microbiota presente en vegetales crudos, así como la importancia de los compuestos antioxidantes en jitomate. Los capítulos restantes son presentados bajo formato de artículo, el primer artículo corresponde al Capítulo III que consistió en identificar y seleccionar los sistemas de producción de la región de estudio. En los Capítulos IV y V, se concentran los resultados de los estudios sobre de la variación en la composición química y microbiota presente en frutos cultivados bajo el sistema de

producción con fertirrigación. En el Capítulo VI se presentan los resultados acerca de los efectos de las condiciones ambientales prevalecientes en los invernaderos sobre el comportamiento de la microbiota nativa y patógena aislada en fruto. En el Capítulo VII se estudió la influencia de los parámetros ambientales sobre la composición química y atributos de calidad en frutos cultivados en diferentes sistemas de producción.

En función de las expectativas y problemáticas identificadas en la región de estudio y de los resultados obtenidos en la presente investigación, se propuso una Estrategia de Desarrollo considerando tres ejes principales: Comercialización, Producción y Procesamiento del fruto. En la parte final del documento se establecen las conclusiones generales y recomendaciones para futuros trabajos de investigación.

1.1 JUSTIFICACIÓN

Evidencias epidemiológicas actuales muestran un incremento en las enfermedades tipo carcinogénicas y cardiovasculares a nivel mundial (Ramandeep *et al.*, 2005), lo cual justifica el consumo regular de vegetales y frutas debido a su potencial alimenticio que se asocia con el contenido de vitaminas y compuestos conocidos como “antioxidantes” (Ortega *et al.*, 2004; Brecht *et al.*, 2004). El jitomate o tomate es considerado como una de las principales fuentes de antioxidantes por su contenido de licopeno, vitaminas C y A y flavonoides (Willcox *et al.*, 2003). Aparte de estas propiedades el jitomate es considerado mundialmente como uno de los principales ingredientes en las diversas culturas gastronómicas de ahí que su consumo se produzca durante todo el año.

México es un importante exportador de jitomate para el mercado fresco, se calcula que las exportaciones actuales de jitomate cultivado en invernadero representan un volumen de 130mil ton, cuyo valor es aproximadamente de 200 millones de dólares (Productores de hortalizas, 2002) lo cual confirma la rentabilidad del cultivo de jitomate. En el estado de Puebla la producción de jitomate se ha venido impulsando en los municipios de la Sierra Norte entre ellos se encuentra la región de Aquixtla. Actualmente los productores de jitomate de Aquixtla están buscando colocar sus productos en nuevos mercados que les permita una mayor estabilidad de precios, para lo cual se requiere cumplir con las exigencias de calidad e inocuidad en los frutos. Los parámetros de calidad están relacionados con la composición química y las propiedades fisico-químicas de los frutos, mientras que las especificaciones de inocuidad están asociadas con la presencia de ciertos patógenos capaces de adherirse e internalizarse para sobrevivir en los alimentos.

La contaminación de vegetales crudos representa un riesgo serio para contraer enfermedades de origen alimentario (Beuchat, 2002) Entre estos padecimientos se encuentran los brotes asociados por el consumo de productos frescos como el jitomate con *Salmonella enterica* serovar Enteritidis y *Escherichia coli* enterohemorrágica (EHEC) serotipo 0157:H7, ambos patógenos son capaces de colonizar el intestino y causar síndromes diarreicos o en niños propiciar el síndrome hemolítico-urémico (Torres *et al.*, 2005). Mientras que en México a partir de 1991, los serotipos *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* junto con el patogruppo enterotoxigénico de *E. coli* han sido los más incidentes (Cortés *et al.*, 2002; Mancera *et al.*, 2005). En los dos tipos de microorganismos su sobrevivencia está asociada con la adherencia y la formación de biopelículas en alimentos (Iturriaga *et al.*, 2007). De ahí la importancia de incrementar los estudios que permitan conocer los procesos de adhesión y desarrollo de biopelículas bacterianas, sobre la superficie de frutas y vegetales, como el jitomate.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El jitomate es una de las especies vegetales comestibles más extendida mundialmente debido a la aceptación que tiene en las diversas culturas del mundo, además se evidencia por ser el segundo producto hortícola de consumo mundial. Durante el 2007 la producción de *Lycopersicon esculentum* Mill, alcanzó 2.2 millones de toneladas (ton) en nuestro país, de donde 17,523 ton fueron aportadas por el estado de Puebla (INEGI, 2008). En años recientes, se ha registrado un crecimiento gradual en el establecimiento de invernaderos para el cultivo de jitomate en los Municipios de Tetela de Ocampo, Aquixtla, Zacatlán e Ixtacamaxtitlan (SAGARPA, 2008). La utilización de invernaderos en estas regiones se está convirtiendo en una alternativa productiva importante, que permite introducir cultivos más rentables y controlar una serie de factores ecológicos y ambientales que limitan la producción de otros productos agrícolas (SAGARPA, 2007). Por tal motivo la presente investigación tiene contemplada como región de estudio al Municipio de Aquixtla, situada en la parte noroeste del estado de Puebla. El cual cuenta con una superficie cultivada de jitomate en invernadero aproximadamente de 19 ha con un total de 80 productores, donde algunas de las localidades representativas son: La Loma, Cuautieco, Atlomulco, Aquixtla y Tlaltempa. Los dos sistemas de producción de jitomate en invernadero corresponden a la hidroponía y fertiirrigación, siendo este último el más utilizado por los productores. Los sistemas de producción difieren entre comunidades de acuerdo con las condiciones de manejo, rendimiento, variedades y ciclos de cultivo. Otra variante es que en la región de estudio existe la necesidad de conseguir alternativas de comercialización que permitan garantizar la venta del producto a través de un valor “agregado” que se relacione con el cumplimiento de las exigencias mundiales de calidad, presentación y certificación de contenido (Pacheco, 2005).

Uno factor fundamental que debe ser considerado para la búsquedas de nuevos mercados en productos frescos como el jitomate es la *inocuidad*, según la OMS y FAO, (2005) es el asunto de mayor prioridad para consumidores, productores y gobiernos. Lo anterior debido a que las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA'S), se encuentran entre las principales causas de muerte en America Latina; en México durante el quinquenio del 1997-2002 se presentaron 461 brotes con 9889 afectados y un total de 41 fallecidos, representando un grave problema de salud pública.

Por estas razones, surgió el planteamiento de la presente investigación a fin de crear propuestas que identifiquen los atributos de calidad fitoquímica del jitomate; considerando los diferentes ambientes, grados de madurez del fruto, cultivares y condiciones de cultivo en invernadero. De la misma forma, se requieren identificar aquellas condiciones que pudieran promover el crecimiento de cierta microbiota (nativa y patógena) presente en el jitomate, capaz de producir moléculas autoinductoras (AI) participes del proceso conocido como “Quorum Sensing” y formadoras de biopelículas sobre la superficie del fruto. Los hallazgos obtenidos pueden ser utilizados para plantear acciones estratégicas que impidan la contaminación del jitomate ya sea durante su

desarrollo o bien en su cosecha en relación con las condiciones ambientales presentes en el invernadero, que de alguna forma favorezcan la colonización del fruto.

De ahí que para el planteamiento del problema de la presente investigación, se requiere formular la siguiente pregunta:

¿Existe relación entre las condiciones ambientales de los sistemas de producción y la composición química, así como en la producción de autoinductores y desarrollo de biopelículas a partir de la microbiota presente en el fruto de jitomate?

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS GENERAL

Las condiciones ambientales prevalecientes en los sistemas de producción de jitomate en invernadero afectan la composición químico-funcional y parámetros de calidad del fruto, asimismo determinan la presencia de cierta microbiota nativa y patógena capaz de producir autoinductores y formar biopelículas sobre la superficie del fruto.

2.1.2 HIPÓTESIS PARTICULARES

- Las condiciones ambientales como temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa junto con las condiciones de manejo del cultivo: hidroponía y fertirrigación, afectan la composición química (contenidos de azúcares totales, licopeno, carotenoides totales, clorofila y ácido ascórbico) y parámetros de calidad (color, firmeza, pH, acidez titulable) de jitomate producido en invernadero.
- El comportamiento de la microbiota nativa y patógena presente capaz de producir moléculas autoinductoras y formar biopelículas sobre la superficie del fruto, depende de las condiciones de temperatura y humedad relativa prevalecientes en los sistemas de producción.
- Las interacciones microbianas presentes en la superficie del fruto alteran los parámetros de calidad como color y firmeza, de acuerdo con determinadas condiciones post cosecha como temperatura y humedad relativa.

2.2 OBJETIVO GENERAL

Evaluar las relaciones entre las condiciones ambientales y sistema de producción sobre la composición química, parámetros de calidad, producción de autoinductores y formación de biopelículas microbianas, en jitomate cultivado en invernadero en la región de Aquixtla, Puebla.

2.2.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- Identificar y seleccionar los sistemas de producción de jitomate en invernadero de acuerdo con las localidades más representativas en el Municipio de Aquixtla, Puebla.
- Evaluar la variación de los parámetros de calidad y componentes bioactivos del fruto de jitomate con diferentes grados de madurez y colectados en distintas secciones de un mismo invernadero.
- Identificar la diversidad de las enterobacterias presentes en suelo y jitomate pertenecientes a invernaderos con fertiirrigación y su relación con la composición química.
- Determinar los comportamientos de la microbiota nativa y enteropatógena del fruto, en poblaciones individuales y mixtas expuestas a diferentes condiciones de temperatura (T) y humedad relativa (HR).
- Relacionar las condiciones de crecimiento con los cambios en las propiedades físicas (color y firmeza) de los frutos inoculados, producción de autoinductores y formación de biopelículas con estadios pre cosecha.
- Determinar la variación en el contenido de componentes químicos (licopeno, azúcares solubles y ácido ascórbico) y parámetros de calidad (peso fresco, pH, °Brix, acidez titulable, color (a^* , b^* y L) y firmeza del fruto) en jitomate cultivado en diferentes sistemas de producción y estadios de maduración.

III. METODOLOGÍA GENERAL

La metodología utilizada en esta investigación se desarrolló en tres etapas: **Etapa I:** Identificación y selección de los sistemas de producción más importantes de jitomate en el Municipio de Aquixtla, Puebla, **Etapa II:** Determinación de la variabilidad de componentes químicos y microbiota presente en jitomate cultivado bajo un mismo sistemas de producción y **Etapa III:** Relación de las condiciones ambientales con la composición química del jitomate e interacciones bacteria-fruto. Los procedimientos de cada una estas etapas se detallan en los capítulos correspondientes, como se presenta en la Figura 3.1.

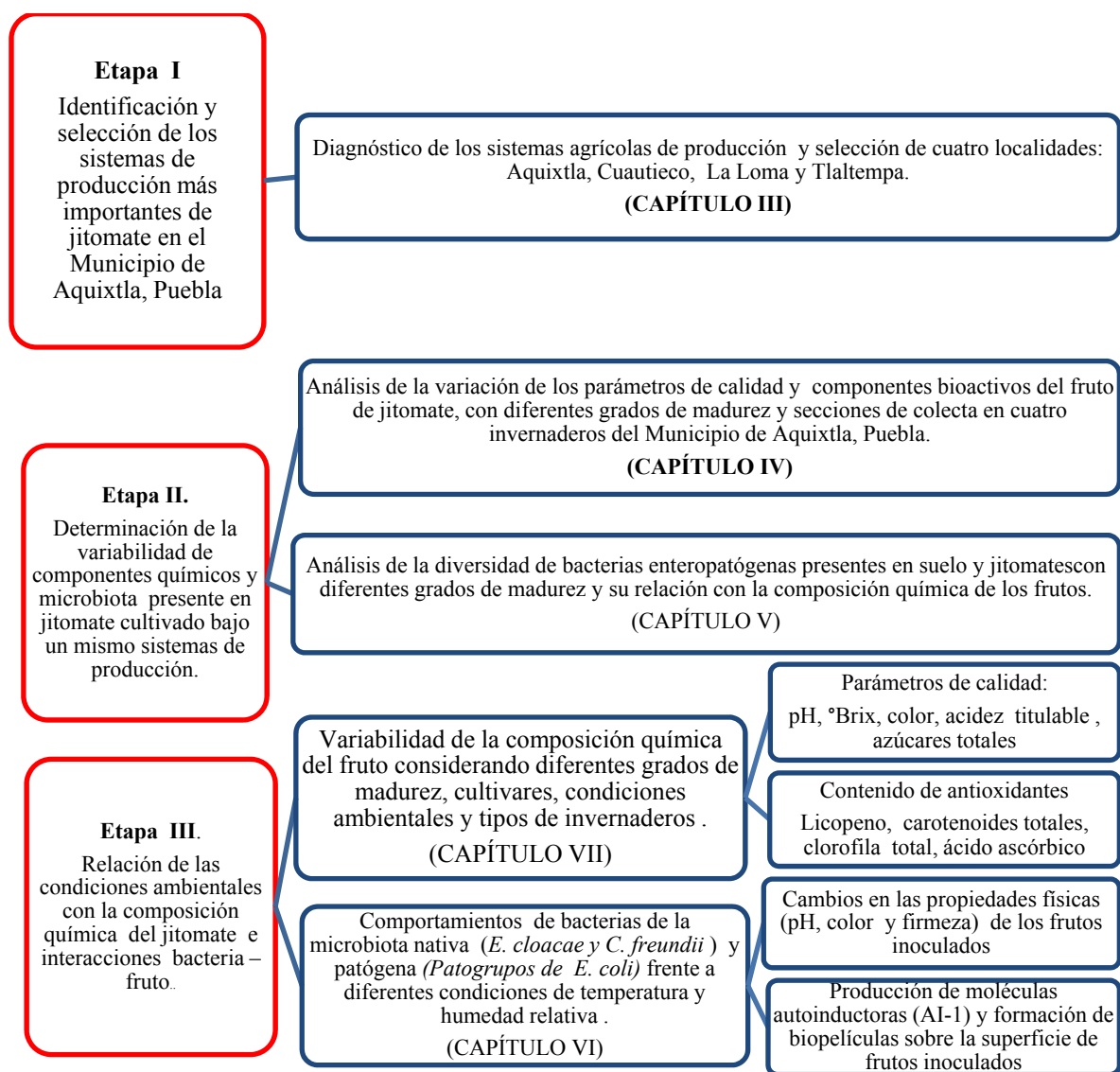


Figura 3.1. Diagrama General de la metodología utilizada en la investigación incluyendo las etapas y capítulos correspondientes.

Etapa I: Identificación y selección de los sistemas de producción más importantes de jitomate en el Municipio de Aquixtla, Puebla:

Para el desarrollo de esta etapa se realizó un diagnóstico tipo sistémico que consistió en tres fases: selección del área de estudio, diagnóstico e integración y sistematización de la información, las cuales se detallan en el Capítulo III. En la Figura 3.2 se esquematiza la secuencia del diagnóstico, en la primera fase se consideró la revisión de fuentes de información secundaria y entrevistas con informantes clave, en la segunda fase se utilizaron diferentes técnicas como recorridos de campo, talleres participativos y encuestas con productores y finalmente en la tercera fase se realizó el análisis de la información obtenida.

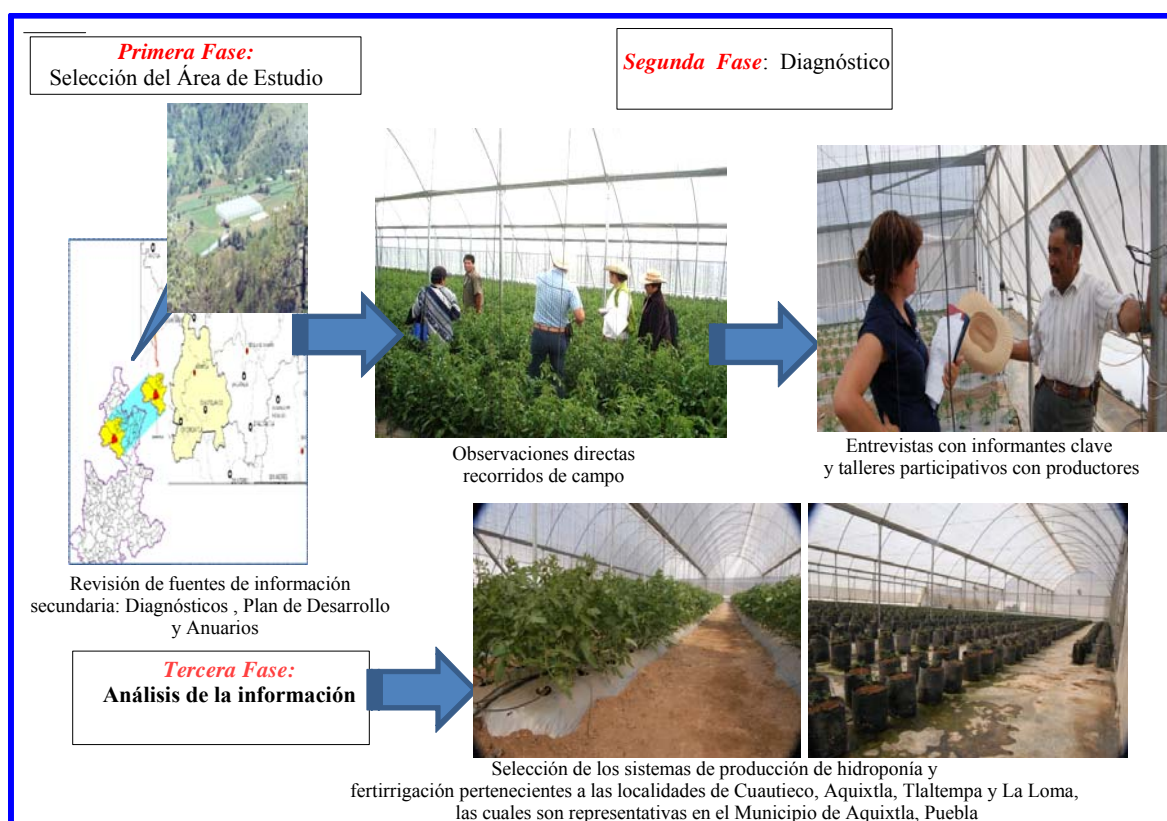


Figura 3.2. Procedimiento de la Etapa I correspondiente a las Fases del Diagnóstico Sistémico realizado en el Municipio de Aquixtla, Puebla, para identificar y seleccionar los sistemas de producción de jitomate en invernadero.

Etapa II. Determinación de la variabilidad de componentes químicos y microbiota presente en jitomate, cultivado en sistemas de fertirrigación.

En la Figura 3.3 se presentan las sub-etapas consideradas para determinar la variación de la composición química y diversidad de la microbiota presente en frutos y suelo, mismos que fueron muestreados en cuatro invernaderos de fertirrigación de las localidades La Loma, Aquixtla, Cuautieco y Tlaltempa, en el Municipio de Aquixtla, Puebla.

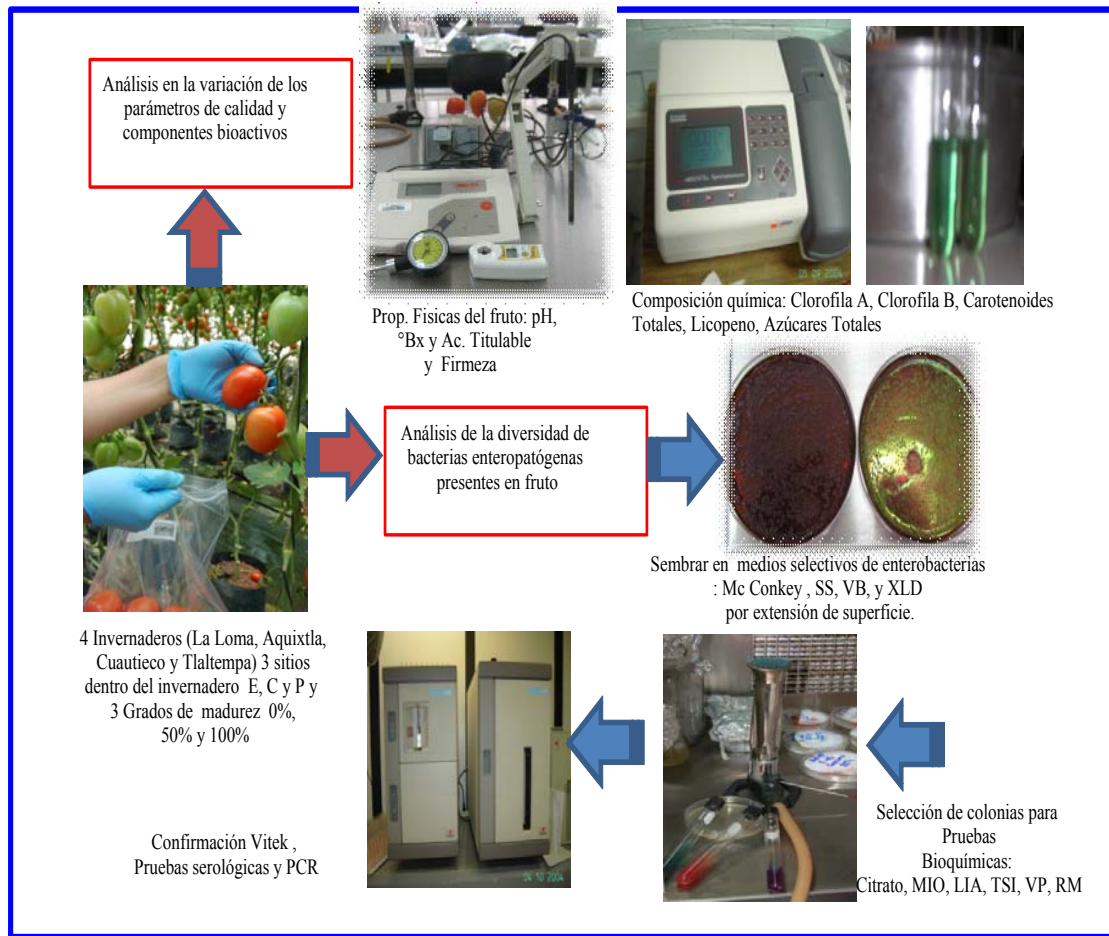


Figura 3.3. Procedimientos de la Etapa II considerando el análisis en la variación de los parámetros de calidad, componentes bioactivos y diversidad bacteriana presentes en frutos colectados en diferentes sitios entrada (E), centro (C) y parte posterior (P) de invernaderos de fertiirrigación.

2.1 Muestras de suelo y frutos. Las muestras de suelo y frutos se obtuvieron a partir de un muestreo completamente al azar considerando tres repeticiones y tres secciones diferentes de cada invernadero: entrada (E), centro (C) y parte posterior (P). Se obtuvieron muestras compuestas de suelo y de frutos de acuerdo con los estados de madurez: 0%, 50% y 100%, considerando la carta de color de la USDA, correspondiente a la siguiente evaluación visual de color: 0% (verde maduro), 50% (rosado) y 100% (rojo claro). Las variedades y tipos de jitomate que se colectaron en cada comunidad, fueron: “Reserva” tipo saladette en La Loma y Aquixtla, “Charleston” tipo bola en Cuautieco y “7705” tipo saladette en Tlaltempa.

2.2 Análisis de parámetros de calidad y componentes bioactivos del fruto de jitomate:

En este primer muestreo los parámetros de calidad analizados en fruto fueron pH, °Brix (sólidos solubles totales) y acidez titulable y los componentes químicos evaluados fueron azúcares totales, ácido ascórbico total, licopeno, clorofila y carotenoides totales. Los protocolos de análisis utilizados en esta parte de la investigación se detallan en el capítulo IV, de manera esquemática en las Figuras 3.4 y 3.5 se resumen algunas de las técnicas empleadas.

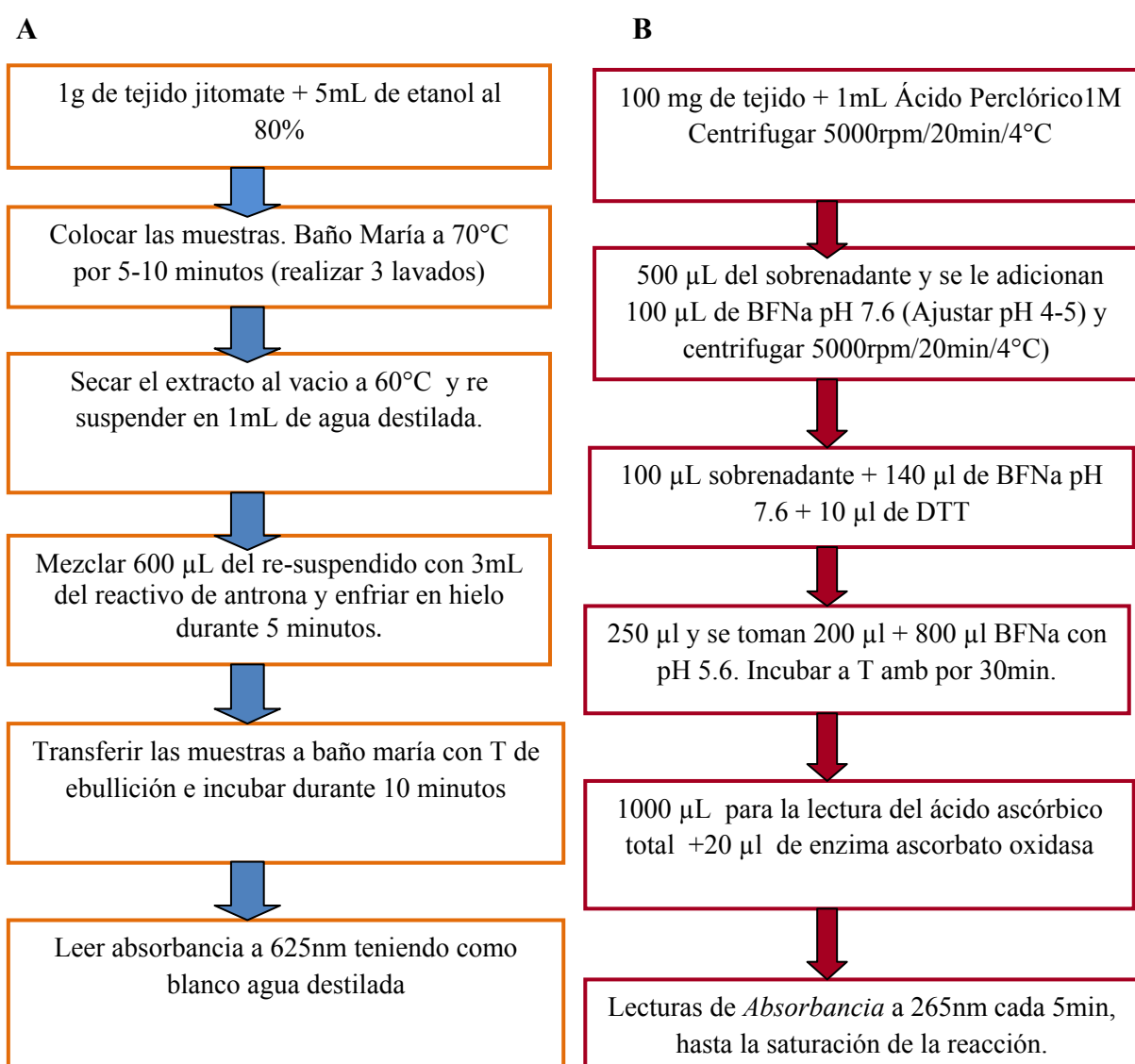


Figura 3.4. Procedimientos para la determinación de los componentes químicos presentes en jitomate. A) Procedimiento para la determinación de azúcares totales por el método espectrofotométrico de Antrona. B) Procedimiento para la determinación de Ácido Ascórbico Total por método enzimático ascorbato oxidasa.

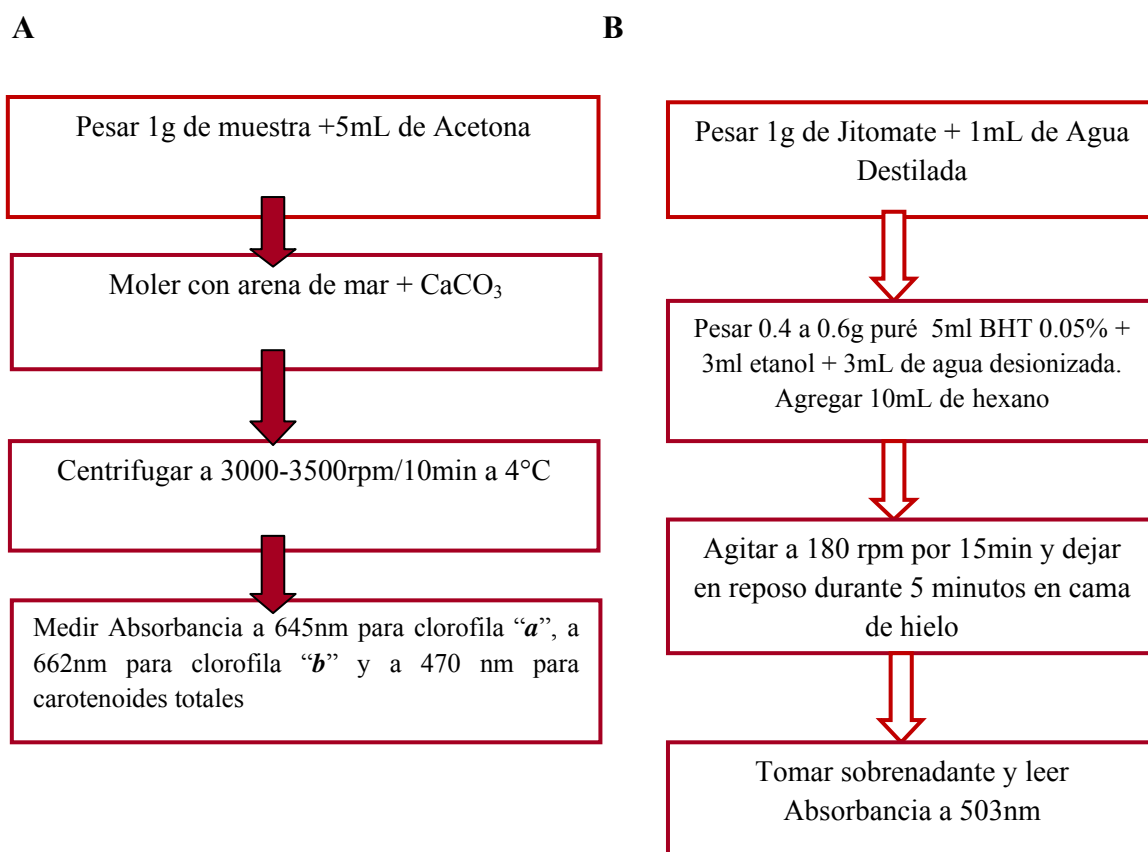


Figura 3.5. Procedimientos para el análisis de pigmentos y componentes bioactivos del fruto de jitomate. A) Procedimiento para la determinación de clorofila “a”, clorofila “b” y carotenoides totales. B) Procedimiento para la determinación de licopeno.

2.3 Análisis de la diversidad de bacterias enteropatógenas presentes en suelo y jitomates con diferentes grados de madurez y su relación con la composición química de los frutos.

En este apartado se evaluaron los contenidos de materia orgánica e identificó la microbiota presente en 12 muestras compuestas de suelo provenientes de la entrada, centro y parte de posterior de tres invernaderos de fertirrigación, pertenecientes a las localidades de Cuautieco, Aquixtla y La Loma (Figura 3.6). De manera similar se analizó la microbiota de 162 frutos de jitomate colectados en las mismas secciones de muestreo y considerando tres estadios de madurez: 0%, 50% y 100%. Se determinaron los contenidos de azúcares totales, ácido ascórbico y licopeno a partir de frutos que presentasen los grados de madurez antes mencionados.

A partir de la microbiota aislada e identificada en suelo y fruto se calcularon los índices de diversidad de Simpson (D) y Shannon-Wiener (H'), además del estimador de Chao (S_{Chao1}). La metodología considerada en esta sección se detalla en el capítulo V de esta tesis.

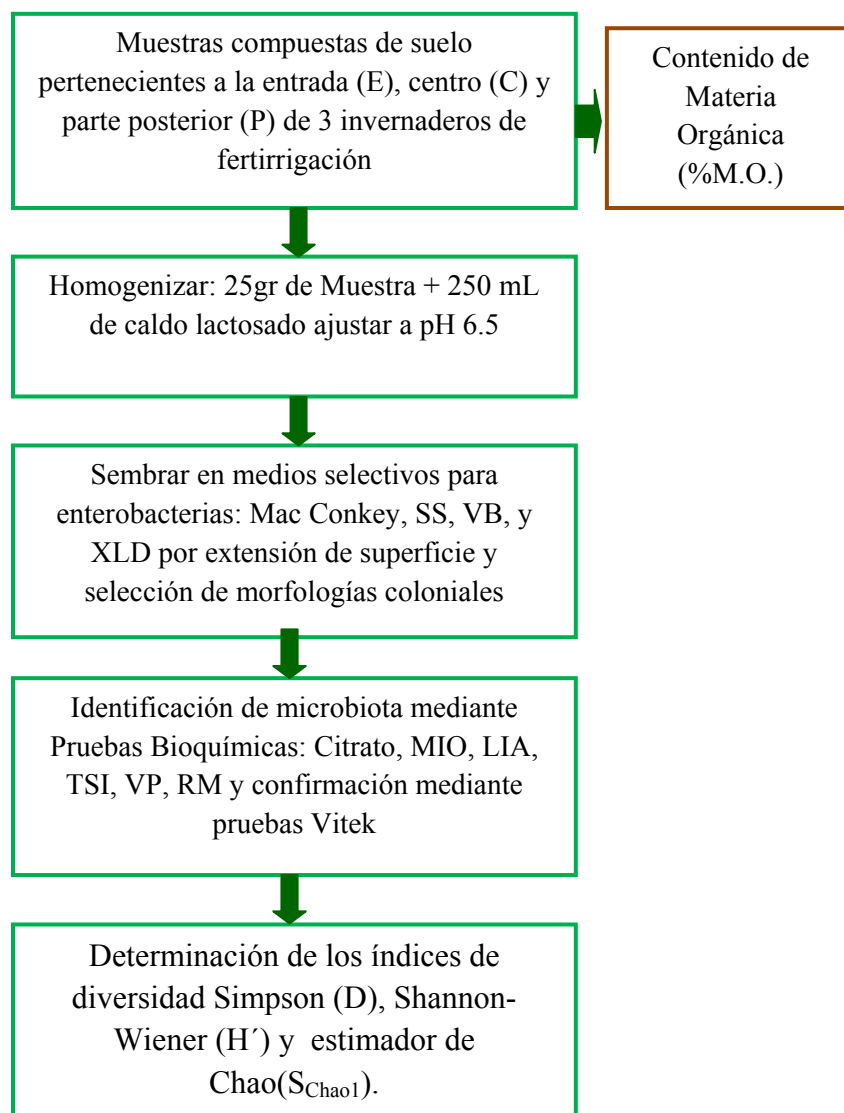


Figura 3.6. Análisis de la microbiota y contenido de materia orgánica de muestras compuestas de suelo pertenecientes a invernaderos de fertirrigación.

Etapa III. Relación de las condiciones ambientales con la composición química del jitomate e interacciones bacteria –frutos.

En esta fase se evaluó el efecto de las condiciones ambientales: radiación fotosintéticamente activa (RFA), temperatura (T) y humedad relativa (%HR) sobre la composición química del jitomate y específicamente la T y la HR se relacionaron con el comportamiento de la microbiota presente sobre la superficie del fruto (Figura 3.7).

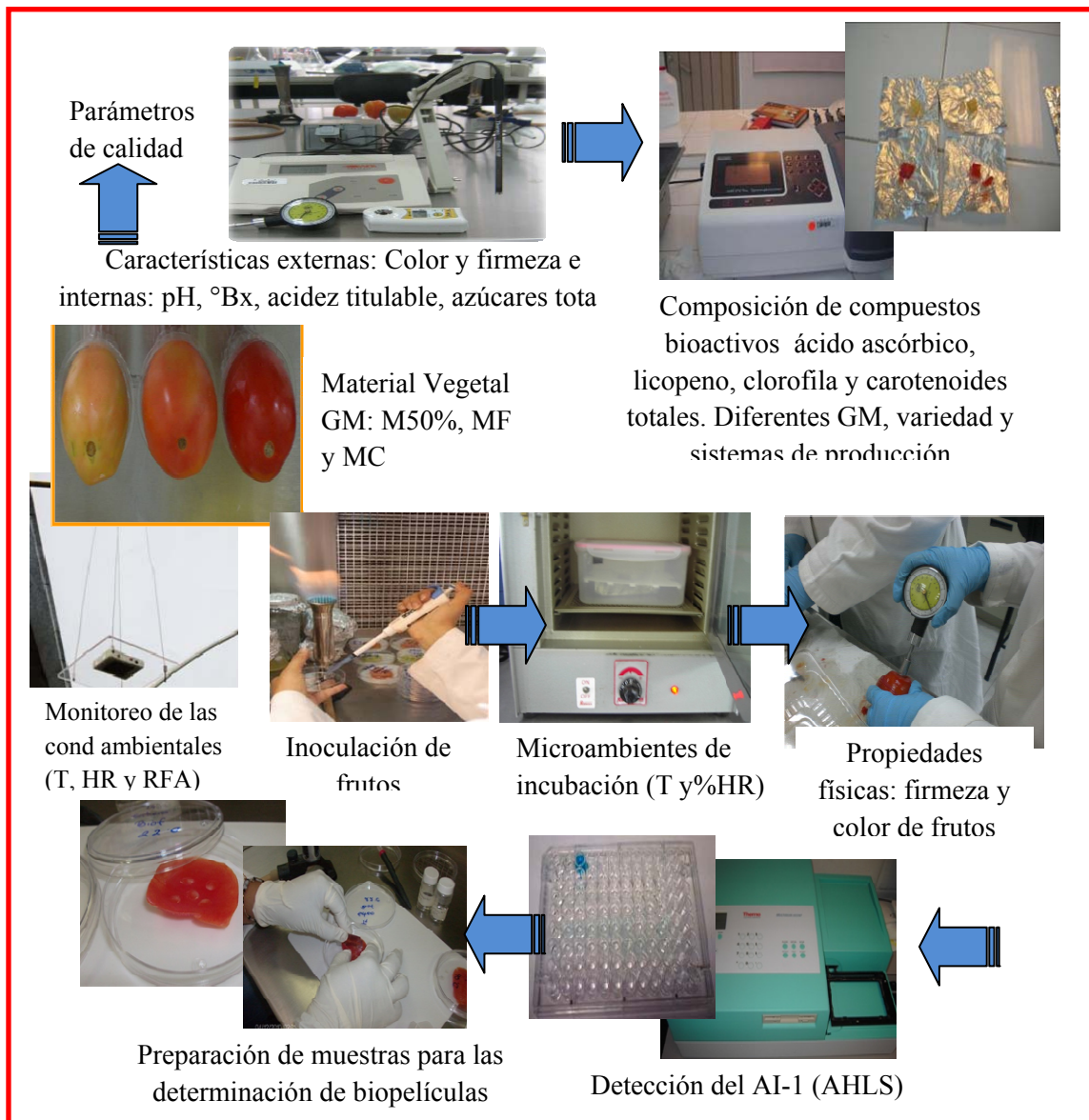


Figura 3.7. Procedimientos de la Etapa III en la que se relacionan las condiciones ambientales con los parámetros de calidad, composición química y microbiota presentes en frutos de jitomate. GM: Grado de Madurez, M50%: Madurez 50%, MF: Madurez Fisiológica, MC: Madurez de Consumo, T: Temperatura, HR: Humedad Relativa, RFA: Radiación Fotosintéticamente Activa, AI: Autoinductor.

3.1 Relación de las condiciones ambientales y las interacciones bacteria–fruto.

3.1.1 Material vegetal e inoculación. Los frutos utilizados en este apartado de la metodología correspondieron a la variedad “Reserva” tipo saladette considerando los grados de madurez M50%, MF y MC.

Los frutos fueron inoculados con las cepas patógenas *E.coli* enterohemorrágica (EHEC), *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC) y dos cepas nativas de jitomate: *Enterobacter cloacae* y *Citrobacter freundii*.

3.1.2 Recuento bacteriano. Se evaluaron los comportamientos microbianos individuales y en poblaciones mixtas de las bacterias inoculadas considerando como condiciones de incubación 60 y 85% de humedad relativa con temperaturas de 22 y 40°C, respectivamente. Para el recuento de los microorganismos los frutos fueron removidos de los contenedores después de 0, 1, 3, 5 y 7 días de almacenamiento.

3.1.3 Determinación de Propiedades Físicas de frutos inoculados. Paralelamente a las mediciones del crecimiento microbiano se determinaron las propiedades fisicoquímicas de los frutos inoculados como color, firmeza, pH y °Brix para establecer las relaciones en los cambios de apariencia bajo las diferentes condiciones ambientales de T y HR. Los procedimientos para determinar dichos parámetros se detallan en los Capítulos IV y VII.

3.1.4 Detección del Autoinductor I: Lactonas de Acil Homoserina (AHLS). Para evaluar la producción de las AHLS se utilizaron bioensayos cuyos procedimientos de extracción y detección de la inducción en la actividad de expresión de la β -galactosidasa, se detallan en el Capítulo VI y Figura 3.8.

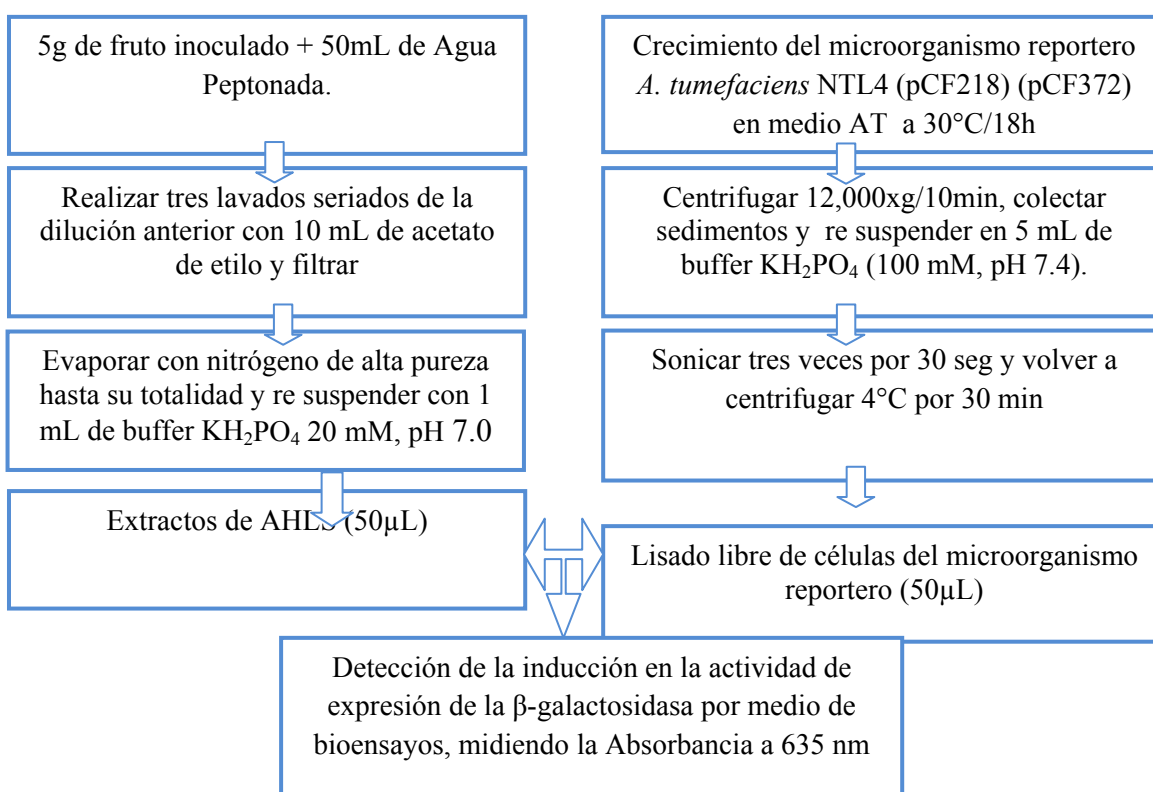


Figura 3.8. Procedimiento para la detección del autoinductor I: *Acil Homoserina Lactonas* (AHLS), mediante bioensayos en la detección de la inducción en la actividad de expresión de la β -galactosidasa.

3.1.5 Preparación de muestras para microscopía electrónica de barrido y exanimación de biopelículas. Las muestras de pericarpio fueron preparadas para su observación mediante microscopia electrónica de barrido considerando los tiempos 0, 3

y 7 días y dos condiciones de almacenamiento (22°C/60%HR y 40°C/85HR). En el capítulo VI y Figura 3.9 se especifica de manera más extensa el procedimiento utilizado en este apartado.

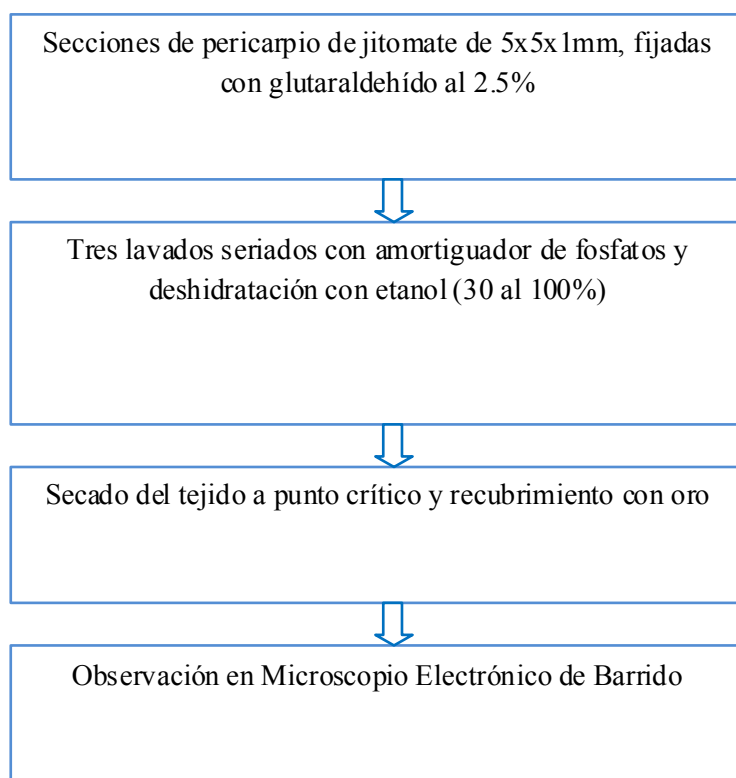


Figura 3.9. Procedimiento a seguir en la preparación de muestras para microscopía electrónica de barrido y exanimación de biopelículas.

3.2 Variabilidad de la composición química del fruto considerando diferentes grados de madurez, variedades, condiciones ambientales y tipos de invernaderos.

3.2.1 Material vegetal. Las variedades evaluadas fueron *Reserva*, *Charleston*, *7705* y *La Joya* en tres grados de madurez: madurez del 50% (M50%), fisiológica (MF) y de consumo (MC). Los criterios para seleccionar los grados de madurez fueron establecidos nuevamente de acuerdo con el marcaje de las plantas en etapa de floración y considerando la carta de color de la USDA (United States Department of Agriculture).

3.2.2 Monitoreo de condiciones ambientales. Se monitorearon y registraron como variables climáticas la temperatura (°C), radiación fotosintéticamente activa (RFA) y humedad relativa (%HR) recibidas en el interior de cada invernadero. Se relacionaron los valores medio, moda y máximo de cada condición ambiental con los resultados obtenidos en la composición química de los frutos.

Se seleccionaron los registros de las condiciones ambientales pertenecientes a los últimos 12 días pre-cosecha necesarios para alcanzar los diferentes grados de madurez del fruto.

3.2.3 Parámetros de calidad. Las determinaciones de estos parámetros incluyeron las características internas: pH, sólidos solubles totales-°Brix y acidez titulable (AT) y características externas como color y firmeza de los frutos.

3.2.4 Composición química de los frutos: Se analizaron los contenidos de los compuestos bioactivos: licopeno, ácido ascórbico, clorofila y carotenoides totales, considerando los tres grados de madurez (M50%, MF y MC) de los frutos.

Las metodologías propuestas para determinar los parámetros de calidad y los contenidos de los compuestos bioactivos se describen más detalladamente en los capítulos IV y VII.

Análisis estadístico.

Los resultados obtenidos en las Etapas II y III se analizaron con el paquete estadístico Statistical Analysis System (*SAS*), versión 6.12 (*SAS Institute*, 1988). Se utilizaron análisis de varianza (ANOVA) considerando un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ para evaluar los efectos de los tratamientos (condiciones ambientales, grado de madurez, sistema de producción y variedades) sobre los parámetros de calidad, composición de compuestos bioactivos e índices de inducción. Adicionalmente se realizaron análisis de comparación de medias de acuerdo con la prueba de Tukey, para determinar las diferencias significativas entre los valores medios de las variables respuesta y coeficientes de correlación de Pearson para relacionar los parámetros evaluados. Cabe mencionar que en cada capítulo que conforman las etapas de esta investigación se detallan los tratamientos, diseños experimentales utilizados y variables de respuesta analizadas.

IV. CAPITULO I

INCIDENCIA, FACTORES DE CRECIMIENTO Y SOBREVIVENCIA DE LA MICROFLORA PRESENTE EN VEGETALES CRUDOS:

INCIDENCE, GROWTH AND SURVIVAL FACTORS OF THE FRESH PRODUCE MICROFLORA:

INTRODUCCIÓN

En años recientes el consumo de vegetales crudos se ha incrementado notablemente debido a sus múltiples propiedades nutricionales y funcionales (Liu, 2003). Sin embargo aunado a esta demanda de consumo se encuentran los riesgos sanitarios relacionados con su ingesta, los cuales se asocian a un gran número de padecimientos gastrointestinales (Beuchat, 2002). Los vegetales crudos pueden servir de vehículo para la transmisión de patógenos como bacterias (*Salmonella*, *E. coli*), virus (Tipo Norwalk y Hepatitis A) y parásitos (*Cryptosporidium*, *Cyclospora*) (Tauxe *et al.*, 1997). Entre los productos frescos involucrados se encuentran: jitomates o tomates, zarzamoras, manzanas, naranjas, lechuga, brócoli, por mencionar algunos (Chia-Min *et al.*, 1997).

La sobrevivencia y crecimiento de los microorganismos en productos frescos depende de la interacción de varios factores como: características de los microorganismos presentes, estado fisiológico de la planta y su resistencia a los procesos metabólicos microbianos, condiciones del ambiente que rodean al vegetal (humedad relativa, temperatura, composición de la atmósfera, entre otros), los efectos de las prácticas de cultivo y procesos post cosecha (Tauxe *et al.*, 1997).

Asimismo, la sobrevivencia y virulencia de la flora patógena y deteriorativa depende de la expresión de ciertos genes en respuesta a las condiciones del ambiente que las rodea (Archer, 1996) La expresión es modulada por un proceso de señalización conocido como *Quorum Sensing* (QS) el cual depende de la síntesis y reconocimiento de señales químicas conocida como autoinductores. (Smith *et al.*, 2004)

Entre los mecanismos de virulencia y sobrevivencia regulados por el QS se encuentran la esporulación, síntesis de péptidos antimicrobianos y formación de biopelículas (Balaban, 2001). Estas últimas pueden significar un mecanismo de sobrevivencia decisivo para varios microorganismos que habitan y se adhieren sobre la superficie de vegetales crudos. Lo anterior debido a que las células que conforman una biopelícula se protegen de la acción de detergentes y agentes antimicrobianos, impidiendo el desarrollo adecuado de los procesos de lavado y desinfección en alimentos (Norwood y Gilmour, 2000).

Las medidas encaminadas a prevenir la contaminación de los vegetales crudos deben ser consideradas desde las etapas de producción hasta las condiciones de higiene durante su preparación, es decir desde “el campo hasta la mesa” (Tauxe *et al.*, 1997).

También se requieren tomar en cuenta los mecanismos que son necesarios para la sobrevivencia y crecimiento de la microbiota presente.

En esta revisión se consideran los principales microorganismos que se han asociado con brotes de enfermedades por el consumo de productos frescos. Además se mencionan las condiciones de crecimiento y mecanismos de sobrevivencia de la microbiota presente en vegetales crudos.

INCIDENCIA Y BROTES DE ENFERMEDADES ASOCIADAS CON EL CONSUMO DE VEGETALES CRUDOS

De acuerdo con el Centro de Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos (CDC) los brotes de enfermedades asociados a los productos agrícolas, constituyen un porcentaje relativamente pequeño del total de los padecimientos transmitidas por los alimentos. No obstante, el número de casos ha ido aumentando y algunas de las causas se mencionan a continuación (Liu 2003; Harris *et al.*, 2003).

- a) En las últimas décadas se ha remarcado la importancia de incluir en la dieta vegetales crudos, debido a sus múltiples propiedades nutricionales y nutraceúticas.
- b) Asociada a la causa anterior, la tendencia de consumo de vegetales frescos o crudos o mínimamente procesados, involucra operaciones de pelado, picado o rebanado, mismas que pueden permitir la internalización de cierta flora patógena presente en la superficie, como consecuencia de la pérdida de integridad del producto.
- c) La alta tendencia de comercialización de los productos hortofrutícolas a nivel internacional, ha implicando diversas áreas de cultivo y un gran número de consumidores.
- d) Existen reportes que ciertas épocas del año como el verano, incrementan el consumo de vegetales crudos y se alcanzan temperaturas que favorecen el crecimiento de ciertos microorganismos patógenos.

Los padecimientos están también relacionados con la dosis infectiva, la cual varía entre la flora patógena. Algunas bacterias requieren multiplicarse para causar la enfermedad mientras que ciertos microorganismos con un número mínimo son suficientes para producir el padecimiento. Ejemplos de lo citado son los géneros *Shigella* y *Clostridium perfringens*, respectivamente, mientras que ciertos padecimientos pueden ser provocados por el consumo de enterotoxinas, las cuales son producidas principalmente por los géneros *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Clostridium*.

En el Cuadro 4.1 se mencionan algunos microorganismos asociados con brotes de enfermedades por el consumo de frutas, hortalizas crudas y productos no pasteurizados (Beuchat y Ryu, 1997; Burnett *et al.*, 2001).

Las consecuencias ocasionadas por la incidencia de enfermedades transmitidas por los alimentos, consideran desde las repercusiones económicas en los individuos

involucrados incluyendo gastos relacionados con la asistencia médica, ausentismo laboral y escolar. Mientras que los costos para la sociedad incluyen la pérdida de productividad de los trabajadores, gastos de investigación y control de brotes, pérdidas de ingresos debido al cierre de negocios, gastos legales por litigios relacionados con las enfermedades y gastos en servicios públicos de salud para quienes padecen algún padecimiento crónico.

Cuadro 4.1. Microorganismos asociados con brotes de enfermedades por el consumo de frutas, hortalizas crudas y productos no pasteurizados.

<i>Microorganismo</i>	<i>Tipo de Producto</i>
<i>Bacterias</i>	
<i>Clostridium botulinum</i>	Calabaza
<i>E. coli O157:H7</i>	Sidra y jugo de manzana, lechuga y germinado de alfalfa
<i>L. monocytogenes</i>	Perejil, lechuga, jitomate, calabaza
<i>Salmonella</i>	
<i>Miami</i>	Sandia
<i>Typhimurium</i>	Sidra de manzana
<i>Saint Paul</i>	Sandia
<i>Chester</i>	Melones
<i>Poona</i>	Melones
<i>Montevideo</i>	Jitomate
<i>Hartford/Gaminara</i>	Jugo de naranja
<i>Stanley</i>	Germinado de alfalfa
<i>Typhi</i>	Mamey
<i>Shigella</i>	Ensalada de frutas
<i>Vibrio cholerae</i>	Vegetales
<i>Virus</i>	
<i>Norkwalk</i>	Melón, lechuga y perejil
<i>Hepatitis A</i>	Lechuga, jitomate, fresas y frambuesas congeladas
<i>Parásitos</i>	
<i>Cyclospora</i>	Frambuesas, lechuga, albahaca
<i>Cryptosporidium</i>	Perejil y sidra de manzana
<i>Mohos</i>	
<i>Alternaria alternata</i>	Jitomate
<i>Botrytis cinérea</i>	

FACTORES DE CRECIMIENTO

Los productos frescos pueden encontrarse expuestos a contaminación por diversos microorganismos patógenos y deteriorativos antes, durante y después de su cosecha. Algunas de las fuentes de contaminación relacionadas con la etapa pre cosecha son: suelo, agua de riego, aire, tipo de abono utilizado y productores. Durante la post cosecha destacan maquinaria y equipo, recipientes, presencia de animales domésticos y silvestres, trabajadores, polvo y vehículos (Cuadro 4.2) (Beuchat, 1996; Janisiewicz *et al.*, 1999; Iturriaga *et al.*, 2007).

Cuadro 4.2. Posibles fuentes de contaminación durante las etapas pre y pos cosecha en la producción de vegetales crudos.

<u><i>Etapas del contaminación</i></u>	
<i>Precosecha</i>	<i>Postcosecha</i>
Suelo	Manipulación de trabajadores y consumidores
Agua de riego	Equipo para cosecha
Abono Orgánico	Contenedores
Polvo	Agua para lavado, enjuague y enfriamiento
Animales domésticos y silvestres	Hielo
Manejo del cultivo (por productores)	Manejo inapropiado por intermediarios
	Contaminación cruzada (Presencia de otros alimentos en el área de almacenamiento)
Otros usos para pesticidas, tratamientos foliares, hormonas de crecimiento, etc.	Polvo
	Animales domésticos y silvestres

Otro de los factores que influye también de manera determinante en la contaminación de vegetales crudos es su localización con respecto al suelo, aquellos productos que crecen al nivel del suelo como zanahorias, betabel, cilantro, presentan un mayor número de microorganismos, predominando bacterias Gram positivas como corinebacterias, bacilos y micrococos que constituyen cerca del 70% de las bacterias que pueden existir por gramo de suelo (Escartín, 2000). En la Figura 4.1 se relacionan los mecanismos y las fuentes de contaminación que pueden presentarse durante el cultivo de los vegetales crudos (Beuchat, 1996).

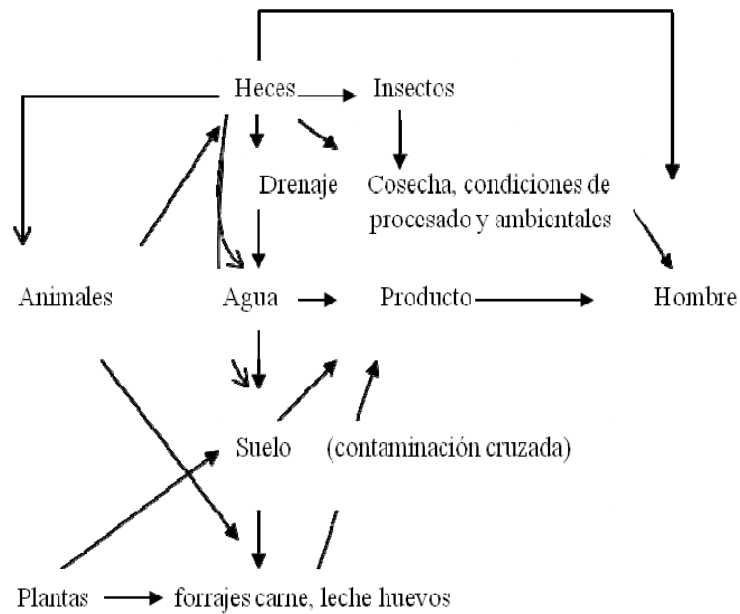


Figura 4.1. Mecanismos y fuentes de contaminación de vegetales crudos durante las etapas pre y post cosecha.

Existen tres tipos de factores que pueden afectar la microbiota presente en productos frescos: físicos, químicos y biológicos. Los factores físicos se refieren aquellas condiciones que afectan el crecimiento y las actividades metabólicas, como son el pH, temperatura, contenido de humedad, entre otros. Mientras que los factores químicos consideran la disponibilidad de nutrientes y trazas de elementos necesarios para el crecimiento microbiano y finalmente los factores biológicos incluyen la presencia de cierta microflora competitiva y de las interacciones bacteria-planta (Sela y Fallik, 2009).

a) Factores físicos

Las condiciones ambientales pueden llegar a ser hostiles para el crecimiento y sobrevivencia de los microorganismos, la falta de nutrientes, fluctuaciones en temperatura y humedad relativa, ciertas longitudes de onda de radiación ultravioleta; puede llegar a dañar las células bacterianas (Webb, 1976; Jagger, 1981; Sundin *et al.*, 1996; Sundin y Jacobs, 1999).

De acuerdo con Escartin (2000) los microorganismos nativos que habitan en vegetales crudos, presentan una mayor resistencia a las condiciones ambientales así como a los agentes químicos, en comparación con las bacterias intestinales patógenas. Lo anterior se debe a la capacidad de adaptación de los microorganismos nativos frente a las condiciones de estrés, en comparación con la conseguida por los microorganismos de la flora patógena. Existen reportes que consideran que la flora patógena es capaz de sobrevivir pero no de crecer sobre la superficie externa de vegetales y frutas, especialmente si son expuestos a humedades relativas altas (Noel *et al.*, 2010).

La temperatura influye de manera importante sobre la velocidad de crecimiento, fase de latencia, actividad metabólica y requerimientos nutricionales de la microbiota presente en los alimentos (Gould, 1989).

Las temperaturas de conservación (refrigeración y congelación) favorecen la inhibición del crecimiento de microorganismos mesófilos y termófilos y se reduce la velocidad de crecimiento de los microorganismos psicrótrofos (Alzamora, 1997).

Mientras que el efecto del pH puede afectar directamente la conformación de las proteínas y el metabolismo de los microorganismos. En general el pH de los frutos frescos es ácido el cual favorece el crecimiento de hongos y levaduras y limita el desarrollo de la mayoría de las bacterias (Alzamora, 1997; Kalia y Gupta, 2006). Lo anterior concuerda con lo encontrado por Abadias *et al.* (2008) quienes analizaron varios tipos de frutas (manzana, pera, naranja, mango y piña) mismas que presentaron principalmente poblaciones de mohos y levaduras, quienes se considera inhibieron el crecimiento de enterobacterias. Las frutas fueron almacenadas en temperaturas de refrigeración (5 y 10°C) que en combinación con el pH ácido, se generaron condiciones inhibitorias para las bacterias.

b) Factores Químicos

La presencia de poblaciones mixtas y el índice de crecimiento de cada microorganismo dependen también de la composición del alimento o sustrato, particularmente los frutos frescos pueden contener nutrientes requeridos para la realización de procesos metabólicos (Kalia y Gupta, 2006; Sela y Fallik, 2009). Entre ellos se encuentran los azúcares como glucosa, fructuosa y carbohidratos complejos como el almidón y celulosa. Compuestos como pectinas, celulosa, hemicelulosa y proteínas pueden servir de sustrato para enzimas de tipo degradativo que son sintetizadas por determinados microorganismos capaces de crecer sobre la superficie de frutos frescos. La acción de estas enzimas degradativas puede propiciar cambios en la integridad de los frutos, dejando disponibles nutrientes que pueden ser utilizados durante la colonización de otras bacterias (Mittelman, 1998). Entre las especies pectinolíticas se encuentran principalmente bacterias mesofílicas, algunos mohos y levaduras, ejemplos son las especies de *Pseudomonas*, *Flavobacterium* y *Cytophaga*.

A parte de los frutos, el suelo de cultivo también puede significar un buen sustrato donde están contenidos la mayoría de los nutrimentos para la planta y posee ciertas propiedades fisicoquímicas que son determinantes para el crecimiento de bacterias, actinomicetos, algas y protozoarios. Entre los grupos taxonómicos de mayor interés se encuentran los géneros: *Acinetobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* y *Xanthomonas* (Osorio, 2007).

c) Factores biológicos

La microbiota presente en los vegetales crudos es muy diversa incluyendo protozoarios, virus y bacterias quienes conforman la flora patógena o epífita presente.

Flora Patógena

La importancia de los enteropatógenos en vegetales crudos radica que existen varios reportes acerca de su capacidad para internalizarse y crecer dentro de la planta, de esta manera protegerse de los tratamientos de lavado y desinfección post cosecha. A continuación se mencionan algunos géneros y se relacionan con su presencia en algunos productos:

Salmonella

El género *Salmonella* está compuesto por más de 2,700 serotipos, siendo los animales y aves los principales reservorios. También se ha aislado en productos frescos como alcachofas, apio, col, coliflor, lechuga y espinaca causando varias infecciones en el hombre. Otros vegetales asociados con brotes de salmonelosis son melón, germinados y jitomate incluyendo los serotipos como *S. Javiana*, *S. Montevideo* y *S. Baildon* (Beuchat, 1996; García *et al.*, 1987).

Yersinia

Tiene como principales reservorios los animales y particularmente especies porcinas aunque también ha sido aislada de varios vegetales crudos como zanahoria, lechuga y en menor medida jitomate y pepino. *Y. enterocolítica* puede sobrevivir en temperaturas de refrigeración aislada durante el transporte y almacenamiento de vegetales crudos.

Escherichia

E. coli enterotoxigénica (ETEC) es causa común de diarrea del viajero por el consumo de vegetales crudos como lechuga romana, zanahoria rayada y en general ensaladas en las cuales se involucran varios vegetales como cebolla, pimientos, jitomate, champiñones entre otros (Beuchat, 1996). Mientras que *E. coli* (EHEC) es capaz de crecer en varios tipos de frutas y vegetales almacenados a 12°C, además de resistir pH ácidos. La habilidad ácido tolerante de EHEC le permite sobrevivir y formar biopelículas en diversos ambientes (Beuchat, 2002). Este patogruppo se ha relacionado con la contaminación de diversos productos como calabaza, cilantro y apio (Solomon *et al.*, 2002). La dosis infectiva de EHEC es muy baja y es capaz de producir gastroenteritis y síndrome urémico hemolítico afectando adolescentes y niños (Torres, 2009).

Shigella

El género está compuesto por cuatro especies *S. dysenteriae*, *S. boydii*, *S. sonnei* y *S. flexneri*, siendo todas patógenas para el ser humano en dosis infectivas bajas. La shigelosis es transmitida de persona a persona pero también ocurre por el consumo de alimentos contaminados incluyendo los vegetales crudos. Algunos de estos productos son lechuga, cebolla y col. Así mismo es posible aislar a este microorganismo en perejil picado y almacenado a 24°C y sobrevive en cubos de papaya, jícama y sandía, incubados de 22 a 27°C con pH de 5.6, 5.97 y 6.81, respectivamente (Harris *et al.*, 2003).

Aeromonas

Las especies de *Aeromonas* han sido reconocidas como patógenos en agua y en varios vegetales como perejil, espinaca, germinado, brócoli y lechuga; este patógeno también se puede aislar fácilmente en productos refrigerados. Específicamente *A. hydrophila* presenta resistencia en alimentos con atmósferas controladas y modificadas (Martínez *et al.*, 2000).

Listeria

L. monocytogenes se la relaciona con productos frescos y parte de vegetales que se utilizan en la elaboración de salsas y ensaladas incluyendo col, lechuga, cebolla, apio y pepino. Los altos índices de contaminación se atribuyen a la contaminación cruzada que se genera durante la compra, mezcla y empaquetado de los productos. Adicionalmente *L. monocytogenes* puede crecer también en vegetales crudos almacenados a temperatura de refrigeración como espárragos, brócoli, coliflor, lechuga y chicoria almacenados entre 4° y 6.5°C. Sin embargo en jitomate fue recuperado a 21°C y se inhibió su crecimiento a 10°C (Beuchat y Brackett, 1991).

Staphylococcus

Se ha detectado en productos frescos y en ensaladas de vegetales, donde la principal fuente de contaminación son los manipuladores. Se considera que *S. aureus* enterotoxigénico no es capaz de competir con los microorganismos nativos de los productos frescos, es decir frecuentemente la recuperación de este microorganismo es precedido por el deterioro causado por la microbiota autóctona. Sin embargo existe el reporte de un brote por *S. aureus* aislado de champiñones en conserva llevándose a cabo la contaminación previamente al envasado, permitiendo el crecimiento y la producción de la toxina debido a la inhibición de la flora nativa en condiciones de anaerobiosis.

Campylobacter

C. jejuni y *C. coli* son causa de enteritis bacteriana relacionada con vegetales crudos, la contaminación de los productos puede deberse a condiciones inadecuadas de almacenamiento o bien por contaminación cruzada por contacto con pollo crudo durante la etapa de preparación. *C. jejuni* es capaz de sobrevivir en papaya y sandía picada durante tiempo suficiente para significar un riesgo para la salud del consumidor (Castillo y Escartin, 1994).

Patógenos esporulados

Es común la presencia de esporas de *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* y *Clostridium perfringens* en vegetales ya que estos microorganismos que tienen como habitat principal el suelo. Aunque el botulismo ha sido relacionado también con el consumo de vegetales cocidos, aislándose de preparados de col mezclados con aderezo de pH 3.5 y almacenados en atmósferas reducidas en oxígeno por 4 y 6 días a 23 o 25°C.

También se ha determinado la toxina botulínica en champiñones que fueron empacados con clorhidrato de polivinilo y almacenados a 20°C durante 3 o 4 días (Harris *et al.*, 2003).

Virus

La mayoría de los brotes implicados con la transmisión de enfermedades virales producidas por el consumo de productos frescos implica a los virus Hepatitis A y Norwalk. La mayoría de las gastroenteritis virales tienen como fuente de contaminación un manejo inadecuado durante la preparación de los alimentos ya que pueden vivir en superficies o diseminarse por medio del contacto con una persona infectada. Los brotes virales producidos por estos microorganismos han implicado alimentos como ensaladas, jitomate y zarzamora (Tauxe *et al.*, 1997).

Protozoarios

Se han detectado brotes parasitarios en los que relacionan el consumo de vegetales en cafeterías, comedores, hogares y establecimientos comerciales. La infección por *Giardia lamblia* se puede adquirir a través de la transmisión de persona-persona o a través de la ingesta de alimentos o agua contaminados con materia fecal (Beuchat, 1995).

Flora normal o endófitas

Los endófitos son microorganismos residentes en espacios intercelulares y dentro de tejidos vasculares sin causar síntomas de enfermedad en la planta (Hurek *et al.*, 1994; Bell *et al.*, 1995). Pueden internalizarse a través de estomas, heridas y raíces laterales, además algunos de ellos son capaces de producir enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular. Estudios moleculares recientes sobre la diversidad de bacterias endófitas han revelado una alta riqueza de filotipos que promueven el crecimiento de plantas y suprimen el desarrollo de fitopatógenos. Según Kalia y Gupta (2006) dentro de los endófitos se consideran algunos mohos como *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium* y algunas levaduras tales como *Saccharomyces*, *Zygosaccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Pichia* y *Debaryomyces*.

MECANISMOS DE SOBREVIVENCIA

Las condiciones de manejo así como las ambientales prevalecientes en los sistemas de producción de frutas y hortalizas, determinan la sobrevivencia de ciertas poblaciones microbianas (Kalia y Gupta, 2006). Esta capacidad de sobrevivencia depende de diferentes mecanismos que le permitan colonizar, internalizar o bien adherirse a la superficie. El Quorum Sensing es un proceso de comunicación celular que permite la interacción entre los grupos bacterianos que pueden colonizar los vegetales crudos (Fuqua *et al.*, 1996; Waters *et al.*, 2005).

a) Mecanismo “*Quórum Sensing*” (QS)

Con el QS se propician conversaciones entre poblaciones de la microbiota nativa y patógena, por medio del reconocimiento de señales químicas conocidas como Autoinductores (AI) (Bauer *et al.*, 2004).

Los AI son producidos en respuesta de la densidad celular, es decir el AI se acumula hasta alcanzar una concentración determinada y se incorpora nuevamente al interior de la célula donde interacciona con proteínas activadoras de la transcripción, las cuales a su vez inducen la expresión de ciertos genes. Esta expresión permite a los microorganismos coordinar su comportamiento frente a cambios continuos que se producen en el medio, reaccionando de manera rápida para adaptarse y favoreciendo su sobrevivencia. Entre los procesos que son modulados por la presencia de los autoinductores se encuentran: la simbiosis, transferencia conjugativa de plásmidos, regulación de virulencia, síntesis de péptidos antimicrobianos, esporulación y formación de biopelículas (Balaban y Koyfman, 2001).

CLASIFICACIÓN Y FUNCIONES DE LOS AUTOINDUCTORES

Las moléculas de señalización o AI pueden ser clasificadas de acuerdo con su estructura en cuatro categorías: a) Las derivadas de los ácidos grasos conocidas como acil homoserinlactonas (AHLS) producidas por bacterias Gram negativas principalmente y se encuentran involucradas en la comunicación intraespecies y son conocidas como autoinductores I (AI-I), b) El furanosil borato diéster conocido como autoinductor-2 (AI-2), sintetizado por ambos tipos de bacterias Gram positivas y negativas, son utilizados para la comunicación intra e interespecies, c) un autoinductor AI-3 cuya estructura hasta la fecha se desconoce y d) Los péptidos y aminoácidos de cadena corta son AI producidos por bacteria Gram positivas (Figura 4.2) (Smith y Fratamico, 2005).

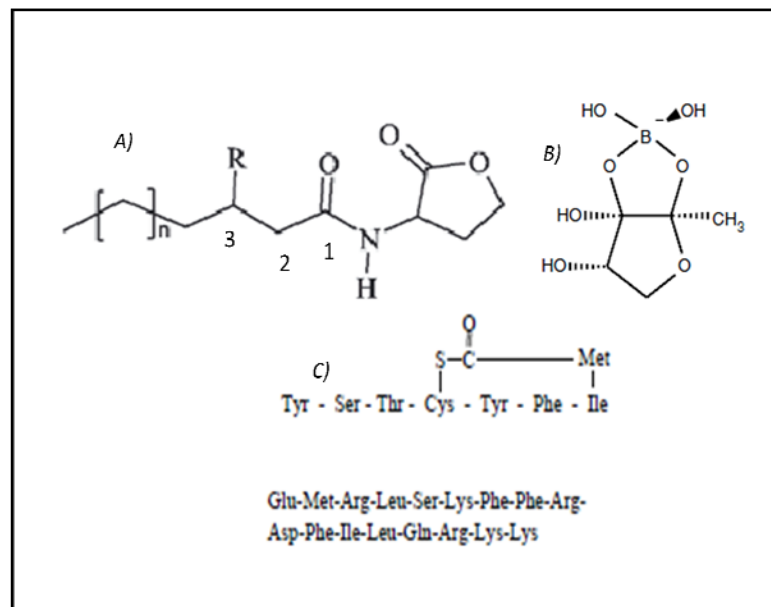


Figura 4.2. Estructuras químicas de autoinductores. A) Acetil Homoserina Lactonas (AHLS), B) Furanosilborato diéster y C) Péptidos de cadena corta. Donde R es el radical- OH, =O ó - H.

Específicamente existen diferentes tipos de AHLs dependiendo de la cadena lateral del grupo acilo, generalmente pueden contener de 4 a 12C, aunque se han identificado AHLs con 18C, el sustituyente en C3 puede ser un grupo carbonilo, hidroxilo y enlaces insaturados (Figura 4.3). Las AHLs con cadena corta son capaces de difundirse más fácilmente a través de la membrana bacteriana en cambio las de cadena larga requieren ser transportadas activamente hacia el interior y exterior de la célula (Smith y Fratamico, 2005).

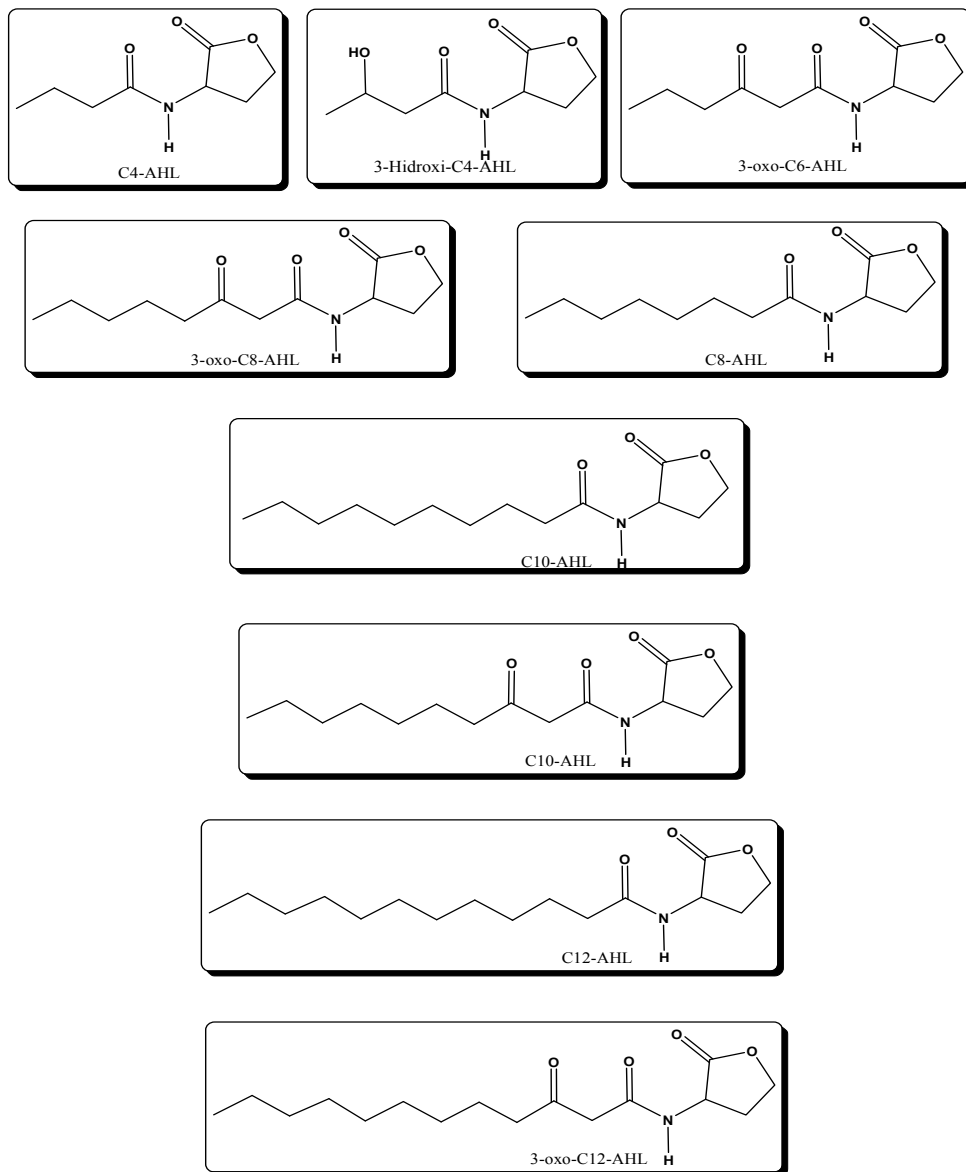


Figura 4.3. Estructura química de las AHLs con diferente longitud de la cadena acilo lateral y sustituyente del carbono C3: Grupo carbonilo o hidroxilo.

Las moléculas AHLs son sintetizadas por proteínas I mismas que son codificadas por el gen homólogo *luxI*. Las proteínas sintetisas LuxI catalizan la unión de adenosil

metionina (SAM) con una proteína transportadora de acilos (Acil-ACP), esta última participa como intermediario en la biosíntesis de los ácidos grasos. La unión del SAM al complejo LuxI- Acil-ACP se da por medio de un enlace amida conformado por la cadena acilo del Acil-ACP y el grupo amino del SAM. El intermediario (Acil-ACP-SAM) junto con la 5 metiltioadenosina sufren reacciones de lactonización resultando en la formación del autoinductor AHL (Figura 4.4) (Miller y Bassler, 2001; Dong *et al.*, 2001).

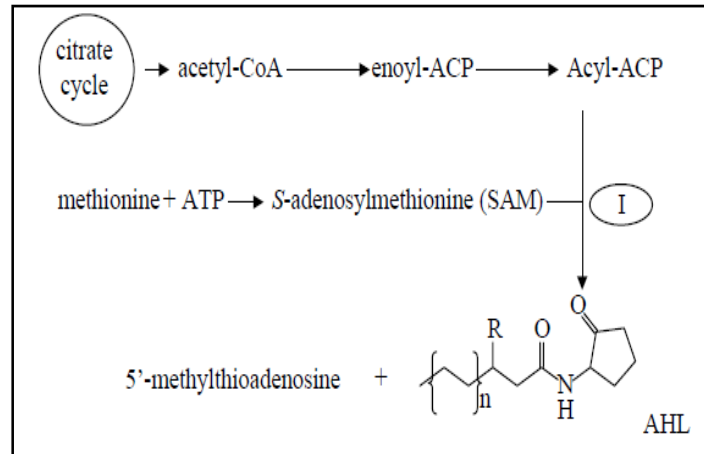


Figura 4.4. Síntesis de Acetil Homoserina lactonas (AHLS) en la cual LuxI cataliza la biosíntesis teniendo como sustratos Acil-ACP (Proteínas transportadoras de acilo) y SAM (adenosilmetionina).

La molécula de furanosil borato diester inicia su biosíntesis con el precursor S-adenosilmetionina (SAM), participando como donador de un grupo metilo convirtiéndose S-ribosilhomocisteína (SRH). LuxS es la responsable de la conversión de SRH a homocisteína y DPD (4,5-dihidroxi 2,3 pentanodiona). DPD sufre rearrreglos y finalmente se incorpora el borato al proAI-2 para formar la molécula AI-2. (Figura 4.5)

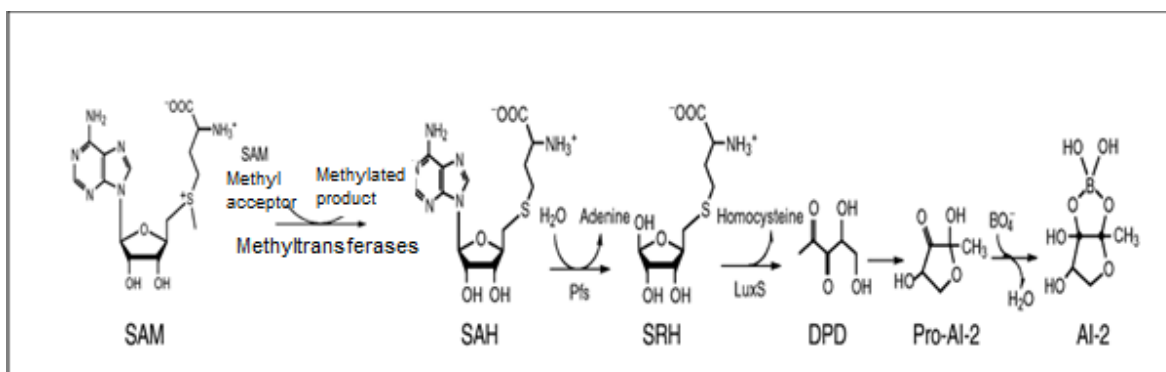


Figura 4.5. Síntesis de AI-2 a partir de SAM (S-adenosilmetionina) como precursor, donde SDR es S-ribosilhomocisteína, SAM: S-adenosilmetionina, SAH: adenosilhomocisteína y DPD: 4,5-dihidroxi 2,3 pentanodiona.

Las moléculas señal AI-I y AI-2 pueden verse afectadas por las condiciones ambientales presentes en el medio que directamente afectan la densidad celular (Cloak *et al.*, 2002). Existen reportes que los niveles y los tipos de AHLs o AI-I pueden cambiar en función de ciertas condiciones en el ambiente, donde específicamente la temperatura se considera una condición capaz de regular la disponibilidad de AHLs a nivel celular en presencia de diferentes especies de *Yersinia* (Kirwan *et al.*, 2006). Asimismo, Kawaguchi *et al.* (2008) demostraron la estabilidad de las AHLs o AI-I, variando los niveles de pH y temperatura, encontrando mayor actividad del AI en condiciones de 30°C y pH 5.0.

MECANISMOS GENERALES DEL QUORUM SENSING (QS) EN BACTERIAS GRAM NEGATIVAS

Existen más de 25 especies de bacterias Gram negativas que han sido descritas como poseedoras de un sistema de QS dependiente de mecanismos de regulación. Estos mecanismos dependen principalmente de la modulación de tres factores: a) Síntesis de moléculas señales o autoinductores, b) acumulación de moléculas señal y c) el reconocimiento de la señal (Smith *et al.*, 2004).

Entre los mecanismos de regulación más estudiados se encuentra el sistema modelo de la bacteria *Vibrio fischeri*, quien es bioluminiscente y vive de manera simbiótica en órganos especializados de peces y calamares (Miller y Bassler, 2001). La emisión de luz está controlada por las proteínas LuxR y LuxI, componentes similares y homólogos de QS descritos en otras bacterias Gram negativas (Czajkowski y Jafra, 2009).

En el mecanismo general del QS representado para las AHLs, las proteínas homólogas a LuxI sintetizan al AI durante la primera etapa. Cuando la densidad poblacional es baja la célula produce un nivel basal de AHLs. Cada una de las especies bacterianas produce únicamente un tipo o combinación de AHL, dando como resultado que solamente los miembros de la misma especie reconozcan y respondan a un determinado AI.

En la segunda etapa las AHLs se difunden a través de la membrana bacteriana y se enlazan a la proteína R, el complejo R-AHL es un dímero que se une a secuencias palindrómicas o promotoras del QS mismas que inducen la expresión de ciertos genes (Figura 4.6) (Federle *et al.*, 2003).

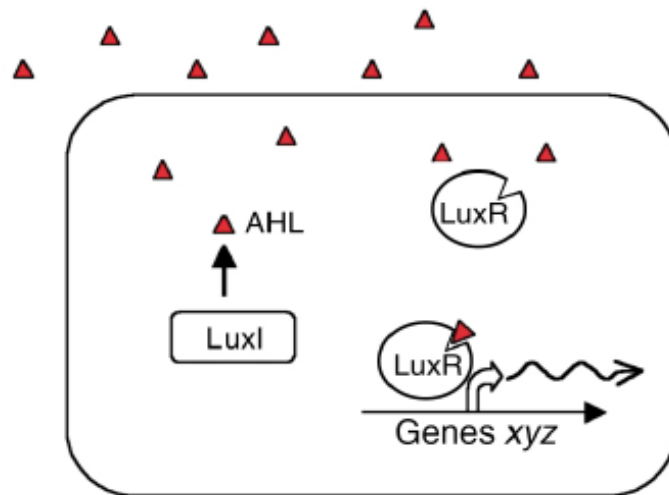


Figura 4.6. Mecanismo de Quorum Sensing AHL-LuxR dependiente, perteneciente a las bacterias Gram negativas.

El segundo mecanismo de Quorum Sensing en bacterias Gram negativas, considera a otra molécula autoinductora AI-2 (furanosil borato diester). Para estudiar este mecanismo se ha utilizado como sistema modelo a *V. harveyi* el cual produce luminiscencia y tiene la capacidad de producir AI-2 (Figura 4.7). Para la detección del AI-2 se requieren dos proteínas LuxP y Lux Q. LuxP es una proteína periplásmica que se une inicialmente al AI-2, el complejo LuxP-AI-2 se traduce en una señal Lux Q, la cual es un sensor quinasa capaz de autofosforilarse en Lux O. LuxO fosforilado puede causar indirectamente la inducción del operon bioluminiscencia *luxCDABE* y codificar enzimas luciferasas (Winans, 2002).

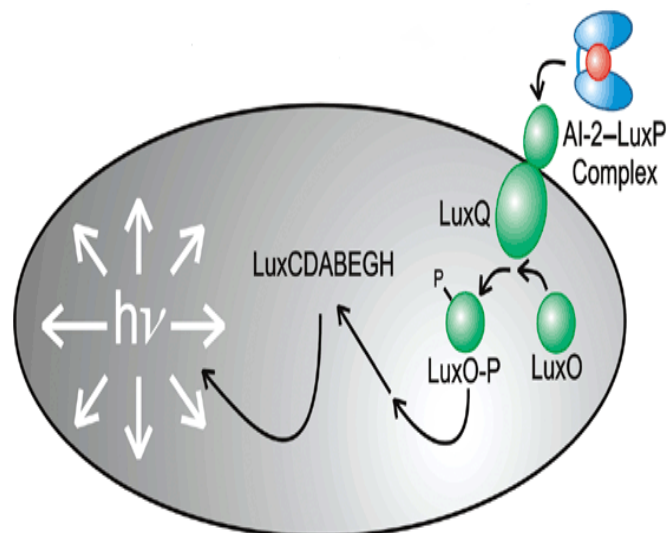


Figura 4.7. Mecanismo de inducción a la bioluminiscencia por medio de la detección del AI-2 en *Vibrio harveyi*.

Se ha observado que la presencia de AI-2 y su detección por *V. harveyi*, está directamente relacionada con los microorganismos que contengan en su genoma al gen *luxS*, como los géneros *Salmonella* y *Escherichia*. Según Gobbeti *et al.* (2007) estos microorganismos particularmente presentan un sistema “incompleto” de LuxI/LuxR con respecto a otras bacterias Gram negativas. Donde *SdiA* es el único receptor del tipo LuxR y no existe un homólogo a LuxI o cualquier otro tipo de AHL sintetasa. *SdiA* ha sido considerado un ejemplo de receptor capaz de detectar señales incluso de otras especies microbianas.

Es decir *E. coli* y *Salmonella* detectan las AHLS de otras especies usando a la proteína *SdiA* e incrementa la expresión de ciertos genes como *srgE* y *rcK* del operon *lsrACDBFGE*. A su vez reconocen el AI-2 sintetizado por LuxS y lo transportan al interior del sistema por LsrACD, el cual es miembro de una familia de componentes dependientes de ATP. LsrB es una proteína plasmática que se une directamente a AI-2 y LsrK es una quinasa que fosforila AI-2 en una posición desconocida, mientras que LsrR reprime a *lsr* cuando hay poca cantidad de AI-2 (Figura 4.8) (Ahmer, 2004).

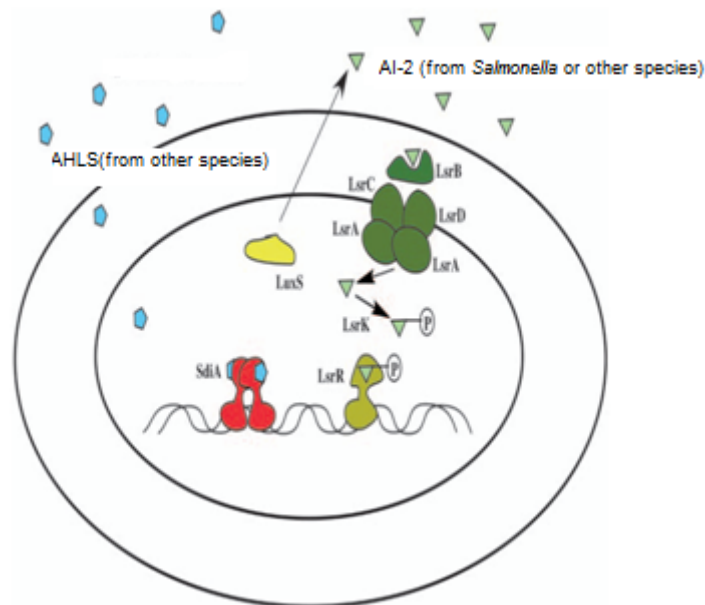


Figura 4.8. Sistema de *Salmonella* y *E. coli* considerando la detección de AHLs por SdiA y produciendo AI-2 por medio de LuxS.

COMUNICACIÓN TIPO“QUÓRUM SENSING” ENTRE PLANTA Y BACTERIA

Evidencias experimentales actuales sustentan que las moléculas autoinductoras participan en los procesos asociados con la infección de plantas (Baurer *et al.*, 2004).

Específicamente las AHLs son producidas por bacterias saprófitas que promueven el crecimiento de la planta y por bacterias patógenas que habitan conjuntamente la rizósfera. Al coexistir las bacterias productoras de AHLs con plantas se ha encontrado que estas últimas tienen la habilidad de interferir en el proceso de QS en bacterias. Uno de los estudios propuestos para evidenciar la manera de cómo responde el huésped (planta) frente a la producción de AHLs bacterianas, se encuentra realizado por Mathesius *et al.* (2003), quienes utilizaron como organismo eucarionte modelo a la planta *Medicago truncatula*. Mismo que se expuso a diferentes concentraciones de AHLs: 3-oxo-C16-HL y 3-oxo-C12-HL, producidas por las bacterias *Sinorhizobium meliloti* y *Pseudomonas aeruginosa*, respectivamente. Mediante análisis de proteómica se demostró que el huésped responde a las AHLs, mediante cambios en la producción de proteínas. La caracterización de estas proteínas reflejó que fueron específicas y dependientes de las estructuras de las AHLs. Así mismo la exposición con las AHLs indujo a modificaciones en la secreción de compuestos por parte de la planta tipo señales de QS, considerados como “mímicos” o imitadores del QS, los cuales interfieren en la comunicación planta-bacteria. Otro estudio que explica la relación entre las AHLs de las rizobacterias y las actividades para inducir la resistencia en plantas de tomate, fue propuesto por Schuhegger *et al.* (2006).

Las rizobacterias que se probaron fueron *Serratia liquefaciens* MG1 y *Pseudomonas putida* IsoF, ambas capaces de colonizar raíces y producir AHLs. Se observó un incremento en la resistencia de las plantas sobre el hongo *Alternaria alternata* que infecta la hojas, frente a una mayor producción de AHLs. Así mismo se detectó que las hojas colonizadas por ambas bacterias presentaron un incremento en los niveles de ácido salicílico (SA), lo cual se confirmó por medio microarreglos y análisis de Northern blot que revelaron que las moléculas de AHLs inducen los genes dependientes del etileno y del SA. Estos últimos son considerados como mecanismos propios de resistencia de la planta (Braeken *et al.*, 2008) Finalmente otro reporte de la interacción AHLs-Planta, fue realizado por Scott *et al.* (2006) quienes introdujeron los genes *yenI* proveniente de *Yersinia enterocolitica* capaz de sintetizar la 3-oxo-C6-HLS y C6-HLS, y *lasI* proveniente de *P. aeruginosa* quien produce 3-oxo-C12-HSL. Ambos genes fueron introducidos en plantas de tabaco de manera independiente y en combinación, las plantas transgénicas presentaron niveles significativos de AHLs de cadena larga y corta en hojas, estomas y tejidos de raíces. Lo anterior indica que las AHLs pueden difundirse “libremente” en los plástidos y membranas vegetales. También las AHLs fueron detectadas en exudados de raíces confirmando que estos compuestos pueden acumularse en la rizósfera, donde pueden tener un impacto sobre las comunidades bacterianas vecinas tanto saprófitas como patógenas. Lo cual se comprobó que las AHLs producidas por la planta pueden ser detectadas por otras bacterias presentes en el entorno.

INTERFERENCIA DEL MECANISMO “QUÓRUM SENSING” PLANTA-BACTERIA

Es posible proponer mecanismos que bloqueen el proceso de QS participe de la interacción planta-bacteria. Según Zhang y Dong, (2004) estos mecanismos de interferencia están orientados en prevenir la acumulación y reconocimiento de señales QS, impidiendo la expresión de genes bacterianos de virulencia.

Las sustancias y mecanismos involucrados en la interferencia de los sistemas AHLs-QS pueden ser los siguientes: a) enzimas AHL lactonasas y AHL-acilasas que degradan las señales AI, b) el tricoclosano que inhibe la generación de la señal, c) las furanonas halogenadas que degradan a las proteínas receptoras R, d) los Autoinductores Péptidos (AIP) que compiten con los receptores R y e) los inhibidores de las proteínas quinasas, que impiden la expresión de factores de virulencia. Estas sustancias tienen efectos antimicrobianos sobre un gran grupo de microorganismos que utilicen el sistema de señalización QS. En plantas y algas como *Pisum sativum* y *Delisea pulchra* existen reportes de ciertos mecanismos de interferencia en la relación planta y bacteria, los cuales consideran la producción de compuestos similares a las AHLs (furanonas halogenadas) quienes compiten por la proteína R, afectando el reconocimiento de las AHLs proveniente de bacterias patógenas (Teplitski *et al.*, 2000; Bauer *et al.*, 2004). Otro mecanismo importante que interfiere en la producción de AHLs es conocido como “*Quorum Quenching*”, el cual consiste en la inactivación de AHLs utilizando enzimas tipo lactonasas producidas por bacterias del suelo del género *Bacillus*, las cuales degradan a las AHLs para convertirlas en fuentes de C y N (Braeken *et al.*, 2008).

Otras bacterias capaces de producir acilasas son *Variovorax paradoxus* y *Ralstonia sp*, específicamente *P. aureginosa* es capaz de producir una acilasa capaz de degradar las AHLs de cadena larga. (Huang *et al.*, 2006). Complementando lo anterior Uroz *et al.* (2003) proponen plantas transgénicas capaces de expresar enzimas bacterianas degradativas de AHL, para mejorar la resistencia por infecciones en raíz.

La producción de moléculas autoinductoras se puede relacionar también con la formación de biopelículas microbianas sobre la superficie de vegetales. Esta relación facilita que los microorganismos puedan colonizar o adherirse a la superficie de los vegetales o bien mantenerse en comunicación con la flora nativa (Van Houdt, 2004).

FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS

La formación de biopelículas está relacionada con la habilidad que tienen ciertos microorganismos, para poder sobrevivir bajo determinadas condiciones de estrés ambiental como son: limitaciones de nutrientes, radiación solar y variaciones de temperatura (Chmielewski *et al.*, 2003). Se entiende por *biopelículas* aquellos agrupamientos bacterianos capaces de adherirse a diferentes superficies. De ahí que la producción de biopelículas inicie con la adhesión reversible de células bacterianas a la superficie, mediante fuerzas débiles como son las de Van der Waals. Posteriormente las colonias son adheridas de manera irreversible y se promueve a su vez la colonización de

otras bacterias mediante el reconocimiento de sitios celulares específicos. Durante esta colonización las células son capaces de comunicarse entre sí a través del proceso de *QS*. La matriz de la biopelícula continúa creciendo mediante la división y llegada de nuevas células. Las últimas etapas consisten en la maduración de la biopelícula y dispersión de las células (Figura 4.9) (Kolenbrander, 1989).

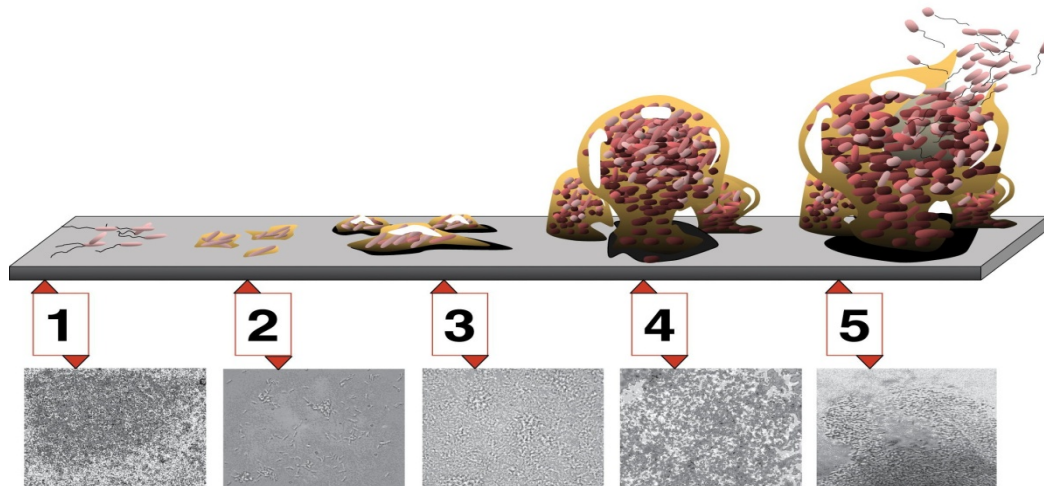


Figura 4.9. Etapas durante el desarrollo de un biopelícula: 1) Adherencia inicial, 2) Adherencia irreversible, 3) Maduración I, 4) Maduración II y 5) Dispersión. Las microscopías muestran las distintas etapas y se encuentran en la misma escala.

La formación de biopelículas se puede presentar en plantas formando agregados en superficie de hojas, raíces y espacios intercelulares de tejidos vegetales (Morris y Monier, 2003). Algunas bacterias se pueden alojar en sitios protectores como cámaras estomáticas y tricomas dañados.

La adaptación y colonización de las comunidades microbianas a los distintos tipos de superficies, depende de su capacidad de adherencia y generación de biopelículas (Costerton *et al.*, 1995). Se ha demostrado la habilidad de adhesión por *Escherichia coli* 0157:H7 a diferentes tejidos como jitomate, alfalfa, zanahorias y melón así como células humanas y superficies inertes como plásticos. Esta adhesión parece estar mediada por cierto grupo de genes que se encargan de la codificación de múltiples adhesinas (Teplitski *et al.*, 2000; Torres *et al.*, 2005).

Las biopelículas formadas protegen a los microorganismos de los procesos de lavado y desinfección de vegetales crudos, reduciendo su eficacia y favoreciendo la resistencia a la acción de agentes antimicrobianos.

Las variaciones en el pH, concentraciones de nutrientes, niveles de oxígeno, hidrofobicidad pueden ser determinantes para la formación de biopelículas sobre los alimentos (Else *et al.*, 2003). Por lo anterior las biopelículas pueden contribuirse en un riesgo para la contaminación de productos con microorganismos de tipo deteriorativo y patógeno. (Carpentier y Cerf, 1993; Donlan, 2002).

La primera etapa de desarrollo de la biopelícula depende de la naturaleza del sustrato, pudiendo estar involucradas moléculas orgánicas o inorgánicas provenientes de restos de alimentos (Deibel, 2003). Ciertas comunidades bacterianas como *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Bacillus* y *Staphylococcus*, durante la formación de biopelículas desdoblan determinados polisacáridos. Es decir la microbiota tiene un comportamiento metabólico diferente cuando se encuentra libre en comparación de cuando forma biopelículas (Macfarlane y Macfarlane, 2006).

Particularmente en plantas procesadoras de vegetales se han identificado biopelículas formadas por los géneros *Listeria* y *Pseudomonas*, los cuales han sido aislados del suelo de cultivo y materias primas. Específicamente *Pseudomonas* se ha asociado también con la formación de biopelículas sobre superficies inertes como desagües y pisos (Deibel, 2003).

BIBLIOGRAFÍA

- Abadias M., Usall J., Anguera M., Solsona C., Viñas I., 2008, International Journal of Food Microbiology.123:121–129.
- Ahmer B. M., 2004, Cell-to-cell signalling in *Escherichia coli* and *Salmonella enteric*, Molecular Microbiology.52: 933–945.
- Alzamora S. M., 1997, Preservación I: Alimentos conservados por factores combinados, *In*: Temas en tecnología de alimentos. Aguilera J. M. (ed), CYTED (Programa Iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo), Instituto Politécnico Nacional, D F, México.
- Archer D. L., 1996, Preservation microbiology and safety: evidence that stress enhances virulence and triggers adaptive mutation, Trends in Food Science and Technology.7:91-95.
- Balaban N., Koyfman N., 2001, Peptides: bacteria's point of view, Peptides.22:1517-1518.
- Baurer W., Mathesius U., 2004, Plant responses to bacterial quorum sensing signals, Current Opinion in Plant Biology.7:429-433.
- Bell C. R., Dickie G. A., Harvey W. L. G., Chan J.W.Y., 1995, Endophytic bacteria in grapevine, Canadian Journal of Microbiology. 41:46-53.
- Beuchat L. R., Brackett R. E., 1991, Behavior of *Listeria monocytogenes* inoculated into raw tomatoes and processed tomato products, Applied Environmental Microbiology. 57:1367-1371.
- Beuchat L. R., Doyle M. P., 1995, Survival and growth of *Listeria monocytogenes* in foods treated or supplemented with carrot juice, Food Microbiology. 12:73-80.
- Beuchat L. R., Ryu J. H., 1997, Produce handling and processing practices, Emerging Infectious Diseases. 3:459-465.
- Beuchat L. R., 1996, Pathogenic microorganisms associated with fresh produce, Journal of Food Protection. 5:204-216.

- Beuchat L. R., 2002, Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables, *Microbes and Infection*. 4: 413-423.
- Braeken K., Maxime R. D., Vanderleyden J., Michiels J., 2008, Quorum Sensing in Bacteria-Plant Interactions, *In: Molecular Mechanisms of Plant and Microbe Coexistence*, Springer-Verlag, Berlin Germany, pp:265-289.
- Burnett S. L., Beuchat L. R., 2001, Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in contamination, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 27:104-110.
- Carpentier B., Cerf O., 1993, A review Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry, *Journal of Applied Bacteriology*. 75: 499-511.
- Castillo A., Escartin E. F., 1994, Survival of *Campylobacter jejuni* on sliced watermelon and papaya, *Journal of Food Protection*. 57:166-168.
- Chia-Min., Lin., Cheng-I W., 1997, Transfer of *Salmonella montevideo* onto the Interior Surfaces of Tomatoes by Cutting, *Journal Food Protection*. 60: 858-863.
- Chmielewski R. A., Frank J. F., 2003, Biofilm Formation and Control in Food Processing Facilities, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3:22-32.
- Costerton J. W., 1995, Overview of microbial biofilm, *Journal of Industrial Microbiology*.15:137-140.
- Czajkowski R., Jafra S., 2009, Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules, *Acta Biochimica Polonica*. 56:1-16.
- Deibel V., 2003, Biofilms, *Internet Journal of Food Safety*. 1:6-7.
- Dong Y. H., Wang L. H., Xu J. L., Zhang H. B., Zhang X. F., Zhang L. H., 2001, Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an *N*-acyl homoserine lactones, *Nature*. 411: 813-817.
- Donlan R. M., 2002, Biofilms: microbial life on surfaces, *Emerging Infectious Diseases*. 8:881-890.
- Else T., Curtis R., Pante R., Amy S., 2003, Boundaries for Biofilm Formation: Humidity and Temperature, *Applied and Environmental Microbiology*.69:5006-5010.
- Escartín F. E., 2000, *Microbiología e Inocuidad de los Alimentos*, Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro México, pp:520-527.
- Federle M. J., Bassler B. L., 2003, Interspecies communication in bacteria, *The Journal of Clinical Investigation*. 112:1291-1299.
- Fuqua C., Winans S. C., 1996, Conserved *cis*-acting promoter elements are required for density-dependent transcription of *Agrobacterium tumefaciens* conjugal transfer genes, *The Journal of Bacteriology*. 178: 435-440.
- García V. R. B., Espinar A. C., Carmona M. J. B., 1987, A comparative study of strains of *Salmonella* isolated from irrigation water, vegetables and human infections, *Epidemiology and Infection*. 98:271-276.

- Gobbeti M., De Angelis M., Di Cagno R., Minervini F., Limitone A., 2007, Cell-cell communication in food related bacteria, *International Journal of Food Microbiology*. 120:34-45.
- Gould G. W., 1989, Heat induced injury and inactivation, *In: Mechanisms of action food preservation procedures*, Gould G. M (ed), Elsevier Applied Science, London U K, pp:11-14.
- Harris L.J., Farber J.N., Beuchat L. R., Parish M. E., Suslow T. V., Garrett E. H., Busta F. F., 2003, *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*. 2:78-141.
- Huang J. J., Petersen A., Zuang L. H., Leadbetrer J. R., 2006, Identification of QuiP, the product of gene PA1032, as the second acyl-homoserine lactone acylase of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, *Applied Environmental Microbiology*.72:1190-1197.
- Hurek T., Reinhold H. B., Van Montagu M., Kellenberger E., 1994, Root colonization and systemic spreading of *Azoarcus sp.* strain BH72 in grasse, *The Journal of Bacteriology*.176:1913-1923.
- Iturriaga M., Tamplin M., Escartin F., 2007, Colonization of Tomatoes by *Salmonella* Montevideo is affected by relative and storage temperature, *Journal of Food Protection*. 70: 30-34.
- Jagger J., 1981, Near-UV radiation effects on microorganisms, *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 34:761-768.
- Janisiewicz W. J., Conway W. S., Brown M. W., Sapers G. M., Fratamico P., Buchanan R. L., 1999, Fate of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut apple tissue and its potential for transmission by fruit flies, *Applied Environmental Microbiology*. 65:1-5.
- Kalia A., Gupta R. P., 2006, *Fruit Microbiology In: Handbook of fruits and fruits processing*, Hui Y. H., (ed), Blackwell Publising, Australia, pp:3-28.
- Kawaguchi T., Chen Y. P., Norman R. S., Decho A. W., 2008, Rapid Screening of Quorum-Sensing Signal *N*-Acyl Homoserine Lactones by an In Vitro Cell-Free Assay, *Applied and Environmental Microbiology*. 74: 3667-3671
- Kirwan J. P., Gould T. A., Schweizer H. P., Bearden S.W., Murphy R. C., Churchill M. E. A., 2006, Quorum-sensing signal synthesis by the *Yersinia pestis* acyl-homoserine lactone synthase YspI, *The Journal of Bacteriology*. 188:784–788.
- Kolenbrander P. E., Andersen R. N., 1989, Inhibition of coaggregation between *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* by lactose and related sugars, *Infection and Immunity*. 57: 3204-3209.
- Liu R. H., 2003, Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals, *The American Journal of Clinical Nutrition*.78:517-520.
- Macfarlane S., Macfarlane G. T., 2006, Composition and Metabolic Activities of Bacterial Biofilms colonizing food residues in human gut, *Applied and Environmental Microbiology*. 72:6204-6211.
- Martínez A., Diaz R. V., Tapia M. S., 2000, Microbial Ecology of Spoilage and Pathogenic Flora Associated to Fruits and Vegetables, *In: Minimally Processed*

- Fruits and Vegetables, Alzamora S. M., Tapia M. S., López-Malo A., (ed), Aspen Publication, USA, pp: 43-62.
- Mathesius U., Mulders S., Gao M., Teplitski M., Anolle G. C., Rolfe B. G., Bauer W. D., 2003, Extensive and specific responses of a eukaryote to bacterial quorum-sensing signals, *Journal of Plant Biology*. 3:1444-1449.
- Miller M. B., Bassler B. L., 2001, Quorum sensing in bacteria, *Annual Review of Microbiology*. 55:165-199.
- Mittelman M. W., 1998, Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations, *Journal of Dairy Science*. 81:2760-2764.
- Morris C. E., Monier J. M., 2003, The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria, *Annual Review Phytopathology*. 41:429-453.
- Noel J. T., Arrach N., Alagely A., Mc Clelland M., Teplitski M., 2010, Specific Responses of *Salmonella enterica* to Tomato Varieties and Fruit Ripeness Identified by In Vivo Expression Technology, *Plos One*. 5:1-11.
- Norwood D. E., Gilmour A., 2000, The growth and resistance to sodium hypochlorite of *Listeria monocytogenes* in a steady-state multispecies biofilm, *Applied Microbiology*. 88:512-520.
- Orozco L., Rico R. L., Escartin E. F., 2008, Microbiological profile of greenhouses in a farm producing hydroponic tomatoes, *Journal of Food Protection*. 71: 60-65.
- Osorio V. N. W., 2007, A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake, *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. 60:3621-3643.
- Schuhegger R., Gantner V., Bahnweg G., Knappe C., Vogg G., Hutzler P., Schmid M., Eberl L., Hartmann A., Langebartels C., 2006, Induction of systemic resistance in tomato by *N*-acyl-L-homoserine lactone-producing rhizosphere bacteria, *Plant, Cell and Environment*. 29:909-918.
- Scott R. A., Weil J., Le P. T., Williams P., Fray R. G., Bodman S. B., Savka M. A., 2006, Long- and Short-Chain Plant-Produced Bacterial *N*-Acyl-Homoserine Lactones Become Components of Phyllosphere, Rhizosphere, and Soil, *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 19:227-239.
- Sela S., Fallik E., 2009, Microbial Quality and Safety of Fresh Produce *In: Postharvest Handling*, Florkowski W., Prussia S., Shewfelt R., Brueckner B., (eds), Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston, London, pp: 351-398.
- Smith J. L., Fratamico P. M., 2005, Diarrhea-inducing *Escherichia coli*, *In: Food borne pathogens-microbiology and molecular biology*. Fratamico PM, Bhunia AK, Smith JL, (eds), Caister Academic Press, Norfolk, U.K. p 357-82.
- Smith J. L., Fratamico P. M., Novak J. S., 2004, Quorum sensing: A Primer for food Microbiologists, *Journal of Food Protection*. 67:1053-1070.
- Solomon E., B., Yaron S., Matthews K. R., 2002, Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization, *Applied and Environmental Microbiology*. 68:397-400.

- Sundin G. W., Jacobs J. L., 1999, Ultraviolet radiation (UVR) sensitivity analysis and UVR survival strategies of a bacterial community from the phyllosphere of field grown peanut (*Arachis hypogaeae* L.), *Microbiology Ecology*. 38:27-38.
- Sundin G. W., Kidambi S. P., Ullrich M., Bender C. L., 1996, Resistance to ultraviolet light in *Pseudomonas syringae*: sequence and functional analysis of the plasmid-encoded *ruAB* genes. *Gene*.177:77-81.
- Tauxe R., Kruse H., Hedberg C., Potter M., Madden J., Wachsmuth K., 1997, Microbial hazards and emerging issues associated with produce. A preliminary report to the national advisory committee on microbiological criteria for foods, *Journal of Food Protection*. 60:1400-1408.
- Teplitski M., Robinson J. B., Bauer W. D., 2000, Plants secrete substances that mimic bacterial N-acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviours in associated bacteria, *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 13:637-648.
- Torres A. G., Jeter C., Langley W., Matthyse A. G., 2005, Differential Binding of *Escherichia coli* O157:H7 to Alfalfa, Human Epithelial Cells, and Plastic is mediated by a Variety of Surface Structures, *Applied and Environmental Microbiology*.71:8808-88015.
- Torres T., A., 2009, Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*, *In: vaccines for biodefense and emerging and neglected diseases*, Barret T. A. D., Stanberry L. R., (ed), Elsevier, California, USA, pp:1013-1028.
- Uroz S., D'Angelo-Picard C., Carlier A., Elasmri M., Sicot C., Petit A., Oger P., Faure D., 2003, Dessaux Y: Novel bacteria degrading N-acylhomoserine lactones and their use as quenchers of quorum-sensing-regulated functions of plant-pathogenic bacteria, *The Journal of Microbiology*.149:1981-1989.
- Van Houdt R., Aertsen A., Jansen A., Quintana A. L., Michiels C.W., 2004, Biofilm formation and cell-to-cell signalling in Gram-negative bacteria isolated from a food processing environment, *Journal of Applied Microbiology*. 96: 177–184.
- Waters C. M., Bassler B. L., 2005, Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria, *Annual Review of Cell Developmental Biology*. 21:319–346.
- Webb R. B., 1976, Lethal and mutagenic effects of near-ultraviolet radiation, *In: Smith K. C., (ed), Photochemical and Photobiological Reviews*. New York, USA. pp:169-261.
- Winans C. S., 2002, Bacterial Esperanto, *Nature Structural and Molecular Biology*. 9:83-84.
- Zhang L., Dong Y., 2004, Quorum sensing and signal interference: diverse implications, *Molecular Microbiology*. 53:1563-1571.

V. CAPÍTULO II

IMPORTANCIA, BIOSÍNTESIS Y COMPOSICIÓN DE COMPUESTOS ANTIOXIDANTES EN JITOMATE (*Lycopersicum esculentum* Mill)

IMPORTANCE, BIOSYNTHESIS AND COMPOSITION OF ANTIOXIDANTS COMPOUNDS IN TOMATO (*Lycopersicum esculentum* Mill)

INTRODUCCIÓN

El jitomate o tomate (*Lycopersicum esculentum*) es uno de los principales cultivos por su potencial alimenticio a nivel mundial (FAOSTAT, 2006), así como también por su contenido de licopeno, vitaminas C y A y flavonoides (Willcox *et al.*, 2003). Actualmente estos compuestos son considerados como “antioxidantes” debido a que se encuentran asociados con la prevención de enfermedades de tipo carcinogénicas y cardiovasculares (Ramandeeep *et al.*, 2005; Juroszek *et al.*, 2009). Particularmente el licopeno y el β -caroteno pertenecen junto con la clorofila, al grupo de pigmentos responsables de la coloración del jitomate durante los diferentes estadios de madurez.

Durante el proceso de maduración las clorofilas se degradan y se sintetizan los carotenoides, los cuales le confieren al jitomate la coloración anaranjada tenue que culmina en un rojo intenso. Estos pigmentos influyen en la percepción de frescura que junto con la textura y el color son los atributos de calidad más importantes del jitomate (Liu *et al.*, 2009). Además la maduración del jitomate involucra una serie de cambios cualitativos y cuantitativos de la composición química del fruto en el que participan ácidos orgánicos, azúcares solubles, aminoácidos, pigmentos y alrededor de 400 compuestos volátiles que determinan el sabor y aroma del fruto (Petro-Turza, 1987). Estas variaciones en el contenido y composición química del jitomate están relacionados con la variedad, grado de madurez, prácticas de cultivo, condiciones de temperatura y luminosidad existentes durante la producción y comercialización del fruto (Binoy *et al.*, 2004; Abushita *et al.*, 2000). También es importante mencionar que estos compuestos pueden sufrir alteraciones de tipo químico, durante las operaciones unitarias correspondientes al procesamiento, así como en las diferentes etapas de almacenamiento. De ahí que en la industria alimentaria existe un amplio interés por los antioxidantes presentes y adicionados a los alimentos, donde específicamente el jitomate es ampliamente utilizado como materia prima en la producción de jugos, purés y salsas, entre otros productos (Hernández, 2007).

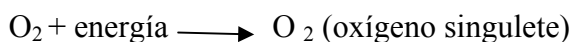
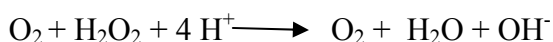
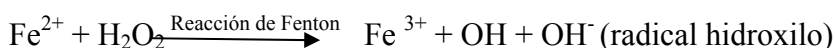
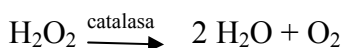
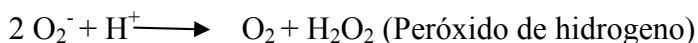
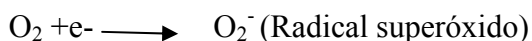
La presente revisión considera la importancia de conocer las propiedades funcionales, biosíntesis y condiciones que afectan el contenido de antioxidantes durante la producción y procesamiento del fruto del jitomate.

I.- Importancia de los antioxidantes en la prevención de enfermedades

Existen evidencias epidemiológicas las cuales sugieren que el consumo regular de vegetales y frutas trae consigo numerosos beneficios a la salud, con la posible reducción de riesgos por contraer enfermedades de tipo cancerígenas y además se han relacionado

con la estimulación del sistema inmune, mejora en el metabolismo del colesterol reduciendo la presión sanguínea, actividad antiviral y antimicrobiana, entre otros (Ortega *et al.*, 2004). Una variedad de compuestos tales como los polifenoles, vitamina C, Vitamina E, β - carotenos y otros carotenoides son reportados como antimutágenos, anticarcinógenos, y son referidos como vitaminas “antioxidantes”. Específicamente el β -caroteno, considerado como la provitamina A se conoce que inhibe el daño celular a nivel de ADN, causado por especies reactivas al oxígeno y radicales libres, los cuales pueden dar lugar a enfermedades de tipo degenerativas (Brecht *et al.*, 2004).

Baynes, (2007) considera que las especies reactivas al oxígeno (ERO's o ROS por sus siglas en inglés) son generadas naturalmente como resultado de las reacciones de la fosforilación oxidativa. Las ERO's más comunes son los aniones superóxidos (O_2^-), radical hidroxil (OH^\cdot), radical hipoclorito (OCl^\cdot) y el radical libre oxido nítrico (NO^\cdot). Las principales reacciones para la generación de ERO's son las siguientes:



Los antioxidantes son compuestos que presentan estructuras químicas y mecanismos de acción muy variados (Gordon, 2001). Estos pueden inhibir o retardar la oxidación captando radicales libres (como los compuestos fenólicos); o bien a través de su unión a metales pesados, captación de oxígeno, conversión de hidroperóxidos a especies no radicales, absorción de radiación UV o desactivación del oxígeno singulete, entre otros (Fennema, 2000).

Matkowski (2008) define a los antioxidantes como aquellos compuestos “*capaces de inhibir o retrasar la oxidación de sustratos, incluso en una concentración significativamente menor que el sustrato oxidado*”.

Se estima que una molécula de β -caroteno puede reaccionar captando hasta 1000 moléculas de oxígeno singulete. También se sabe que los carotenos son capaces de captar radicales peroxilo a través de la adición de este radical a sistemas conjugados, de tal forma que el radical se estabiliza por resonancia. Cuando la concentración de oxígeno es baja se adiciona un segundo radical peroxilo para producir un producto final no radical.

Otro antioxidante, la vitamina C está presente en frutas y verduras en forma de ácido L-ascórbico y ácido deshidroascórbico. El ascorbato es, probablemente, el antioxidante hidrosoluble más efectivo presente en el plasma, capaz de atrapar y reducir nitritos, inhibiendo por tanto la formación en el estómago de compuestos carcinogénicos N-nitrosos (Loannidi *et al.*, 2009). Los estudios *in vitro* sugieren que la vitamina C ejerce un papel protector contra el daño oxidativo de los constituyentes celulares y lipoproteínas circulantes. Las pruebas epidemiológicas son consistentes del efecto protector de la vitamina C contra el cáncer de estómago, faringe y esófago (Johnston, 2001). Además, se ha demostrado que el ácido ascórbico es un aceptor de radicales muy efectivo frente a superóxido, peróxido de hidrógeno, hipoclorito, radical hidroxilo, radical peroxilo y oxígeno singulete (Yanishlieva, 2001).

Adicionalmente a la importancia de consumo de jitomate en la dieta diaria, se le ha asociado con la reducción de algunas enfermedades; actualmente se consideran que estas propiedades benéficas a la salud se deben al contenido de ciertos compuestos conocidos como “bioactivos” o “fitoquímicos”. Los mecanismos de acción de estos compuestos, pueden ser complementarios con la modulación de enzimas destoxicantes, estimulación del sistema inmune, reducción de la agregación plaquetaria, modulación de la síntesis de colesterol, reducción de la presión sanguínea, efectos antioxidantes, antimicrobianos, entre otros (Fernández *et al.*, 2007). Entre las principales moléculas bioactivas presentes en el jitomate se encuentran los carotenoides, donde especialmente la ingesta de ciertas cantidades de licopeno está asociada con reducir el riesgo de cáncer de próstata, páncreas y estómago (Clinton, 1998; Gerster, 1997). De acuerdo con Shi (2000), 40 mg diarios de licopeno son suficientes para evitar esas enfermedades, debido a estas propiedades el licopeno es considerado un “antioxidante”. También se considera que el jitomate contiene otros antioxidantes “nutricionales” como las vitaminas A, C y E, además de antioxidantes “no nutricionales” como el β -caroteno, flavonoides, flavonas y compuestos fenólicos totales, entre otros (Havsteen, 1983; Takahama, 1985; Wang *et al.*, 1996; Matkowski, 2008).

Los carotenoides existen principalmente en forma del isómero E, donde ciertos factores como el calor, luz y el oxígeno tienen un efecto sobre la isomerización y autoxidación, al reducir la concentración de este isómero.

Se sabe que 80% del licopeno proviene del consumo de jitomate crudo o de productos derivados, tales como jugos y salsas para espagueti o pizza. Por ejemplo, el consumo de tres vasos de jugo diarios provee 40 mg de licopeno, concentración asociada con la reducción efectiva del colesterol LDL.

También se ha demostrado que el licopeno es capaz de reducir el estrés oxidativo y la inflamación intestinal en animales modelo, estos hallazgos sugieren que el licopeno o extractos de licopeno poseen propiedades anti-inflamatorias (Mahajan *et al.*, 2009; Carrillo *et al.*, 2010).

II.- Principales nutrientes presentes en el Jitomate

Los jitomates son ricos en vitaminas A y C, aparte del β -caroteno y licopeno (Mangels *et al.*, 1993), aunque otros carotenoides también están presentes, como α y β -criptoxantina, α -caroteno, γ caroteno, ζ caroteno, neurosporeno, fitoeno, fitoflueno, ciclicopeno y 5,6 epóxido β -caroteno (Carrillo *et al.*, 2010). El α caroteno, β -caroteno y la β criptoxantina tienen actividad pro-vitamina A y son convertidos a retinal en los mamíferos (Burns *et al.*, 2003). Los minerales y la vitamina C son nutrientes presentes en el jitomate que pueden variar con las condiciones de cultivo, por ejemplo frutos cultivados en hidroponía contienen más Ca y vitamina C que los cultivados en sistemas orgánicos, mientras que los contenidos de P y K son más estables a las condiciones de cultivo (Guil y Reboloso, 2009).

También el contenido de antioxidantes en el jitomate puede variar de acuerdo con la ubicación en el fruto. Al-Wandawi *et al.* (1985) reportaron que el pericarpio del jitomate contiene los niveles más altos de antioxidantes en comparación con la pulpa y las semillas.

Algunos ejemplos de estos antioxidantes en el pericarpio, son flavonoides, compuestos fenólicos y ácido ascórbico principalmente. Mientras que las semillas contienen aminoácidos esenciales y minerales (Fe, Mn, Zn y Cu), así como ácidos grasos monoinsaturados como el oleico (Steward *et al.*, 2000; Toor *et al.*, 2005). Entre los principales flavonoides se encuentran la chalcona, naringenina, rutin flavonol y quercetina glicósido (Bovy *et al.*, 2002). Lo anterior resulta importante debido a que durante el cocinado o procesado del fruto, con frecuencia se retiran tanto la piel como las semillas, lo cual resulta en una pérdida en los beneficios nutricionales adjudicados al consumo del jitomate. Mientras que Steward *et al.* (2000) consideran como principales flavonoides a la quercitina conjugada y al kaempferol, en concentraciones de 13.8 ± 0.6 mg y 0.48 ± 0.03 mg por 100 g de fruto fresco de jitomate.

Por otra parte en frutos de estadio maduro, los niveles máximos de carotenoides totales y licopeno se obtienen en los tejidos más externos como exocarpo y mesocarpo, disminuyendo considerablemente la concentración de estos pigmentos en los tejidos más internos como columela y mucílago (López-Casado *et al.*, 2003).

También los contenidos de vitaminas “antioxidantes” varían notablemente en el jitomate, así la vitamina “C” es la más abundante (22-48 mg/100 g fruto fresco), continúa el contenido de vitamina E, principalmente α -tocoferol en semillas, desde 0.1 mg a 3.2 mg/100g. Otras vitaminas como la tiamina 0.07g, riboflavina 0.04mg, niacina 0.9mg, vitamina B6 0.13mg, están presentes en 100g de porción comestible (Steward *et al.*, 2000).

III.- Factores que influyen en la composición nutrimental

En general se considera que las condiciones ambientales de cultivo de frutas y hortalizas determinan en gran medida el contenido de nutrientes, entre algunos de ellos se encuentran: la intensidad de luz, pH del suelo, frecuencia de riego, tipo y momento de fertilización, entre otros.

Así por ejemplo Ortega (2004), considera que la realización de un aporte temprano de nitrógeno en la producción de jitomate favorece la formación de carotenos, pero si su aporte es excesivo se puede inducir un abundante desarrollo foliar, mala conservación de las raíces, disminución en el contenido de carotenos y un aumento de nitratos. Abushita *et al.* (2000) y Dumas *et al.* (2003) realizaron investigaciones similares para identificar la variedad de jitomate que maximizará el contenido de licopeno, considerando la disponibilidad de radiación fotosintética, influencia de temperatura, prácticas de irrigación, así como condiciones de siembra y cosecha. También la composición química del fruto de jitomate puede verse influida por los sistemas utilizados durante su producción. Al respecto, Lippert (1993) considera que los sistemas hidropónicos comparados con los sistemas en suelo en invernaderos, pueden mantener contenidos más altos de ácido ascórbico. Weibel *et al.* (2000) y Heaton, (2001) señalan que los cultivos orgánicos contienen un mayor contenido de vitaminas, minerales y en general de antioxidantes en comparación con los sistemas de cultivo tradicionales.

a) Influencia del estado de madurez

La composición de antioxidantes presente en jitomate se encuentra determinada por el proceso de *maduración del fruto*, en este fenómeno bioquímico se condicionan cambios metabólicos, modificaciones de aspecto y atributos de calidad. En las alteraciones metabólicas se inducen cambios en los contenidos de las clorofilas y carotenoides. Donde generalmente el curso de ambos compuestos dentro y fuera de la planta consiste en que las clorofilas son degradadas y se desencadena el proceso de carotenogénesis, que consiste en incrementar el contenido de carotenoides, específicamente de licopeno, el cual se encuentra directamente relacionado con el grado de madurez del fruto (Solovchenko *et al.*, 2005).

Durante el inicio del proceso de madurez, los cloroplastos están completamente saturados de clorofila, localizada en las granas, específicamente en las laminillas formando un conglomerado esférico en forma de cristales unidos a lípidos, lipoproteínas, proteínas y a veces carotenoides (Barnley, 1995). La transición a los diferentes estados de madurez se denota por el cambio de coloración, dando como resultado el cambio de cloroplastos a cromoplastos.

Así mismo, la maduración es un proceso complejo y genéticamente programado que puede resultar en modificaciones considerables del fruto en color, textura, olor, sabor y aroma (Giovannoni, 2007). Se conoce que durante este proceso se encuentra establecido un orden de expresión de ciertos genes, los cuales están asociados con la síntesis de enzimas requeridas durante la maduración.

Parte de los cambios relacionados con maduración están determinados por la velocidad respiratoria de los frutos, la cual puede considerarse como un índice de los cambios de composición. A mayor velocidad respiratoria mayores cambios en la composición, el episodio respiratorio en el cual la maduración del fruto culmina fuera de la planta y conviene recolectarlos antes de su maduración se conoce como climaterio; un ejemplo de frutos climatéricos es el jitomate.

De ahí que en relación con el proceso de maduración se ha definido la siguiente clasificación para la recolección del fruto del jitomate:

- *Madurez de consumo*: momento en el que alcanzan las mejores características organolépticas y la fruta es más adecuada para su consumo.
- *Madurez comercial*: momento en que la fruta debe ser colectada y en general es un periodo anterior a la madurez gustativa o de consumo.
- *Madurez fisiológica*: cuando las semillas del fruto han evolucionado lo suficiente para que sean viables. (Ortega *et al.*, 2004)

De acuerdo con la relación del grado de madurez y el contenido de antioxidantes, se estima que en un jitomate maduro el contenido de licopeno oscila entre el 80-90% de los carotenos totales, siendo además el que presenta un mayor efecto protector en contra de los radicales libres (Hadley *et al.*, 2002; Voutilainen *et al.*, 2006), mientras que los jitomates cosechados en estadios de madurez verdes tienen bajos contenidos de licopeno. Los diferentes estadios de madurez (verdes, amarillos, rojo claro y rojo) afectan la composición de antioxidantes, así por ejemplo, la luteína se mantiene constante en las dos primeras etapas, mientras que el β -caroteno se incrementa en jitomates amarillos (Böhn, 2004).

Abushita *et al.* (1997) analizan la presencia de ácido ascórbico, β -caroteno y tocoferoles en jitomates y mencionan que los contenidos de ácido ascórbico son más altos en frutos verdes y se reducen conforme maduran los frutos. En contraste β -caroteno, α y β tocoferoles se incrementan con la madurez mientras que los γ - tocoferoles presentan los mayores contenidos en frutos amarillos, reduciéndose conforme se incrementa la madurez. Johnson *et al.* (2000) reportan las variaciones en diferentes tipos de xantófilas y carotenoides durante los estados de maduración del jitomate (Cuadro 5.1).

Cuadro 5.1. Variación de los carotenos durante los diferentes estadios de maduración del jitomate.

F	Carotenoides				Xantofilas			Total	
	FF	ζ C	L	γ C	Bc	Lut	Viola		Neo
<u>Madurez:</u>									
<u>Verde</u>									
0	0	0	0.1	0	2.1	4.7	1.7	1.5	10.1
<u>Madurez:</u>									
<u>Corte</u>									
1.9	0	0	3.7	0.4	5.6	1.5	0.4	1.1	15.9
<u>Madurez:24ddc</u>									
40.9	22.2	7.5	10.5	11.3	36.8	6.4	2.3	6.4	207

F: fitoeno, FF: Fitoflueno, ζ C: ζ caroteno, L: licopeno, γ C: γ carotenos, β C: β carotenos, Lut: Luteína, Viola: Violanxantina, Neo: Neoxantinas, ddc días después del corte, contenidos reportados en μ g/g de peso fresco en fruto (Johnson *et al.*, 2000).

b) Influencia de las condiciones ambientales

Los factores varietales y medio ambientales pueden incidir sobre la composición química del jitomate (Abushita *et al.*, 1997). Se han encontrado diferencias consistentes en las concentraciones de licopeno de jitomates de diversas variedades, que de acuerdo con las condiciones ambientales como temperatura e intensidad de luz influyen directamente sobre la desnaturalización o acumulación de licopeno. Específicamente los precursores del licopeno son inhibidos a temperaturas por debajo de 12 °C y por encima de 32 °C, el intervalo más favorable para la producción de licopeno se encuentra entre 22 y 25 °C. Adicionalmente a las condiciones de temperaturas, las humedades extremas influyen reduciendo los contenidos de licopeno. Nguyen *et al.* (1999) consideran la susceptibilidad del licopeno a la oxidación, exposición a la luz y pH extremos, sin embargo consideran que este compuesto presenta una mayor estabilidad en la matriz del jitomate que de forma aislada.

Los fertilizantes con diferentes proporciones de Nitrógeno (N) y Fósforo (P) también muestran un incremento en las concentraciones de licopeno (Bruulsema *et al.*, 2004). Particularmente Haukioja *et al.* (1998) señalan que cuando la disponibilidad de N es limitada, se puede afectar el balance de C/N en las plantas y se limitan también procesos metabólicos incluyendo metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos y terpenoides. También se considera que la biosíntesis de los carotenoides se encuentra altamente influenciada por la intensidad de luz solar. En sistemas con sombra puede verse afectado el contenido de licopeno en el cultivo de jitomate, donde los frutos también pueden encontrarse expuestos altas temperaturas y afectar la producción de licopeno, este fenómeno también puede ser observado en sistemas de cielo abierto a ciertas horas del día.

En un estudio sobre el efecto de la temperatura a 20, 30 y 35 °C con un periodo de 5 a 10 días de almacenamiento post cosecha se consideró la conversión de ácido mevalónico a carotenos, donde el contenido de licopeno se vio incrementado a 20 °C en contraste con 35 °C (Hamazu *et al.*, 1998). Mientras que las concentraciones de β -caroteno fueron más altas a 35 °C. La conversión de ácido mevalónico a β -caroteno tendió a incrementarse con el aumento de la T de almacenamiento. En contraste, las altas temperaturas estimularon la conversión de licopeno a β caroteno.

Juroszek *et al.* (2009) encontraron diferencias significativas en los contenidos de ácido ascórbico desde 20.83 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF(peso fresco) hasta valores de 31.13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF, de acuerdo con las variedades de cultivo y otros factores como son el pH, contenido de humedad, temperatura entre otros (Marfil *et al.*, 2008). Dumas *et al.* (2003) reportan que al haber una mayor exposición de luz sobre los frutos se favorece la acumulación del ácido ascórbico. Mientras que Merzlyak y Solovchenko, (2002) consideran que las clorofilas pueden influir sobre la degradación de algunos carotenoides durante su exposición a la luz, es decir los carotenoides pueden presentar una mayor estabilidad a la luz en ausencia de las clorofilas.

López *et al.* (1996) señalan que limitaciones de azufre en las plantas de jitomate pueden afectar el color y causar alteraciones en el proceso fotosintético, donde específicamente se relacionan bajos niveles de S con la inhibición de la biosíntesis de licopeno.

c) Influencia del procesado

La segunda función que tienen los compuestos antioxidantes es impartirles el color característico a frutas y vegetales, de ahí que la exploración de procesos por mantener a los carotenoides es muy importante para la calidad nutricional y sensorial de los productos. Toor *et al.* (2004) consideran al licopeno, flavonoides, compuestos fenólicos, vitaminas C y E como responsables de la actividad antioxidante de jitomates tanto crudos como procesados.

Se sabe que el contenido de carotenoides totales muestran una reducción en jitomates deshidratados, en polvo o puré (Heredia *et al.*, 2007). Dichos contenidos pueden estar presentes en el pericarpio de frutos o tallos y llegan a contener cierta cantidad de clorofilas, las cuales pueden influir sobre la isomerización y degradación de los carotenoides durante el almacenamiento. También se ha demostrado que durante el procesado de vegetales en ciertas operaciones como el cortado, condiciones de manejo, empaçado y almacenamiento se reducen las concentraciones de algunas vitaminas, minerales y fitoquímicos. La pérdida de nutrientes se ve acelerada seguida de la ruptura de tejidos, lo cual se asocia con la inducción de la biosíntesis de varios compuestos que pueden afectar el contenido de antioxidantes y la calidad del producto. Por ejemplo, la síntesis de etileno después de las operaciones de cortado, pueden estimular una serie de respuestas fisiológicas incluyendo la pérdida de vitamina C y clorofilas, así como la inducción del metabolismo de polifenoles (Brecht *et al.*, 2004).

Aunque también se sugiere que un gran contenido de licopeno y actividad antioxidante total, puede ser obtenido a partir de jugo de jitomate que ha sido procesado térmicamente, en comparación con lo observado en jugo fresco (Wang *et al.*, 1996).

En el Cuadro 4.2 se comparan los contenidos de ácido ascórbico de fruto fresco y etapas comunes durante el procesado de jitomate, donde las trituraciones con calentamiento (“hot-break”) y evaporación al vacío producen pérdidas del 38% y 16%, respectivamente. Las diferencias en la cantidad de ácido ascórbico “conservado” en las diferentes etapas permite considerar a este compuesto, como un índice de control de la degradación oxidativa, producida durante el almacenamiento y/o cocción del jitomate (Abushita *et al.*, 2000). Mientras que algunos reportes asumen que el contenido de compuestos fenólicos presentes en las partes externas de frutas y vegetales, particularmente acumulados en las vacuolas; se ve incrementado durante el procesado de los alimentos. Lo cual se debe a que se acelera el rompimiento celular, sin embargo se evita la desnaturalización de los compuestos fenólicos a través de la desactivación de enzimas de tipo oxidativo e hidrolítico, que podrían degradar los antioxidantes; lo que permite un incremento en el contenido total de los compuestos fenólicos en productos de vegetales (Rolle *et al.*, 1987).

Cuadro 5.2. Variación en el contenido de ácido ascórbico de acuerdo con el procesamiento de jitomate.

Etapas de procesamiento	Contenido de ácido ascórbico[†]
Fruto fresco	3.17
Trituraciones con Calentamiento	1.96
Pasta de jitomate	1.45

[†] mg/g de materia seca

En general los carotenoides (licopeno, caroteno, xantofilas) responsables de los colores rojo, naranja y amarillo del jitomate, así como los de acción vitamínica como (α y β caroteno y la criptoxantina) precursores de vitamina A, se consideran estructuras estables al calor durante el procesamiento y cocción, sin embargo al ser estructuras altamente insaturadas son especialmente susceptibles a la oxidación en presencia de grasas oxidadas (Ortega *et al.*, 2004). En el Cuadro 5.3 se presentan los diferentes contenidos de antioxidantes como licopeno, vitaminas C y E, polifenoles y folatos, en productos como salsa y pasta de jitomate; en comparación con los observados en fruto fresco (Riso *et al.*, 2004).

Cuadro 5.3. Contenido de compuestos antioxidantes en fruto fresco y productos de jitomate.

Antioxidante	Fruto Fresco	Producto	
		Salsa	Pasta
Licopeno	1.5 -5.6	6.5 - 19	51 - 59
Vitamina C	19 – 25	13	42
Vitamina E	0.4	1.4	4.2
Polifenoles	4 a 25	(**)	(**)
Folatos	15	9	22

Contenidos reportados de Licopeno, Vitamina C y E, Polifenoles en mg/100g, Folatos en μ g/100g. (**) Datos no reportados.

Dewanto *et al.* (2002) mencionan que los tratamientos térmicos pueden llegar a incrementar el contenido de fitoquímicos de la matriz del fruto de jitomate y que además la presencia de licopeno en fruto fresco es esencialmente configuración *trans*, durante el procesamiento el calentamiento induce la isomerización de *trans* a *cis*.

Es posible que los procesos rompan las paredes celulares y los enlaces entre licopeno y el tejido de la matriz, lo que vuelve más accesible este compuesto y enfatiza la isomerización *cis* (Chang, 2005). Estos isómeros *cis* tienden a incrementarse con la temperatura y el tiempo de procesado. En general en jitomates deshidratados o en polvo, el licopeno es menos estable que el procesado, sellado herméticamente y almacenado en atmósfera inerte. Mientras que productos que son congelados y calentados-esterilizados, exhiben una excelente estabilidad del licopeno aunque su temperatura de almacenamiento se encuentre fuera de los límites de control.

La biodisponibilidad de los isómeros *cis* en los alimentos es mayor que la de los isómeros *trans*, además de ser mayor en productos de jitomate que en frutos no procesados. La composición y estructura del alimento también impacta en la biodisponibilidad del licopeno posiblemente por la disposición desde la matriz en el tejido del fruto (Shi *et al.*, 2000).

La eficiencia de las vías metabólicas varía dependiendo del estado de desarrollo del organismo y de factores externos. Específicamente los carotenoides son sintetizados a partir de cuatro moléculas de isopentenil pirofosfato (**IPP**) y una de C5 preniltiofosfato que a su vez es sintetizada en los plástidos por la ruta de 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato, (**MEP**). Se ha demostrado que los patrones de expresión de transcritos y proteínas de la ruta MEP, se acumulan principalmente en tejidos fotosintéticos y durante el desarrollo temprano de la plántula. Es probable que estos patrones de expresión respondan a la alta demanda de pigmentos (clorofilas y carotenos) que se requieren para el establecimiento de los complejos fotosintéticos durante el desarrollo temprano en plantas. También se considera que la expresión de los genes de la vía MEP se modula por distintas señales externas e internas como son la luz y niveles de azúcares (León *et al.*, 2007).

Las moléculas de IPP desempeñan funciones muy variadas para el desarrollo y la diferenciación de plantas incluyéndose componentes estructurales de membranas y fotoprotectores.

En general, los diferentes isoprenoides derivan de la condensación de dos unidades comunes de cinco carbonos: el isopentenil difosfato (IPP) y su isómero dimetil-alil difosfato (DMAPP). Las moléculas de isoprenoides son convertidas a geranyl geranyl difosfato (**GGPP**) con C₂₀, las enzimas que participan son la isopentenil difosfato isomerasa (**IPI**) y la geranylgeranyl difosfato sintetasa (**GGPS**). Se realiza la condensación de dos moléculas de GGPP por medio de la fitoeno sintetasa (**PSY**) en plantas, mientras que para bacterias es fitoeno sintetasa bacteriana (**CrtB**), produciendo 15 *cis* fitoeno el cual es convertido a licopeno por la acción de dos enzimas desaturasas, la fitoeno desaturasa en plantas (**PDS**) y la zeta-caroteno desaturasa (**ZDS**). Con esta ruta se producen compuestos poli-*cis* que son convertidos en *trans* a través de la acción de las carotenoides isomerasas **CrtISO** y **ZISO**.

Posteriormente el licopeno es el sustrato de dos ciclasas la ϵ ciclasa y la β ciclasa (**LCY-e** y **LCY-b**), las cuales actúan juntas en la parte final de la molécula para permitir la

formación del α -caroteno, mientras que la β ciclasa(**LCY-b**) actúa sola también para la síntesis del β caroteno.

Mientras que la **Beta LCY-b** es responsable de la formación de anillos β en los cromoplastos de los jitomates. Posteriormente los α y β carotenos son hidroxilados por la no-hemocaroteno hidroxilasas (**CHY1 y CHY2**) y las citocromo P450 caroteno hidroxilasas (**CYP97A y CYP97C**), en las flores de jitomate la **CHY1** es la principal β hidroxilasa. (Galpaz, 2006)

La **CYP97C** se encarga de la hidroxilación de los anillos épsilon de la luteína. Las beta xantofilas pueden ser epoxi o desepoxidadas por medio de las enzimas zeaxantina epoxidasa (**ZEP**) y la violaxantina des-epoxidasa (**VDE**), manteniendo el ciclo de las xantofilas. Se sugiere que la síntesis de la neoxantina es controlada por una paraloga a la β ciclasa la **BETA ABA4** a partir de la violaxantina (Figura 5.1).

Durante el metabolismo de algunos carotenoides especializados como la capsorubina un cetocarotenoide, se sintetizan a partir de la violaxantina a través de la acción de las capsantina-capsorubina sintetasa (**CSS**). Se ha encontrado que en ciertos organismos marinos la astaxantina es sintetizada por las enzimas cetolasas, **CrtW, CrtO y AdKETO** (Giuliano, 2008). Finalmente se relaciona la producción de ácido abscísico (**ABA**) a partir de Viola y Neoxantina, específicamente en jitomate. Galpaz (2008) reporta que existe una relación inversa entre los niveles de ABA y el número de plástidos, en mutantes deficientes de ABA (*flacca, sitiens y hp3*) se presenta un incremento en los niveles de licopeno así como en los niveles de plástidos.

La ingeniería genética de los carotenoides en jitomate tiene como principales líneas de investigación: incrementar los niveles de licopeno, β - caroteno y xantofilas. Para mejorar los niveles de licopeno se ha trabajado en la sobreexpresión de los genes tempranos tales como CrtB y DXS, en el silenciamiento de ciertos genes que involucrados en la síntesis de LCY-b o BETA las cuales utilizan al licopeno como sustrato y finalmente sobre la expresión de ciertos genes codificantes de proteínas que se unen directamente a los carotenoides (Simkin, 2007).

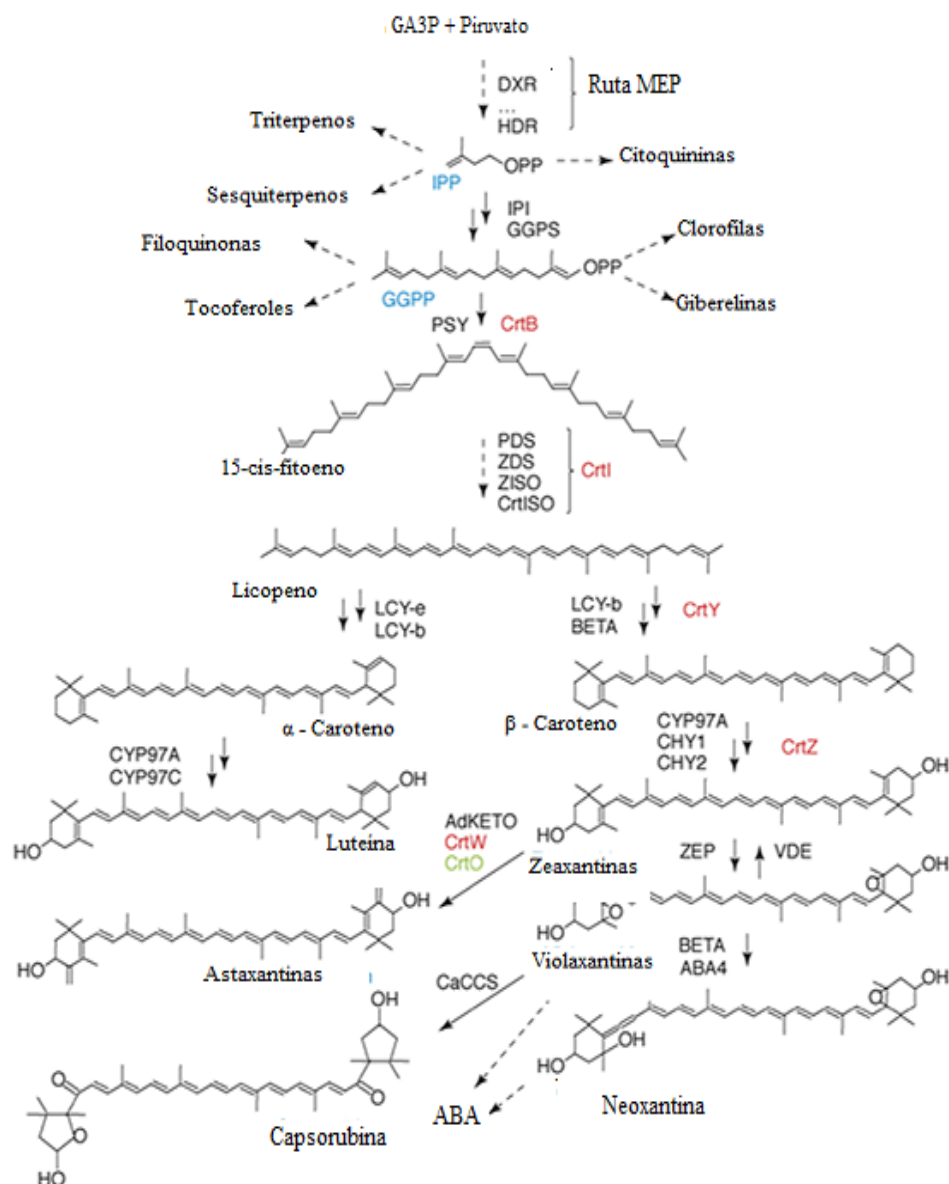


Figura 5.1. Ruta de la biosíntesis de carotenoides, los nombres de los sustratos aparecen en azul y las enzimas en negro, rojo y verde. (Giuliano *et al.*, 2008)

BIBLIOGRAFÍA

- Abushita A. A., Daood H. G., Biacs P. A., 2000, Change in Carotenoids and Antioxidant Vitamins in Tomato as a Function of Varietal and Technological Factors, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2075-2081.
- Abushita A.A., Hebshi E.A., Daood H.G., Biacs P.A., 1997, Determination of antioxidant vitamins in tomatoes, *Food Chemistry*. 2: 207-212.
- Al-Wandawi H., Abdul-Rahman M., Al-Shaikhly K. , 1985, Tomato processing wastes as essential raw material sources, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 33:804–807.

- Baynes J.W., 2007, Bioquímica Médica: *In: Bioquímica Médica*, Elsevier Mosby, Madrid, España, pp: 505-515.
- Binoy G. K., Charanjit D. S., Khurdiya., Kapoor H. C., 2004, Antioxidants in tomato (*Lycopersicum esculentum*) as a function of genotype, *Food Chemistry*. 84: 45-51.
- Böhn V., 2004, Effects of Agronomic practices and processing conditions on tomato ingredients, *Kluwer Academic Publishers, Preharvest Practice*, pp: 37-46.
- Bovy A., Kemper M., Schijlen E., Pertejo M. A., Muir S., 2002, High-flavonol tomatoes resulting from the heterologous expression of the maize transcription factor genes *lc* and *c1*, *The Plant Cell*. 14:2509-2526.
- Branley G. E., Scolnik P.A., 1995, Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health, *The Plant Cell*. 7:1027-1038.
- Brecht J. K., Saltveit M. E., Talcott S. T., Schneider K. R., Felkey K., Bartz, J. A., 2004, Fresh-cut vegetables and fruits, *Horticultural Reviews*. 30:185-230.
- Bruulsema T., Zhang T., Chin C., Bruulsema T., 2004, Fertigation Boosts Optimum Nitrogen for Tomatoes and Peppers, *Better Crops*. 90: 8-10.
- Burns J., Paul D., Fraser P., Bramley M., 2003, Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables, *Phytochemistry*. 62: 939-947.
- Carrillo L. A., Yahia E. M., Ramirez P. G., 2010, Bioconversion of Carotenoids in Five Fruits and Vegetables to Vitamin A Measured by Retinol Accumulation in Rat Livers, *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 5: 215-221.
- Chang C., Liu Y., 2005, Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes, *Journal of Food Engineering*. 77: 478-485.
- Clinton S. K., 1998, Lycopene: chemistry, biology and implications for human health and disease, *Nutrition Reviews*. 56: 35-51.
- Dewanto V., Wu X. Z., Adom K. K., Liu R. H., 2002, Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 3010-3014.
- Dumas Y., Dadomo M., Di Lucca G., Grolier P., 2003, Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83: 369-382.
- FAOSTAT, 2006, Estadísticas datos agrícolas, <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>, consultada agosto de 2010.
- Fennema O. R., 2000, Pigmentos genuinos de los alimentos: *In: Química de los Alimentos*, Acribia, Zaragoza, España, pp: 616-647.
- Fernández R., Cámara M., Quintela J., 2007, Ingredientes bioactivos de jitomate: el licopeno, *Revista Nutrición Clínica Dietética Hospitalaria*. 27: 36-40.
- Galpaz N., 2006, A chromoplast-specific carotenoid biosynthesis pathway is revealed by cloning of the tomato White-flower locus, *The Plant Cell*. 18:1947-1960.

- Galpaz N., Wan Q., Menda N., Zamir D., Hirschberg J., 2008, Abscisic acid deficiency in the tomato mutant high-pigment 3 (hp3) leading to increased plastid number and higher fruit lycopene content, *The Plant Journal*. 56:717-730.
- Gerster H., 1997, The potential role of lycopene for human health, *Journal of the American College of Nutrition*. 16:109-126.
- Giuliano G., Tavazza R., Diretto G., Beyer P., Taylor M., 2008, Metabolic engineering of carotenoid biosynthesis in plants, *Trends in Biotechnology*. 26: 139-145.
- Gordon M., Young A., 2001, Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids, *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 385: 20-27.
- Guil G. J., Reboloso F. M., 2009, Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties, *Journal of Food Composition and Analysis*, 22:123-129.
- Hadley C.W., Clinton S. K., Schwartz S. J., 2002, The Consumption of Processed Tomato Products Enhances Plasma Lycopene Concentrations in Association with a Reduced Lipoprotein Sensitivity to Oxidative Damage, *Human Nutrition and Metabolism*. 133:727-732.
- Hamazu Y., Chachin K., Ueda Y., 1998, Effect of postharvest storage temperature on the conversion of C-mevalonic acid to carotenes in tomato fruit, *Journal of the Japanese society for Horticultural Science*. 67:549-555.
- Haukioja E., Ossipov V., Koricheva V., Honkanen T., Larsson S., Lempa K., 1998, Biosynthetic origin of carbon based secondary compounds cause of variable responses of woody plants to fertilization, *Journal of Chemical Oncology*. 8:133-139.
- Havsteen B., 1983, Flavanoids, a class of natural products of high pharmacological potency, *Biochemical Pharmacology*. 32:1141-1148.
- Heaton S., 2001, Organic Farming, Food Quality and Human Health, A Review of the evidence, Soil Association, USA, pp: 80-87.
- Heredia A., Barrera C., Andre A., 2007, Drying of cherry tomato by a combination of different dehydration techniques. Comparison of kinetics and other related properties, *Journal of Food Engineering*. 80:111-118.
- Hernandez S. M., Rodriguez R. E., Diaz R. C., 2007, Analysis of organic acid content in cultivars of tomato harvested in Tenerife, *European Food Research and Technology*. 226: 423-435.
- Johnston C. S., 2001, Vitamin C: *In: Present Knowledge of Nutrition*, Bowman B. A., Russell R. M., Washington, USA, pp:175-183.
- Juroszek P., Lumpkin H. M., Yang R. Y., Ledesma D. R., Ma C.H., 2009, Fruit quality and bioactive compounds with antioxidant activity of tomatoes grown on-farm: comparison of organic and conventional management systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 1188-1194.
- León R., Couso I., Fernandez E., 2007, Metabolic engineering of ketocarotenoids biosynthesis in the unicellular microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*, *Journal of Biotechnology*.130: 143-152.

- Lippert F., 1993, Amounts of organic constituents in tomato cultivated in open and closed hydroponic system. *Acta Horticulturae* 339:113-123.
- Liu L. H., Zabarar D., Bennett L. E., Aguas P., Woonton B. W., 2009, Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage, *Food Chemistry*. 115: 495-500.
- Loannidi E., Kalamaki M., Engineer C., Pateraki I., Alexandrou D., Mellidou I., Giovannonni J., Kanellis A., 2009, Expression profiling of ascorbic acid-related genes during tomato fruit development and ripening and in response to stress conditions, *Journal of Experimental Botany*. 60:663–678.
- López C. G., Matas A. J., Cuartero J., Heredia A., Romero A. R., 2003, Mancha solar en el fruto de jitomate: análisis de carotenoides y estudio histológico, *Actas de Horticultura. X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas*. 39: 401-403.
- Lopez J., Tremblay N., Voogt W., Dube S., Gosselin A., 1996, Effects of varying sulphate concentrations on growth, physiology and yield of the greenhouse tomato, *Horticultural Science*. 67: 207–217.
- Mahajan R., Chandana A, Choudhary J, Mann N, Mann R, 2009, Lycopene, *Pharma Times*. 41: 17-19.
- Mangels A. R., Holden J. M., Beecher G. R., Forman M. R., Lanza E., 1993, Carotenoid contents of fruits and vegetables: an evaluation of analytical data, *Journal of the American Dietetic Association*. 93: 284–96.
- Marfil P. H., Santos E. M., Telis V. R., 2008, Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions, *Journal of Food Science and Technology*. 41:1642-1647.
- Matkowski A., Tasarz P., Szypula E., 2008, Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from Lamiaceae, subfamily Lamioideae, *Journal of Medicinal Plants Research*. 2: 321-330.
- Merzlyak M. N., Solovchenko A. E., 2002, Photostability of pigments in ripening apple fruit: a possible photoprotective role of carotenoids during plant senescence, *Plant Science*, 163: 881-888.
- Nguyen M. L., Schwartz S. J., 1999, Lycopene: chemical and biological properties, *Journal of Food Technology*. 53: 38-45.
- Ortega A., Basabe T., Sobaler L., 2004, *Frutas, Hortalizas y Verduras: In: Frutas y verduras y salud*, Elviesier, España, pp1-18.
- Petro-Turza M., 1987, Flavor of tomato and tomato products, *Food Review International*. 2:309-351.
- Ramandeep, K.T., Geoffrey P. S., 2005, Antioxidant activity in different fraction of tomatoes, *Food Research International*. 38:487-494.
- Riso P., Visioli F., Erba D., Testolin G., Porrini M., 2004, Lycopene and vitamin C concentrations increase in plasma and lymphocytes after tomato intake. Effects on cellular antioxidant protection, *European Journal of Clinical Nutrition*. 58: 1350-1358.
- Rolle R. S., Chism G., 1987, Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables, *Journal of Food Quality*.10: 157-177.

- Shi J., Marc Le M., 2000, Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical Properties Affected by Food Processing, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40:1-42.
- Simkin A. J., 2007, Fibrillin influence on plastid ultrastructure and pigment content in tomato fruit, *Phytochemistry*. 68:1545-1556.
- Solovchenko A. E., Chivkunova O. B., Merzlyak M. N., Gudkovsky V. A., 2005, Relationships between chlorophyll and carotenoid pigments during on- and off-tree ripening of apple fruit as revealed non-destructively with reflectance spectroscopy, *Postharvest Biology and Technology*. 38: 9-17.
- Steward A. J., Bozonnet S., Mullen W., Jenkins G. I., 2000, Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2663-2669.
- Takahama U., 1985, Inhibition of lipoxygenase-dependent lipid peroxidation by quercetin: Mechanism of antioxidative function, *Phytochemistry*. 24:1443-1446.
- Toor R. K., Savage G. P., 2005, Antioxidant activity in different fractions of tomatoes, *Food Research International*. 38: 487-494.
- Voutilainen S., Nurmi T., Mursu J., Rissanen T. H., 2006, Carotenoids and cardiovascular health, *American Journal of Clinical Nutrition*. 83:1265-1271.
- Wang H., Cao G., Prior R. L., 1996, Total Antioxidant Capacity of Fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 701-705.
- Weibel F. P., Bickel R., Leuthold S., Alföldi T., 2000, Are organically grown apples tastier and healthier? A comparative field study using conventional and alternative methods to measure fruit quality, *Acta Horticulturae*. 517: 417-426.
- Willcox J. K., Catignani G. L., Lazarus S., 2003, Tomatoes and cardiovascular health, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43:1-8.
- Yanishlieva M. N.V., 2001, Inhibición de la oxidación: *In: Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas*, Acirbia, Zaragoza, España, pp:23-68.

VI. CAPÍTULO III

IDENTIFICACIÓN Y SELECCIÓN DE LOS PRINCIPALES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE JITOMATE BAJO INVERNADERO EN EL MUNICIPIO DE AQUIXTLA, PUEBLA

IDENTIFICATION AND SELECTION OF MAJOR SYSTEMS IN GREENHOUSE TOMATO PRODUCTION IN AQUIXTLA, PUEBLA

RESUMEN

En los últimos diez años algunos municipios de la Sierra Norte de Puebla, como Tetela de Ocampo, Aquixtla, Zacatlán e Ixtacamaxtitlán han promovido intensamente el establecimiento de invernaderos para la producción de jitomate. Por lo que en el presente trabajo se realizó un ***Diagnóstico de tipo sistémico*** en el Municipio de Aquixtla, Puebla considerada como una de las principales regiones productoras de jitomate en el estado. El objetivo del estudio fue identificar y caracterizar los sistemas agrícolas de producción de jitomate en invernadero de las diferentes comunidades del municipio. La metodología consistió en tres fases: selección del área de estudio, diagnóstico e integración y sistematización de la información. Para la primera fase se consideró la revisión de fuentes de información secundaria y entrevistas con informantes clave, en la segunda fase se utilizaron diferentes técnicas como recorridos de campo, talleres participativos y encuestas con productores y en la tercera fase se realizó el análisis de la información. La información obtenida permitió conocer la situación actual en los sistemas de producción, al considerar diferentes condiciones de manejo, cultivares, superficie sembrada, tipos de invernaderos, lo que contribuyó a la identificación y selección de los principales sistemas de producción de jitomate del municipio de Aquixtla. El cual cuenta con una superficie cultivada de jitomate en invernadero de aproximadamente de 19 ha con un total de 80 productores, donde algunas de las localidades representativas son: La Loma, Cuautieco, Atlomulco, Aquixtla y Tlaltempa. En estas localidades se identificaron dos tipos de sistemas de producción en invernadero: hidropónico y el de fertirrigación. Se encontró que los productores utilizan principalmente el sistema de fertirrigación, que corresponde al 73.81% de la producción total. Sin embargo, los sistemas de producción difieren entre comunidades de acuerdo con las condiciones de manejo, rendimiento, variedades y ciclos de cultivo.

Palabras claves: *Aquixtla, diagnóstico, hidroponia, fertirrigación, jitomate.*

ABSTRACT

During the past ten years, some municipalities in the Sierra Norte de Puebla state such as Tetela de Ocampo, Aquixtla, Zacatlan and Ixtacamxitlan have strongly promoted the establishment of greenhouses for tomato production. Therefore in the present study was carried out a Diagnosis of Systemic type in the Municipality of Aquixtla, which is a major tomato producing region of the state of Puebla. The objective was to identify and characterize the agricultural systems in greenhouse tomato production in the different communities in this municipality. The methodology consisted of three phases: selection of the study area, diagnosis -integration and systematization of information. For the first phase was considered the review of secondary sources of information and interviews with key informants, in the second stage was used different techniques such as field trips, participatory workshops and surveys with producers and the third phase was made the analysis of information. The information obtained allowed to know the current situation in production systems, considering different management conditions, cultivars, cultivated land, types of greenhouses, which contributed to the identification and selection of major tomato production systems in the municipality of Aquixtla. This region has a cultivated surface in tomato greenhouse of about 19 ha with a total of 80 producers, where some representative communities are: La Loma, Cuautieco, Atlomulco, Aquixtla and Tlaltempa. In these locations were identified two types of production systems: hydroponics and the fertirigation. The producers mainly use the fertirigation system, corresponding to 73.81% of total production. However, production systems differ among communities according to management conditions, yield, varieties and crop cycles.

Keywords: *Aquixtla, diagnosis, fertirigation, hydroponics, tomato.*

INTRODUCCIÓN

Entre las principales hortalizas producidas mundialmente se encuentran el tomate o jitomate, cebolla, sandía, pimiento y pepino (FAOSTAT, 2006). Durante el 2009, México produjo 1,947,466 ton de jitomate, con un rendimiento promedio de 39 ton/ha, en una superficie sembrada cercana a las 54 mil hectáreas (SAGARPA, 2010), de las cuales el estado de Puebla contribuyó con 27,399 ton. Se ha promovido el establecimiento de invernaderos para el cultivo de jitomate en los municipios de la sierra norte como Tetela de Ocampo, Aquixtla, Zacatlán e Ixtacamaxtitlan, como una alternativa de desarrollo agrícola (SAGARPA, 2008). Por lo antes citado en una primera aproximación se propuso realizar un **“Diagnóstico sistémico sobre los invernaderos en el Municipio de Aquixtla, Puebla”**, que de acuerdo con la información obtenida es una de las principales zonas productoras de jitomate en condiciones protegidas.

Se seleccionó el diagnóstico agrícola sistémico debido a que puede ser utilizado como método de recopilación de información, a partir de la cual se pueden tomar decisiones sobre las prioridades de investigación y formulación de proyectos o acciones (Geilfus, 1998). Este diagnóstico considera la dimensión espacial del objeto en estudio o del sistema agrario, al entender a este último como una unidad territorial o geográfica siendo el punto de partida en el estudio, donde sus principales componentes son: el medio físico, con su ecosistema, recursos naturales, infraestructuras y por otra parte, la sociedad local, con sus grupos sociales, instituciones, etc., donde este conjunto de elementos interactúan entre sí de manera dinámica y están organizados en función de un objetivo (Apollin y Eberhart, 1999).

Según Debe, (2005) un sistema de producción, aquel que se encuentra integrado por: suelo, agua, recursos genéticos, insumos; tecnologías y herramientas agrícolas; mano de obra; capital fijo (edificios, medios de transporte y las maquinarias para la producción, conservación, transformación y comercialización); capital de trabajo y conocimientos (asistencia técnica, educación, cultura tradicional y capacitación) (Debe, 2005). De manera similar Turrent *et al.* (2005) define un sistema de producción como el área de cultivo donde interactúan el suelo, agua, clima, planta, manejo, mismos que determinan el rendimiento de los cultivos.

En base a la información anterior se propuso como objetivo del diagnóstico identificar y seleccionar los sistemas de producción de jitomate, de acuerdo con las localidades que presentaran mayor rendimiento, superficie cultivada y número de productores en el Municipio de Aquixtla, Puebla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización del diagnóstico se consideraron tres fases las cuales se detallan a continuación:

Primera Fase: Selección del área de estudio

Esta fase consistió en la consulta de información secundaria para conocer las características propias de la región y sus habitantes. Entre las fuentes consultadas estuvieron: Diagnósticos del Programa de Fortalecimiento de Empresas y de Organización Rural (PROFEMOR), (2006), Plan de Desarrollo Municipal Aquixtla, (2008), anuarios, entre otros. Asimismo se obtuvo información mediante entrevistas con informantes clave como: el presidente municipal, productores fundadores en la producción de jitomate en invernadero, proyectistas y técnicos que conocían las actividades agrícolas de los sistemas de producción. En las entrevistas se consideraron temáticas como: actividades, tecnologías y tiempo de manejo de los sistemas de producción (ANEXO I).

Segunda Fase: Diagnóstico

Esta fase consistió en conocer los elementos y procesos que operan en los sistemas productivos, para lo cual se seleccionaron instrumentos de trabajo como recorridos de campo, talleres participativos y encuestas con productores (ANEXOS I y II). Estas técnicas se consideran adecuadas para tener un mayor conocimiento de la realidad de la región y entender las relaciones entre los informantes y su medio (Geilfus, 1998; Jouve, 1993).

a) Observaciones directas en recorridos de campo

Para realizar los recorridos de campo se definieron transectos y distancias con base en mapas del municipio de Aquixtla proporcionado por el ayuntamiento municipal, así como información obtenida de informantes clave.

Los recorridos se realizaron por los sistemas de producción con la participación del productor, con un planteamiento previo del objetivo, los sitios a visitar y la información que se pretendía recabar (ANEXO I).

Asimismo se utilizó un libro de campo para anotar la información proporcionada expuesta por los participantes (Ocampo y Escobedo, 2006).

b) Talleres participativos y encuestas con productores

Se realizaron talleres participativos con los productores utilizando diversas técnicas como Lluvia de Ideas y Árbol de Problemas (Geilfus, 1980). Lo que permitió obtener información de las condiciones de cultivo por sistema de producción, así como identificar sus principales problemas.

En el ANEXO II se mencionan los contenidos temáticos de los Talleres Participativos considerando los componentes en cada uno de los sistemas y los principales factores que pueden llegar a limitar la producción.

El ANEXO III se presenta el cuestionario utilizado para la realización de las encuestas que fueron aplicadas a los productores en forma oral e individual.

Se utilizaron preguntas no estandarizadas aunque sí, ordenadas y formuladas (guía o test), con el propósito de profundizar en el conocimiento de los sistemas de producción (Anexo II).

Tercera Fase: Análisis de la Información

Con el análisis de la información obtenida en las fases anteriores se propusieron dos sistemas de acuerdo con las condiciones de cultivo descritas por los productores: 1) sistema de invernaderos en hidroponía y 2) sistema con invernaderos en suelo o fertirrigación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El trabajo de campo inició con la presentación ante las autoridades municipales de la región de Aquixtla, para informarles sobre las actividades a realizar y sobre las posteriores reuniones tanto con autoridades, como con líderes, técnicos y productores relacionados con los sistemas de producción. Posteriormente se realizaron salidas a la región de estudio para obtener una visión global de las actividades económicas que se desarrollan, posición geográfica y existencia de invernaderos en las comunidades que conforman el Municipio. Los resultados obtenidos en el diagnóstico se exponen a continuación de acuerdo con las fases propuestas en la metodología.

Primera Fase: Selección del área de estudio

Se logró documentar que desde hace siete años se ha promovido el establecimiento de invernaderos para producir jitomate en el Municipio de Aquixtla, como una alternativa de producción hortícola y de diversificación de cultivos. Aquixtla se localiza en la parte noroeste del estado de Puebla sus coordenadas geográficas son: los paralelos 19° 42' 42" y 19° 51' 54" de latitud norte y los meridianos 97° 49' 36" y 97° 54' 06" de longitud occidental (Figuras 6.1 y 6.2).

Las colindancias del Municipio en estudio son al norte con Zacatlán y Chignahuapan, al sur con Ixtacamaxtlán, al oeste con Tetela de Ocampo y al poniente con Chignahuapan (Figura 6.2) (INEGI, 2006 y PROFEMOR, 2006).

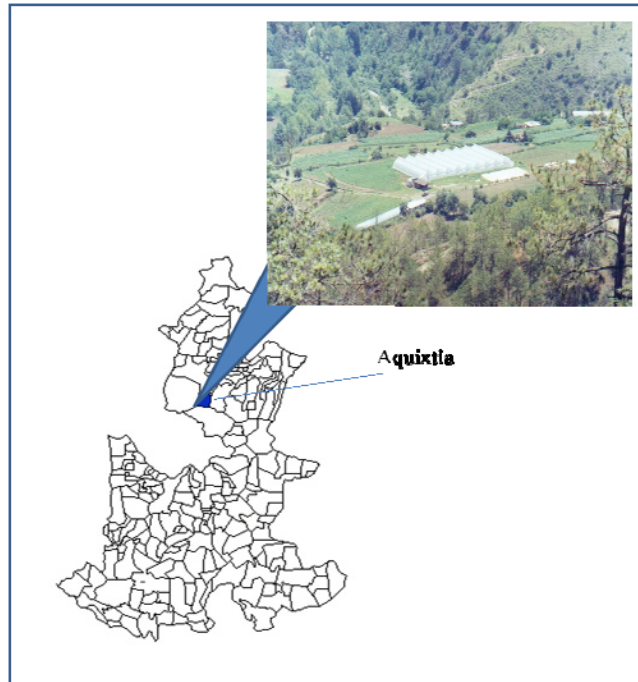
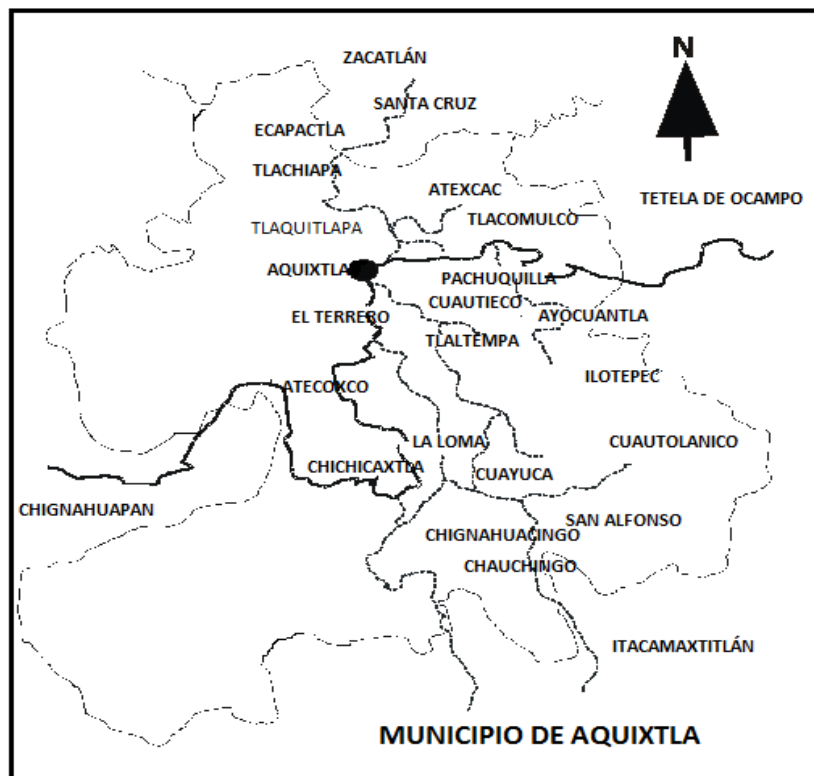


Figura 6.1. Ubicación de la región de estudio: Municipio de Aquixtla en el noreste del Estado de Puebla.



Fuente: Dirección de Desarrollo Rural y Agropecuario 2007

Figura 6.2. Micro localización de la región de estudio y municipios colindantes.

El clima de Aquixtla se localiza dentro de la zona de climas templados de la sierra norte; se identifica como un clima templado subhúmedo con lluvias en verano; temperatura media anual entre 12 y 18 °C; la precipitación invernal con respecto a la anual es menor al 5% (INAFED, 2007).

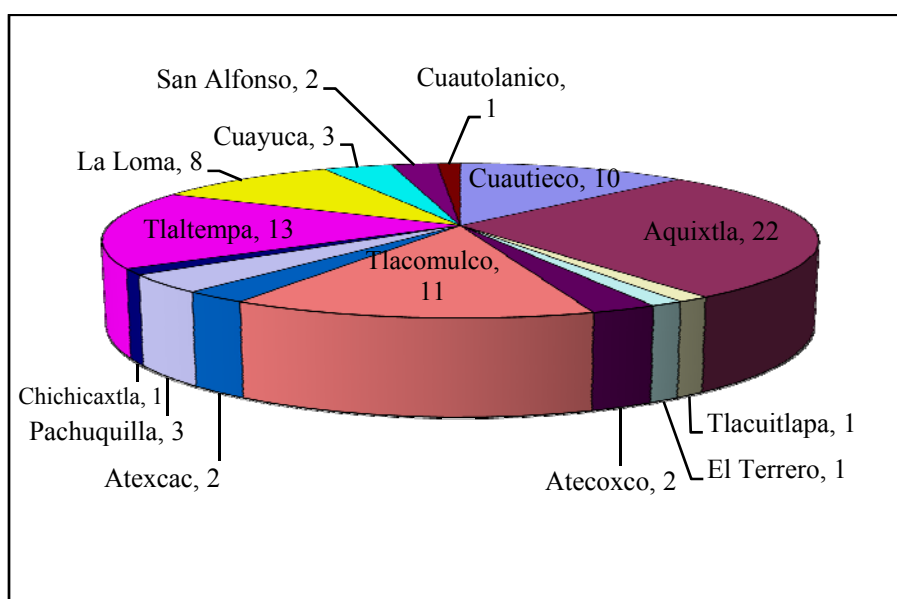
El Municipio de Aquixtla tiene una superficie de 190 kilómetros cuadrados que lo ubican en el lugar 65 con respecto a todos los municipios del Estado y cuenta con una población de 7,386 habitantes (Censo, 2005), misma que se encuentra distribuida en 20 localidades (Cuadro 6.1).

Cuadro 6.1. Localidades y distribución de la población total del municipio de Aquixtla, Puebla.

Localidad	Población Total
Aquixtla	855
Pachuquilla	297
Tlacomulco	156
Tlaltempa	368
Ayocuantla	118
Cuayuca	307
Cuautieco	657
Chaucingo	142
La Loma	285
Chichicaxtla	627
Tlacuitlapa	322
Atexcac	530
Cuautolanico	217
Tlachiapa	171
Atecoxco	416
Chignahuacingo	324
Ecapactla	160
San Alfonso	272
Ilostepec	154
El Terrero	920
Total	7, 386 hab

Fuente: Plan de desarrollo Municipal de Aquixtla 2008-2011

La principal actividad económica del municipio es la agrícola, entre los cultivos que sobresalen se encuentran: granos como el maíz, frijol, haba, cebada y avena; en cuanto a la fruticultura se cultiva la manzana “golden” con una superficie aproximada de 35 hectáreas con 40 mil plantas sembradas. Específicamente en la producción de hortalizas sobresale el jitomate que se produce en invernaderos y cuya superficie alcanza aproximadamente 19 hectáreas distribuidas en 14 localidades (Figura 6.3 y Cuadro 6.2).



Fuente: Dirección de Desarrollo Rural y Agropecuario 2007

Figura 6.3. Número de invernaderos productores de jitomate establecidos por localidad en el Municipio de Aquixtla, Puebla.

De acuerdo con el tipo de tecnología utilizada se observó que 73.81% de los productores han optado por producir principalmente en suelo y el restante 26.19% producen en hidroponía (Cuadro 6.2).

Cuadro 6.2. Número de invernaderos en los sistemas de producción de hidroponía y suelo en las localidades del Municipio de Aquixtla, Puebla.

Localidad	No. Productores	Superficie Cultivada (has)	Superficie con Hidroponía (has)	Superficie con Suelo (has)
Cuautieco	10	1.53	0.63	0.9
Aquixtla	22	5.23	1.13	4.1
Tlacuitlapa	1	0.1	0	0.1
El Terrero	1	0.1	0	0.1
Atecoxco	2	0.2	0	0.2
Tlacomulco	11	2.8	0.9	1.9
Atexcac	2	0.4	0.2	0.2
Pachuquilla	3	0.9	0.2	0.7
Chichicaxtla	1	0.1	0	0.1
Tlalteempa	13	4.39	0.9	3.49
La Loma	8	0.99	0	0.99
Cuayuca	3	0.3	0.3	0
San Alfonso	2	0.3	0.3	0
Cuautolanico	1	0.65	0.15	0.5
Total	80	17.99	4.71	13.28
% de Producción			26.19	73.81

En las Figuras 6.4 A y 6.4 B se presentan los dos tipos de sistemas de cultivo (hidroponía y fertirriego) considerados en las localidades de la región de estudio.

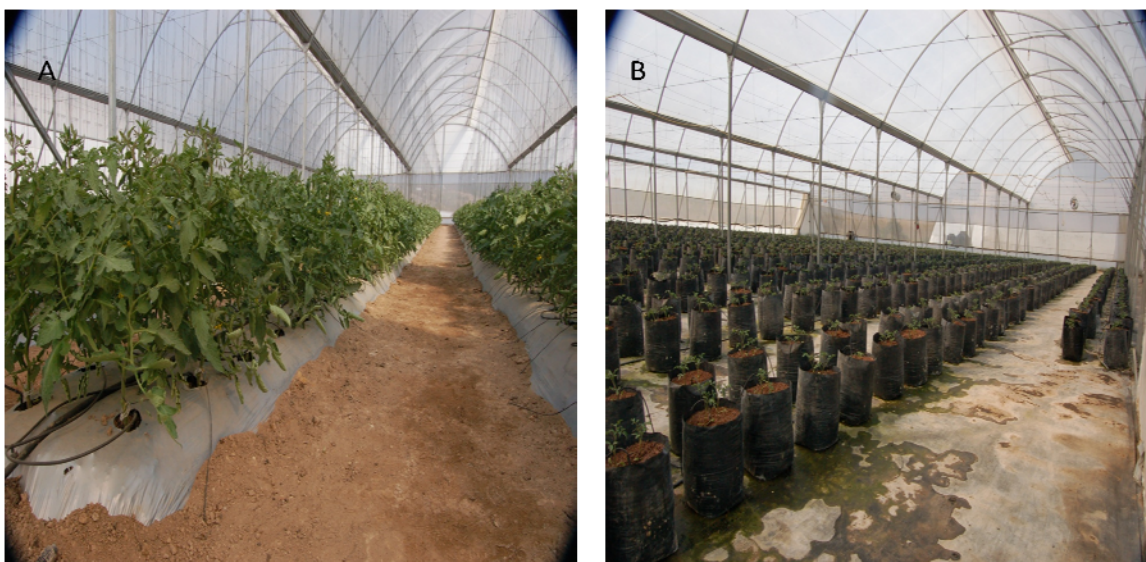


Figura 6.4. Invernaderos “prototipo” utilizados en el Municipio de Aquixtla para la producción de jitomate, (A) fertirriego y (B) hidroponía.

Con base en el Plan de Desarrollo Municipal de Aquixtla 2008-2011, la cantidad de invernaderos reportados generan más de 500 empleos directos en el municipio. Adicionalmente a las consultas de fuentes secundarias de información, se realizaron seis entrevistas con informantes clave, lo cual permitió conocer las tecnologías de cultivo, actividades de manejo, ciclos de cultivo, variedades, superficie cultivada por invernaderos, entre otros aspectos.

Entre los informantes clave entrevistados estuvieron el Presidente Municipal, Director de Desarrollo Rural y Agropecuario y productores que cultivan en invernaderos hidropónicos y/o fertirrigación, cabe mencionar que el tiempo que llevan trabajando los agricultores con ambos sistemas de producción corresponde de 2 a 6 años.

Las principales características de los sistemas de producción según la información obtenida con las entrevistas, se mencionan en el Cuadro 6.3 considerando aspectos como tipo de invernadero, variedades, sistema de riego, superficie cultivada, sistemas de almacenamiento de agua, entre otros.

Cuadro 6.3 Componentes y condiciones de cultivo de los sistemas de producción de jitomate en Aquixtla, (2007).

<i>Componente o condición</i>	<i>Descripción</i>
<i>Tipo de invernadero</i>	Microtunel con cubierta de plástico: calibre 720 de 70-80% de luminosidad y antigoteo.
<i>Variedades y tipo de jitomate</i>	Reserva y Joya. Principalmente se produce jitomate tipo <i>saladette</i> .
<i>Trasplante</i>	Plántula de 15 días con 10 a 15 cm de altura
<i>Sistema de riego</i>	Espaguete o cintilla
<i>Rendimientos</i>	20-30 ton
<i>Ciclos de cultivo</i>	Dos ciclos de cosecha (Feb-Jun) y Ago-Dic y un ciclo: Feb-Nov.
<i>Superficie Cultivada</i>	1000- 1300 mts ²
<i>Control de condiciones ambientales</i>	Sistema de enfriamiento manual a través de cortinas.
<i>Sistema de Almacenamiento de Agua</i>	Represas
<i>Fertilización</i>	Abono orgánico, lombricomposta y fertilizantes inorgánicos.

Segunda Fase: Diagnóstico

La información obtenida en esta fase proveniente de los talleres participativos y entrevistas con productores, permitieron conocer las etapas y componentes que conforman el proceso para la producción de jitomate en invernadero. En la Figura 6.5 se puede observar un esquema general para el cultivo de jitomate en hidroponía y fertirrigación y posteriormente se detallan cada una de las etapas que conforman el proceso.

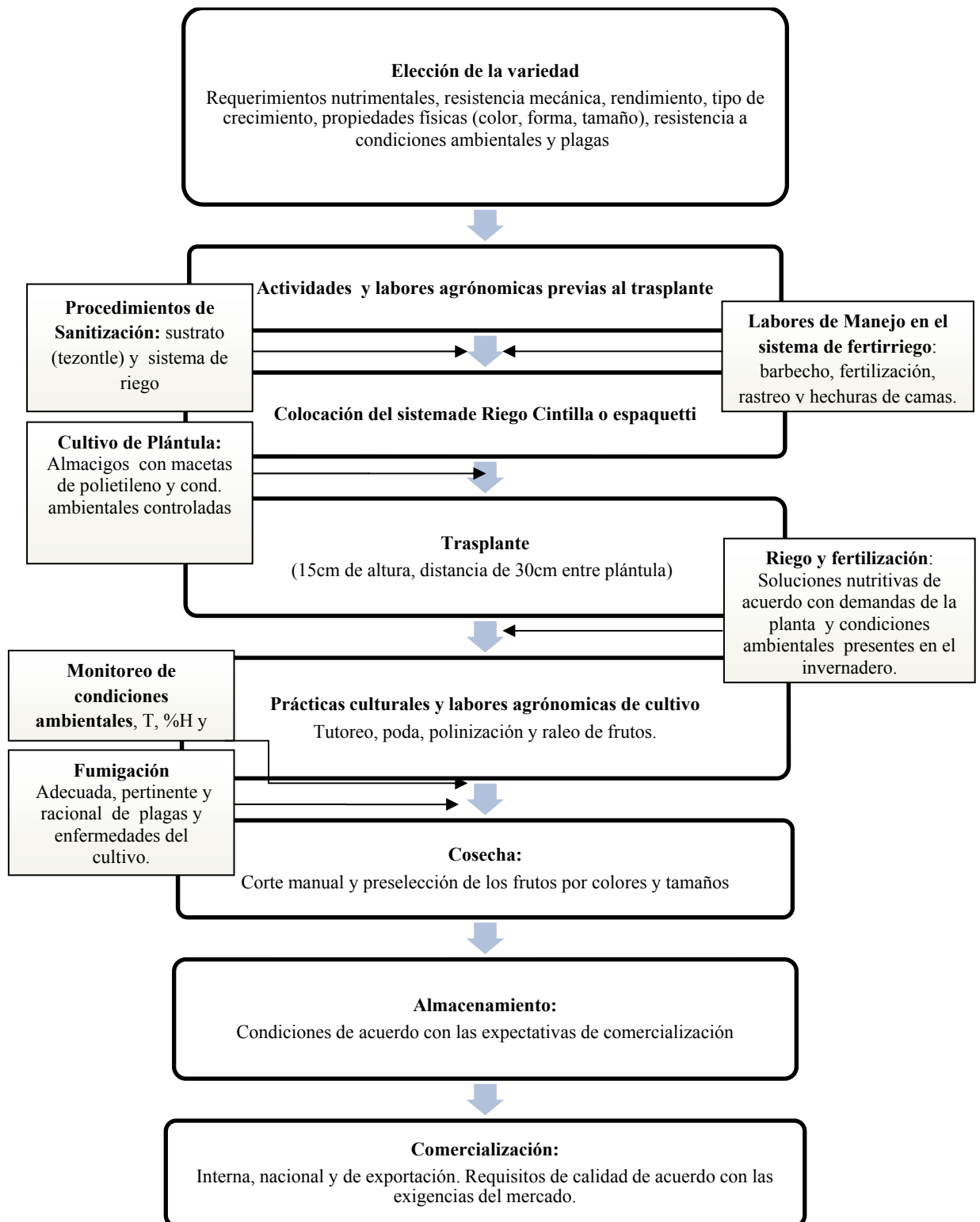


Figura 6.5. Proceso para el cultivo de jitomate en invernadero propuesto para el Municipio de Aquixtla.

A.- Elección del cultivar

La elección del cultivar se hace en función de características relacionadas con la productividad, calidad y resistencia a enfermedades (Diez, 2000). Específicamente, deben tomarse en cuenta: el porte abierto de la planta, la precocidad, calidad externa del fruto, adaptación al sistema, ciclo de cultivo y condiciones ambientales de estrés (Salazar, 2008). Algunos de estos criterios son considerados para la elección de los cultivares por parte de los productores de la región de Aquixtla, en donde aparte de la resistencia a enfermedades, toman en cuenta la precocidad de la variedad utilizando ciclos determinados e indeterminados. La selección también se realiza en función de las demandas del mercado, los agricultores prefieren cultivar frutos tipo bola en el segundo ciclo de cultivo que es cuando se incrementa el precio en el mercado.

Así mismo seleccionan las variedades por su fácil cultivo y requerimientos nutrimentales, entre las variedades y tipos de jitomate que se cultivan con mayor frecuencia en la región de Aquixtla se encuentran: “Reserva” y “7705”: tipo saladette y “Charleston”: tipo bola.

B.-Actividades y labores agronómicas previas al trasplante

Entre las actividades que requieren ser tomadas en cuenta previas al trasplante se encuentran los registros de composición y requerimientos del suelo (% de Materia Orgánica, pH, salinidad, oligoelementos, elementos asimilables, entre otros).

Además de los registros que deben llevarse acerca del agua de riego como: pH, aniones y cationes, dureza, etc. La información obtenida de estos parámetros es muy útil para cubrir las necesidades específicas de la planta. Así mismo se requiere iniciar con los registros de las condiciones ambientales como humedad relativa, radiación fotosintética y temperatura, los cuales son factores de suma importancia para el control de la ventilación del invernadero, así como para resguardar la salud de la planta y del fruto (Cadahia, 2001).

En las localidades visitadas durante los recorridos de campo, se observó que algunos productores miden los parámetros ambientales como temperatura y humedad relativa, sin embargo no se lleva un registro en bitácoras propias del invernadero. La importancia de evaluar las condiciones ambientales durante todas las etapas del cultivo hasta la cosecha, radica en que están directamente relacionadas con la polinización, fecundación, rendimiento y desarrollo de enfermedades.

Para la producción de jitomate se recomienda mantener temperaturas menores de 30°C durante el día y mayores de 15°C durante la noche. Así como humedades relativas en el rango de 65-70% y la intensidad luminosa 5000 luxes (Castilla, 2001).

Labores agronómicas

Entre las labores agronómicas previas al trasplante que deben realizarse en los invernaderos de fertirrigación se encuentran el barbecho, fertilización, rastreo y formación de camas. Estas labores permiten que el suelo tenga suficiente aeración lo que garantiza que el agua drene (Castilla, 2001). Específicamente en los invernaderos de Aquixtla la fertilización inicial en los invernaderos de fertirrigación consiste en la incorporación de abono orgánico principalmente estiércol crudo, el cual se aplica entre 2 a 3 toneladas por 1000m².

C.-Colocación del sistema de riego

El agua utilizada para el riego de los sistemas de producción proviene de manantiales y de represas, mismas son construidas por los productores para el almacenamiento del agua pluvial.

Los sistemas de riego en los invernaderos de fertirrigación son tipo cintilla, los cuales son desinfectados y colocados por debajo del acolchado manteniendo una distancia de un metro entre plantas. Mientras que en los invernaderos hidropónicos se utiliza el sistema tipo espagueti considerando una distancia de 30 cm entre macetas.

D.- Trasplante

La producción de la plántula debe realizarse en almácigos con semillas certificadas en cuanto a variedad, mismas que son sembradas en charolas de poliuretano o PVC generalmente con 200 cavidades. Estas pueden contener como medio de cultivo suelo que aporta la materia orgánica y material inerte que sirve para retener humedad. Cuando la plántula alcanza el tamaño adecuado para el trasplante es enviada al invernadero (Sánchez *et al.*, 2009). Es importante el control de las condiciones climáticas en el almacigo para garantizar la germinación de la semilla con una temperatura entre 18 y 24 °C y humedad del 60 %.

En los invernaderos en estudio el trasplante se realiza una vez que la plántula alcance una altura entre 10 y 15 cm con 15 días de crecimiento, independientemente de la variedad. Normalmente se realizan los trasplantes en los meses de febrero para variedades de ciclo corto y largo, considerando un segundo trasplante en los meses de agosto específicamente para las variedades de ciclo corto. La mayoría de los productores no cuentan con almácigos propios sino que adquieren la plántula con proveedores de la región.

E.- Riego y Fertilización

La fertilización se realiza a través del sistema de riego por goteo, donde se suministran los nutrimentos esenciales de acuerdo con las demandas de la planta.

Generalmente se parte de una solución nutritiva que contiene fertilizantes como: nitrato de calcio, sulfato de potasio, fosfato monoamónico, sulfato de magnesio, sulfato ferroso, sulfato de manganeso, sulfato de cobre, tetraborato de sodio(bórax) y sulfato de zinc.

La solución madre se diluye hasta un cierto volumen final, a partir del cual se distribuye en el sistema de riego considerando ajustar el pH y la conductividad eléctrica de 5.5 y 2.5mS, respectivamente.

Específicamente en los invernaderos de la región de Aquixtla, la frecuencia de los riegos y las aplicaciones de los fertilizantes se realizan de acuerdo con las etapas fenológicas de la planta y las condiciones ambientales prevalecientes en el invernadero. Existen diferencias en las dosis de los nutrimentos aplicados durante un mismo ciclo de cultivo en los cuatro invernaderos seleccionados (Cuadro 6.4).

Cuadro 6.4. Nutrimentos aplicados durante un mismo ciclo de cultivo en los invernaderos seleccionados en el estudio.

<i>Localidad</i>	Nutrimentos (kg.ha ⁻¹)					
	N	K	P	Ca	Mg	S
Tlaltempa	193	284	47	110	17	59
Cuatieco	471	407	249	190	23	151
Aquixtla	167	293	36	187	59	133
La Loma	259	392	118	74	50	94

Los macronutrimentos N, K y P son aplicados en dosis más altas en las localidades de Cuatieco y la Loma. Mientras que los micronutrimentos como el Ca son adicionado en concentraciones menores en la localidad de La Loma, situación similar se observó con los otros dos nutrimentos Mg y S en el invernadero de la localidad de Tlaltempa.

Estas diferencias en la aplicación de los fertilizantes podrían relacionarse con la falta de uniformidad en el paquete tecnológico utilizado por los agricultores y los diferentes niveles de asesoramiento técnico recibido.

F.-Prácticas culturales y labores agronómicas de cultivo

Entre las prácticas culturales que se realizan en ambos tipos de invernadero se encuentran el tutorado, poda, polinización y raleo de frutos. En el tutorado se guía a la planta en su crecimiento para lo cual se utiliza un hilo de plástico o rafia de polipropileno.

La poda consiste en retirar los brotes laterales y apicales de la planta, permitiendo reducir la competencia que se genera en la planta por agua, luz y nutrientes.

La polinización se realiza normalmente con un vibrador manual y se requiere mantener la temperatura nocturna entre 13 y 24°C y la del día entre 15 y 32°C, evitando que las flores aborten; sin embargo, en los invernaderos recorridos no se tiene control de las temperaturas nocturnas lo que propicia que la polinización no se realice de manera uniforme. Finalmente en el raleo se eliminan frutos de menor tamaño para favorecer el crecimiento de frutos de mayor tamaño y uniformes.

G.-Fumigación

El control eficiente de las plagas y enfermedades debe darse mediante la aplicación de productos preventivos, utilizados de manera adecuada y racional. El uso de *bioproductos* es una buena alternativa para mantener una agricultura sustentable en la región.

En los invernaderos visitados se observó que la aplicación de plaguicidas es foliar y se realiza para el control de las plagas más comunes como tizón y mosquita blanca, cuya presencia está directamente relacionada con la falta del control de las condiciones ambientales presentes en los invernaderos.

H.- Cosecha

Una cosecha eficiente implica colectar el fruto en un nivel apropiado de madurez, con el mínimo de daños y pérdidas, tan rápido como sea posible y con un mínimo de costos. Por lo anterior se requiere realizar la programación de las fechas de corte para disponer de los materiales, maquinaria e instrumentos requeridos para la cosecha. Asimismo es necesario conocer el grado de madurez que se requiere alcanzar el fruto de acuerdo con la coloración y tamaño (Corrales, 2008).

En los invernaderos de Aquixtla la cosecha de los frutos inicia aproximadamente a los 90 días después del trasplante y continua hasta el séptimo racimo, aunque depende si la variedad es de ciclo determinado o indeterminado.

La colecta se realiza de forma manual y se considera la preselección del fruto en grados de madurez fisiológica o de consumo de acuerdo con la coloración que presente el fruto, rosa claro y rojo oscuro respectivamente. Se considera que el rendimiento promedio obtenido en los invernaderos recorridos corresponde a 30 toneladas por 1000 m².

I.-Almacenamiento y comercialización

El almacenamiento y la comercialización del fruto dependen del destino del fruto ya sea para su consumo en fresco o para ser procesado, ambos están directamente relacionados con los atributos de calidad, composición nutricional e inocuidad (Kader *et al.*, 1977; Orozco *et al.*, 2008).

Debido a que la producción de jitomate en Aquixtla obedece a las condiciones de oferta y demanda del mercado y que su venta se realiza en fresco y a pie del invernadero, se requiere que los frutos reúnan las características que exigen nuevos mercados en términos de color, forma, tamaño, composición nutrimental, sanidad e inocuidad.

PRINCIPALES PROBLEMAS DIAGNOSTICADOS EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE JITOMATE

A través del uso de las técnicas participativas como lluvia de ideas y árbol de problemas, los productores manifestaron que los principales problemas en ambos tipos de invernaderos (fertiirrigación e hidroponía), los cuales se detallan a continuación:

- a. No encuentran ventajas al jitomate hidropónico en comparación con el de fertirrigación ya que finalmente el precio frente al intermediario local es el mismo.
- b. Consideran que la producción de jitomate hidropónico es más costosa debido a que se requieren mayores cantidades de fertilizantes.
- c. El precio de la plántula es elevado y muchas veces se encuentra enferma, incluso antes de ser trasplantada.
- d. Existen pérdidas de cosecha por falta de recursos económicos para controlar condiciones ambientales, como heladas.
- e. Entre las plagas más frecuentes se encuentran la mosquita blanca y enfermedades como la botritis y tizón, principalmente en los meses de junio y julio.
- f. Sólo algunos productores tienen acceso a bodegas de almacenamiento, pero en ellas no se controlan las condiciones de maduración.
- g. La mayoría de los productores comercializan el fruto con intermediarios locales, quienes minimizan el precio del producto.
- h. Existen problemas de emigración de principalmente jóvenes, lo cual repercute en la falta de mano de obra requerida para la siembra y cosecha incrementando los gastos de producción.
- i. Los costos de transporte y empaque del fruto son muy altos, lo que implica que la producción sólo se comercialice con intermediarios locales.
- j. Se desconoce la calidad sanitaria y nutricional de los productos lo que impide cumplir con los requerimientos del producto en otros mercados.
- k. Las comunidades más aisladas cuentan con caminos solamente de terracerías, lo que ha influido con la instalación de nuevos invernaderos.
- l. No todos los sistemas de producción cuentan con el asesoramiento técnico adecuado para la nutrición y fumigación de los cultivos.

Tercera fase: Análisis de la información

Con base en el análisis de la información recabada en las fases anteriores del diagnóstico se propusieron algunos aspectos para seleccionar los sistemas de producción, con los que se trabajó en las siguientes etapas de la investigación. Las localidades seleccionadas fueron: Cuautieco, Aquixtla, Tlaltempa y La Loma, las cuales son representativas de la producción de jitomate en invernadero en el Municipio de Aquixtla, por las siguientes razones:

- a) Se concentra el mayor número de productores y superficie cultivada, como se observa en el Cuadro 6.2 de la primera fase del diagnóstico.

- b) Utilizan ambos sistemas de producción hidroponía y fertirrigación, los cuales son considerados como las principales formas de cultivo de agricultura protegida en el municipio.
- c) Corresponden en tamaño y costo a los invernaderos “prototipo” de la región.
- d) Producen los dos tipos de jitomates: saladette y bola, donde ambos frutos tienen demanda en el mercado.
- e) Cultivan variedades de crecimiento determinado e indeterminado, lo cual es decisivo para garantizar el estudio del fruto durante todo el año de producción.
- f) De acuerdo con la distribución geográfica de las localidades se espera encontrar diferencias en las condiciones ambientales (Temperatura, Humedad Relativa y Radiación Fotosintéticamente Activa) y su relación con los sistemas de producción.

CONCLUSIÓN

El desarrollo agrícola del municipio de Aquixtla ha recibido un fuerte impulso a través del incremento de cultivos en invernadero, sobresaliendo el jitomate cuya producción es de relevancia a nivel regional, estatal y nacional. La información obtenida en el diagnóstico permitió conocer la situación actual en los sistemas de producción, misma que se relaciona con las diferentes condiciones de manejo, variedades, superficie cultivada y tipo de invernadero. Estos aspectos fueron considerados en la selección de los sistemas de producción de las localidades La Loma, Cuautieco, Aquixtla y Tlaltempa. La identificación de los problemas en los sistemas de producción, permitirá proponer acciones encaminadas al incremento de la productividad y posibilidades de comercialización de los frutos, provenientes de los invernaderos hidropónicos y de fertirrigación, de la región.

BIBLIOGRAFÍA

- Apollin F., Eberhart C. E., Análisis y diagnóstico de los sistemas de producción en el medio rural, *In: Guía Metodológica, Sistema de Capacitación para el manejo de los recursos naturales renovables, Ecuador*, pp: 7-11.
- Cadahia L. C., 2001, Fertilización: *In: El Cultivo del Tomate*, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp: 167-187.
- Castilla N. P., 2001, Manejo del cultivo intensivo con suelo: *In: El Cultivo del Tomate*, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp: 191-225.
- Corrales G. J., 2008, Manejo Pos cosecha de jitomate de invernadero, *In: Jitomate Tecnología para su producción en invernadero*, Bautista M. N., Chavarín P. C., Valenzuela E., (ed), Colegio de Postgraduados, México, pp:169-190.
- Debe F., 2005, Género y sistemas de producción campesina, FAO, <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/y4936s/y4936s00>, consultada agosto de 2010.
- Diagnóstico Participativo del Municipio de Aquixtla, Puebla, 2006, Programa de Fortalecimiento de Empresas y de Organización Rural (PROFEMOR), Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Diez J., 2001, Tipos de varietales: *In: El Cultivo del Tomate*, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp: 95-119.

- FAOSTAT, 2006, Estadísticas datos agrícolas, <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>, consultada agosto de 2010.
- Geilfus F., 1998, 80 herramientas para el desarrollo participativo, diagnóstico, planificación, monitoreo y evaluación, IICA-Holanda.
- INAFED: Instituto Nacional para el Federalismo y Desarrollo Municipal: *In: Enciclopedia de los municipios de México*, Puebla, México, 2007, <http://www.inafed.gob.mx>, consultada febrero de 2007.
- INEGI Puebla, 2008, Superficie sembradas y cosechadas por tipo de cultivo, principales cultivos y municipios según disponibilidad de agua: *In: Anuario Estadístico del Estado de Puebla*, Tomo III, pp: 1384-1395.
- INEGI, 2008, Características seleccionadas de los ejidos y comunidades agrarias por entidad federativa: *In: Anuario Estadístico por Entidad Federativa*, pp: 316-321.
- Jouve P., 1993, El diagnóstico agronómico previo a las operaciones de investigación y desarrollo, *Revista Investigación y Desarrollo para América Latina*. 2: 5-20.
- Kader A. A., Morris L. L., 1977, Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling procedures, *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 103: 6-13.
- Ocampo F. I., Escobedo C. J. F., 2006, Conocimiento tradicional y estrategias campesinas para el manejo y conservación del agua de riego, *Revista Ra Ximhai*. 2: 343-371.
- Orozco L., Rico-Romero L., Escartin E. F., 2008, Microbiological profile of greenhouses in a farm producing hydroponic tomatoes, *Journal of Food Protection*. 71: 60-65.
- Plan de Desarrollo Municipal de Aquixtla 2008-2011, Gobierno del Estado, <http://search.conduit.com/Results.aspx?q=Plan+de+Desarrollo+Municipal+de+Aquixtla+20082011%2C&meta=all&hl=es&gl=mx&SelfSearch=1&SearchSourceOrigin=10&ctid=CT2431232>, consultada agosto de 2010.
- SAGARPA, 2008 Inventarios de Invernaderos Estado de Puebla. <http://www.oeidrus-puebla.gob.mx/RID.pdf>, consultada enero de 2010.
- SAGARPA, 2010, Resumen Nacional de Producción Agrícola, http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=258, consultada agosto de 2010.
- Salazar S. I., 2008, Elección de variedades para invernadero: *In: Jitomate Tecnología para su producción en invernadero*, Colegio de Postgraduados, México, pp: 95-113.
- Turrent F. A., Laird R. J., Cortés F. J. I., Volke H. V., 2005, Un Reencuentro con la Productividad de Agrosistemas: Fundamentos y Herramientas, *Revista Agrociencias*. 39:29-39.

VII. CAPÍTULO IV

“CALIDAD Y COMPOSICIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN JITOMATE (*Lycopersicum esculentum* Mill) CULTIVADO EN INVERNADEROS DE FERTIRRIEGO”

“QUALITY AND COMPOSITION OF BIOACTIVE COMPOUNDS OF TOMATO (*Lycopersicum esculentum* Mill) GROWN UNDER FERTIGATION GREENHOUSES.

RESUMEN

La importancia actual del jitomate producido en invernadero y su relevancia por su potencial alimenticio, conlleva a la presente investigación estudiar la calidad y composición química de jitomate cultivado en invernaderos de fertirrigación, localizados en las localidades de La Loma, Cuautieco, Tlaltempa y Aquixtla del Municipio de Aquixtla, Puebla. Para calidad del fruto se analizó: pH, °Bx y acidez titulable, además del contenido de azúcares totales y composición de compuestos bioactivos: ácido ascórbico, clorofila total, carotenoides totales y licopeno. Los análisis se realizaron en frutos de jitomate con grados de madurez del 0%, 50% y 100%, colectados en tres secciones diferentes en el interior de los invernaderos (entrada, centro y parte posterior). Con respecto a los parámetros de calidad en los diferentes invernaderos se presentaron diferencias significativas entre frutos con grados de madurez del 50% y 100%. Particularmente los contenidos de los compuestos bioactivos (ácido ascórbico, clorofila total, carotenoides totales y licopeno), se vieron influenciados por el grado de madurez de los frutos así como por su procedencia con respecto a la localidad y secciones de muestreo. Los contenidos de licopeno estuvieron relacionados con los porcentajes de materia orgánica presentes en los suelos de los invernaderos. La aplicación de niveles más altos de macronutrientes (K y P) reflejaron contenidos mayores de azúcares totales en los frutos.

Palabras clave: *Lycopersicum esculentum*, compuestos bioactivos, carotenoides, fertirrigación, invernaderos.

ABSTRACT

The current importance of tomatoes grown in greenhouses and their relevance for its food potential, leads this research to study the quality and chemical composition of tomatoes grown in fertigation greenhouses, located in the towns of La Loma, Cuautieco, Tlaltempa and Aquixtla, municipality of Aquixtla, Puebla. For fruit quality were analyzed: pH, ° Bx and acidity, in addition to the total sugar content and composition of bioactive compounds: ascorbic acid, total chlorophyll, total carotenoids and lycopene. Analysis was performed on tomato fruits with different degrees of maturity of 0%, 50% and 100%, collected in three different sections within the greenhouses (input, center and rear). Regarding the quality parameters in the different greenhouses showed significant differences between degrees of fruit maturity with 50% and 100%. Particularly the contents of bioactive compounds (ascorbic acid, total chlorophyll, total carotenoids and lycopene) were influenced by the degree of ripeness of fruit and for its origin, according with the locality and the sampling sections. The lycopene content was related to the percentage of organic matter present in soils of the greenhouses. Also the application of the greater levels of the macronutrients (K, P) showed higher contents of total sugars in the fruit.

Key words: *Lycopersicum esculentum*, bioactive compounds, carotenoids, fertigation, greenhouses.

INTRODUCCIÓN

El jitomate es una de las especies hortícolas más importantes de México debido al valor de su producción, a la demanda de mano de obra que genera y a su importancia de consumo durante todo el año. Durante el 2007 la producción de *Lycopersicum esculentum* Mill, alcanzó 2.2 millones de toneladas (ton) en nuestro país, de donde 17,523 ton fueron aportadas por el estado de Puebla (INEGI, 2008). En años recientes, se ha registrado un crecimiento gradual en el establecimiento de invernaderos para el cultivo de jitomate en los Municipios de Tetela de Ocampo, Aquixtla, Zacatlán e Ixtacamaxtitlan (SAGARPA, 2008). Estos sistemas de cultivo controlados permiten comparar variedades, condiciones ambientales, manejos agronómicos, sustratos de crecimiento, entre otros. Se sabe que estos factores pueden influir en las propiedades fisicoquímicas y composición nutrimental del jitomate (Dumas *et al.*, 2003). Las propiedades físico-químicas de *Lycopersicum* forman parte de los atributos de calidad del fruto y de elección por parte del consumidor. Estas propiedades están determinadas principalmente por el contenido de sólidos solubles totales (°Brix), pH y contenido de ácidos orgánicos (acidez titulable), para los cuales se han establecido parámetros de calidad para la comercialización y procesamiento del fruto.

La composición del jitomate se reconoce por su potencial alimenticio, en licopeno, vitamina C, vitamina A y flavonoides (Willcox *et al.*, 2003). Actualmente a estos compuestos se los considera como “bioactivos”, cuyas propiedades “antioxidantes” se encuentran asociadas con la prevención de enfermedades de tipo carcinogénicas y cardiovasculares (Juroszek *et al.*, 2009). Los carotenoides, particularmente el licopeno y el β -caroteno, junto con la clorofila, son los responsables de la pigmentación del jitomate durante los diferentes estados de madurez, en la maduración las clorofilas se degradan y se sintetizan los carotenoides, que le confieren la coloración anaranjada tenue y culmina en un rojo intenso, estos pigmentos influyen en la calidad de percepción de frescura del jitomate, que junto con la textura y el color son los atributos de calidad más importantes (Bramley, 2002).

Trabajos previos reportan variaciones en el contenido y composición química del jitomate, de acuerdo con el grado de madurez, prácticas de cultivo y condiciones ambientales en los invernaderos (Abushita *et al.*, 2000; Binoy *et al.*, 2004). De ahí que la presente investigación tuvo como objetivo determinar la variación de los parámetros de calidad y componentes bioactivos del fruto de jitomate, con diferentes grados de madurez y secciones de colecta en cuatro invernaderos del Municipio de Aquixtla, Puebla.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó en las localidades de La Loma, Aquixtla, Cuautieco y Tlaltempa del Municipio de Aquixtla, las cuales pertenecen a una de las principales zonas productoras de jitomate en invernadero del estado de Puebla. Los invernaderos son tipo microtunel con sistema de fertirrigación, que considera la dosificación de fertilizantes disueltos en el agua de riego y las necesidades de la etapa fenológica de los cultivos, así como algunas características del suelo (contenido de materia orgánica), con lo que se optimiza el uso de los fertilizantes. La superficie de cultivo varía de 1000 a 1500 m² en los invernaderos, presentan una altura máxima de 6m, cubierta de plástico calibre 720 y ventilación lateral. Las plántulas fueron trasplantadas a las cuatro semanas de edad y la distancia de siembra fue de 1 m entre surcos y 0.30 m entre plantas. Después del trasplante se colocaron las cintas de riego por goteo y se realizó la aplicación de los nutrimentos requeridos durante el periodo de cultivo, en cada invernadero (Cuadro 7.1).

Cuadro 7.1. Concentraciones de nutrimentos aplicados en los sistemas de riego en las diferentes localidades del Municipio de Aquixtla, Puebla.

Nutrimentos kg.ha ⁻¹	Localidad			
	La Loma	Aquixtla	Cuautieco	Tlaltempa
N	259.40	213.70	270.60	193.10
P	199.70	81.90	248.88	106.93
K	471.21	421.50	486.20	247.40
Ca	74.40	260.03	264.88	153.33
S	93.50	132.60	91.80	58.95
Mg	83.10	98.60	19.35	28.53

N, P y K son considerados a partir de los productos oxidados NO₃, P₂O₅ y K₂O.

Muestreo y Análisis de Suelo

Se determinó el contenido de materia orgánica para lo cual se tomaron cuatro muestras compuestas de suelo en tres secciones diferentes de cada invernadero: entrada (E), centro (C) y parte posterior (P).

Se obtuvo el contenido de carbono orgánico y los resultados se expresaron como porcentaje de materia orgánica, de acuerdo con la fórmula: % Materia Orgánica = % C orgánico x 1.724, como lo establece la NOM-021-SEMARNAT 2000.

Material vegetal

Los frutos se colectaron durante la cosecha de invierno (Noviembre 2007), en las cuatro localidades y en las tres secciones antes mencionadas. Se consideró un muestreo completamente aleatorio en tres estados de madurez: 0%, 50% y 100% con cuatro repeticiones. Los estadios de madurez fueron seleccionados de acuerdo con la carta de color de la USDA (USDA, 1991) y corresponden a la siguiente evaluación visual de color: 0% (verde maduro), 50% (rosado) y 100% (rojo claro). Las variedades y tipos de jitomate que se colectaron en cada comunidad, fueron: “Reserva” tipo saladette en La Loma y Aquixtla, “Charleston” tipo bola en Cuautieco y “7705” tipo saladette en Tlaltempa. Los frutos se transportaron en el mismo día bajo condiciones de refrigeración (12°C) para realizarles los análisis correspondientes.

Mediciones de pH, °Brix (sólidos solubles totales) y acidez titulable

Las mediciones se realizaron en jugo extraído a partir de 10 g de fruto en los diferentes grados de madurez. La lectura del pH se realizó con un potenciómetro WPA-CD310 y los °Brix con un refractómetro digital ATAGO 3840. Los °Brix fueron expresados como porcentaje (%) de sólidos solubles totales. La acidez titulable se determinó por titulación con NaOH al 0.1 N hasta alcanzar un pH de 8.1 y se expresó como equivalentes de ácido cítrico (% p/v).

Contenido de azúcares totales

Se utilizó el método de Antrona de acuerdo con (Montreuil *et al.*, 1997) con modificaciones para un micro método. Se realizaron tres extracciones sucesivas de un 1 g de tejido con 5 mL de etanol al 80% en baño maría con temperatura de ebullición. Las determinaciones colorimétricas se detectaron a una absorbancia de 625 nm y se utilizó glucosa como estándar. Los contenidos de azúcares fueron expresados en $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de Peso Fresco (PF).

Contenido de ácido ascórbico total

Se realizó por el método descrito por Foyer *et al.* (1983) con modificaciones basadas en el método de Kampfenkel *et al.* (1995). Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV/VIS JENWAY UV-S2000. La diferencia entre la absorbancia inicial y final indicaron el contenido de ácido ascórbico total, los resultados se expresaron como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF.

Concentración de licopeno

Se utilizó el método espectrofotométrico propuesto por Sadler *et al.* (1990) con modificaciones descritas por Fish *et al.* (2002). La extracción del licopeno se hizo con 0.5 ± 0.01 g de muestra en 5 mL de hidroxitolueno butilado (BHT, Sigma W218405), acetona al 0.05% (p/v), 5 mL de etanol al 95% y 10 mL de hexano. La absorbancia del sobrenadante se leyó a una longitud de onda de 503 nm, con un espectrofotómetro JENWAY UV-S2000. Los resultados fueron expresados como $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de tejido.

Contenido de Clorofila y Carotenoides Totales

Para la determinación de clorofila y carotenoides totales, se realizaron extractos con acetona al 80% (v/v). La concentración de cada pigmento se determinó de acuerdo a Lichtenthaler y Wellburn (1985) y se expresaron en $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$.

Diseño experimental y análisis estadístico

Los resultados obtenidos de los parámetros de calidad y composición de bioactivos fueron analizados bajo un diseño experimental completamente al azar teniendo como factores: localidades (La Loma, Aquixtla, Cuautieco y Tlaltempa), grado de madurez de los frutos (0%, 50% y 100%) y secciones de colecta en los invernaderos (entrada, centro y parte posterior). Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) con el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS), versión 6.12 (SAS Institute, 1988) considerando un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. Para comparación de medias se aplicó la prueba de Tukey, considerando el mismo nivel de significancia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Existen evidencias de que el manejo agronómico y el grado de madurez del jitomate cultivado en invernadero pueden influir positivamente en la calidad del fruto (Ghebbi Si Mail *et al.*, 2007), además de incrementar los contenidos de carotenoides y licopeno (Cortés y Saavedra Del Real, 2007).

Parámetros de calidad del fruto

Para el análisis de los parámetros de calidad (pH, °Brix y acidez titulable) de los frutos de jitomate se consideraron las medias de dos grados de madurez (50% y 100%), debido a que estos son las medidas de mayor importancia para la comercialización del fruto. En general los datos obtenidos corresponden a los parámetros de calidad citados para frutos de jitomate (Dadomo *et al.*, 1994 y Rodríguez *et al.*, 2008). En los valores de pH obtenidos no se observó un efecto significativo de la localidad entre frutos de un mismo grado de madurez, siendo la localidad de la Loma con frutos del 50% y 100% de madurez de la variedad Reserva, los que presentaron los valores de pH más altos (4.33 y 4.11) (Cuadro 7.2). Juroszek *et al.* (2009) consideraron que aunque existan variaciones entre prácticas de cultivo, condiciones ambientales y temporadas de cosecha, estos factores no influyen significativamente sobre el pH del fruto.

Mientras que los sólidos solubles totales obtenidos permanecieron en el intervalo de 3.17 a 4.41 y se presentaron diferencias significativas entre invernaderos y grados de madurez ($P < 0.01$), (Cuadro 7.2). En la acidez titulable se observó un efecto significativo en frutos de distintos grados de madurez, mostrando los valores más altos la localidad de la Loma (AT=0.73) (Cuadro 7.2). Sólo los valores obtenidos de acidez titulable de la localidad de Aquixtla con grados de madurez de 50 y 100%, se encontraron muy cercanos a los reportados (0.32 a 0.40) cuyas variaciones por grado de madurez concuerda con lo indicado por García *et al.* (2006), quienes consideran que el grado de madurez y acidez titulable están relacionados con la calidad y percepción sensorial del jitomate.

Cuadro 7.2. Valores de pH, acidez titulable y °Brix de frutos de jitomate con diferentes grados de madurez en localidades del Municipio de Aquixtla, Puebla.

Localidad (L)	Grado de Madurez (GM)	pH	°Brix	AT (% de ácido cítrico)
Aquixtla	50%	3.91±0.21	3.07±0.11	0.48±0.05
	100%	4.06±0.07	3.27±0.18	0.49±0.03
Cuautieco	50%	4.07±0.48	3.37±0.11	0.41±0.02
	100%	3.82±0.03	4.85±0.17	0.63±0.03
Tlaltempa	50%	3.96±0.08	4.07±0.35	0.53±0.04
	100%	4.18±0.31	4.15±0.30	0.59±0.04
La Loma	50%	4.33±0.49	4.32±0.33	0.64±0.01
	100%	4.11±0.69	4.47±0.36	0.73±0.06
		Valores de cuadrados medios		
GM		0.054 ns	0.0611 **	2.730 **
L		0.050 ns	0.0612 *	2.000 **
GM*L		0.225 ns	0.0179 *	0.312 *

Las medias del pH, acidez titulable y °Brix son valores promedio de cuatro repeticiones de cada grado de madurez. ns= no significativo, * = $P \leq 0.05$ y ** = $P \leq 0.01$.

Contenidos de azúcares totales

Los contenidos de azúcares presentaron diferencia significativa entre invernaderos ($P < 0.01$), siendo los frutos de la localidad de Cuautieco los que tuvieron los mayores contenidos con valores de 4.70, 4.77 y 5.08 $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$ con 0%, 50% y 100% de madurez respectivamente (Figura 7.1). Barajas (2003) considera que en las primeras etapas de desarrollo del fruto (verde maduro) este tiende a acumular almidón, el cual se vuelve un contribuyente importante en la cantidad de azúcares en estadios de mayor madurez. Mientras que la acumulación de azúcares en frutos maduros puede explicarse como consecuencia de la reducción de los requerimientos energéticos y las actividades metabólicas. De acuerdo con Lojudice *et al.* (1995), los monosacáridos más abundantes en el jitomate corresponden a la fructosa (25%) y la glucosa (22%).

También se sabe que estos compuestos y en menor cantidad, los ácidos orgánicos como málico y cítrico, determinan el sabor del fruto del jitomate (Davies *et al.*, 1981). No se detectó un efecto significativo entre los contenidos de azúcares provenientes de frutos colectados en distintas secciones de los invernaderos ($P = 0.6055$). Sin embargo, la interacción Invernadero*Sección sí fue significativa ($P < 0.01$), donde particularmente los frutos provenientes de la localidad de La Loma fueron los que tuvieron los contenidos menores de azúcares en los tres sitios de muestreo (Figura 7.1A). Mientras que la localidad de Cuautieco presentó los mayores contenidos en frutos colectados en la entrada y parte posterior del invernadero (5.96 y 5.01 $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$) (Figura 7.1A), que corresponden a la variedad Charleston tipo bola, los cuales fueron más altos en comparación a los reportados por Melkamu *et al.* (2008), cuyos valores fueron cercanos a 3.44 $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$ correspondientes a la variedad Marglobe también tipo bola y cultivados en invernadero.

Los contenidos altos de azúcares en jitomates como los obtenidos en la localidad de Cuautieco, representan una ventaja de estos productos en el mercado ya que favorecen la aceptación por parte del consumidor. Esta afirmación concuerda con lo encontrado por Yilmaz *et al.* (2001) quienes demostraron que frutos de jitomate que incrementaron sus contenidos de azúcares a valores cercanos a 4.7 $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$, presentaron una mayor aceptabilidad. Mientras que Lactatus *et al.* (1994) reportan que la nutrición de K y P tiene un efecto positivo sobre el contenido de azúcares en los frutos de jitomate, lo cual concuerda con lo encontrado en la localidad de Cuautieco donde las aplicaciones más altas de K y P (Cuadro 7.1) reflejaron mayores contenidos de azúcares totales.

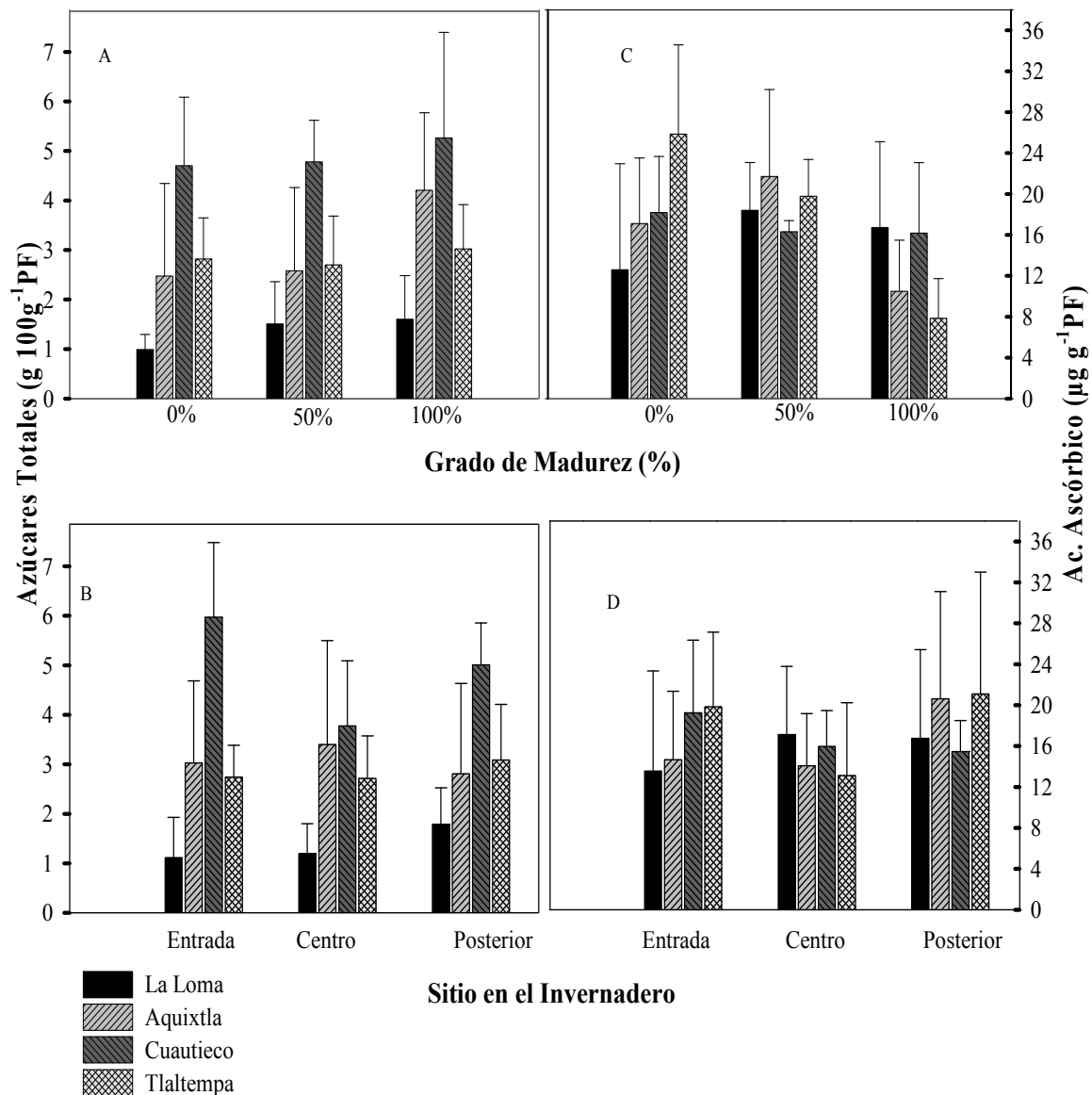


Figura 7.1. Contenido de azúcares totales en frutos de jitomate con: A) 0%, 50% y 100% de madurez y B) Frutos de jitomate colectados en tres partes dentro del invernadero. Contenido de ácido ascórbico en frutos de jitomate con: C) 0%, 50% y 100% de madurez y D) Frutos de jitomate colectados en tres partes dentro del invernadero.

Composición de compuestos bioactivos

Contenido de ácido ascórbico total

En general, se observó un efecto significativo del grado de madurez sobre los contenidos de ácido ascórbico total ($P < 0.01$), donde los valores más altos se presentaron en frutos con 0% y 50% de madurez de las localidades de Aquixtla y Tlaltempa (21.70 y $25.83 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF) respectivamente. Mientras que los contenidos en frutos con 100% de madurez disminuyeron a valores de 10.48 y $7.84 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF en las mismas localidades (Figura 7.1C). Estos resultados pueden compararse con los obtenidos por Juroszek *et al.* (2009), quienes reportaron contenidos más altos de ácido ascórbico de 11.8 a $28.6 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF, en frutos cultivados en condiciones de invernadero con sistema hidropónico. Las diferencias entre los contenidos por grados de madurez es considerado también por Raffo *et al.* (2002), quienes mencionan que el ácido ascórbico puede verse afectado por diversos factores previos a la recolección, como el grado de madurez del fruto, donde los contenidos más elevados se presentan en los estadios intermedios de la maduración. También la ubicación de los frutos en el invernadero tuvo un efecto significativo en los contenidos de ácido ascórbico ($P \leq 0.05$). Los contenidos más altos se presentaron en la parte posterior de los invernaderos en las localidades de Aquixtla y Tlaltempa (20.62 y $21.07 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF) (Figura 7.1D). Las diferencias presentadas en los contenidos de ácido ascórbico por su ubicación en el invernadero pueden relacionarse particularmente con la incidencia de luz sobre los frutos, siendo las secciones posteriores de los invernaderos las que se encontraban más expuestas a la luz. A este respecto, Dumas *et al.* (2003) señalaron que al haber una mayor exposición de luz sobre los frutos se favorece la acumulación del ácido ascórbico.

Contenidos de clorofilas, carotenoides totales y licopeno

Las clorofilas y los carotenoides son pigmentos que se sintetizan de acuerdo con el proceso de maduración del jitomate. Durante el proceso los carotenoides totales se incrementan con una asociada disminución de clorofilas (Fraser *et al.*, 1994). Esta tendencia de acumulación o disminución de los componentes químicos se observó en los diferentes estadios de maduración del fruto y en los invernaderos de todas las localidades evaluadas. Específicamente, se detectaron efectos significativos sobre los contenidos de clorofila total por la ubicación de los frutos en los invernaderos y por grado de madurez ($P < .01$). Registrándose los valores más altos con frutos de 0% de madurez provenientes de las localidades de Aquixtla y Cuautieco, (10.91 y $10.74 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF) respectivamente, colectados de plantas de la entrada los invernaderos (Figura 7.2 A). La diferencia por grado de madurez es mencionada por Chamarro (1995), quien consideró que la presencia de pigmentos clorofilicos en la epidermis de los frutos representan el primer signo visual del inicio de maduración, mientras que en estadios avanzados de madurez se encuentran cantidades mínimas de clorofila, presentes solamente en algunos tejidos internos del fruto los cuales son difícilmente medibles.

Este comportamiento fue observado en frutos con 100% de madurez, los cuales presentaron contenidos mínimos de clorofila en todos los invernaderos bajo estudio, específicamente no se detectaron contenidos clorofílicos en los frutos de la localidad de Aquixtla.

En los contenidos de carotenoides totales, se observó a parte del efecto significativo por grado de madurez el efecto por invernaderos y por secciones de colección de los frutos ($P < 0.01$). Siendo la parte posterior de los invernaderos y frutos del 100% de madurez los que presentaron mayores contenidos. Particularmente la localidad de Tlaltempa con la variedad “7705” tipo saladette destacó por tener frutos con contenidos de $7.94 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF provenientes de frutos colectados en la parte posterior del invernadero y con 100% de madurez (Figura 7.2 B).

El jitomate es considerado el principal contribuidor de licopeno en la dieta, cuyas propiedades bioactivas han tomado una gran importancia en la actualidad, además de ser el pigmento principal del fruto maduro (Brandt *et al.*, 2009). Leonardi *et al.* (2000) señalaron que además de las variaciones por grado de madurez, existen otros factores como las condiciones de manejo que influyen en los contenidos de licopeno de jitomate cultivado en invernadero, cuyos contenidos se encontraron entre 5.2 y $23.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. En esta investigación los frutos de jitomate incrementaron sus contenidos de acuerdo al grado de madurez, así los contenidos más altos se obtuvieron en frutos con 100% de madurez pertenecientes a las localidades Cuautieco y Tlaltempa (9.94 y $19.41 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) colectados en la entrada de cada invernadero, mientras que para las localidades de la Loma y Aquixtla los contenidos mayores se presentaron en la parte posterior (40.83 y $14.52 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), ambos contenidos correspondientes a la variedad Reserva. En el Cuadro 7.3 se puede observar que el contenido licopeno en los invernaderos está asociado con el porcentaje de materia orgánica encontrada en los suelos de los invernaderos, donde valores más bajos de MO con llevan a menores contenidos de licopeno. Se presentaron diferencias significativas en los %MO de los suelos, entre y dentro de un mismo invernadero ($P=0.04$), particularmente en las localidades de Tlaltempa, Aquixtla y La Loma. Lo anterior implica la falta de homogenización en las prácticas de cultivo previas al trasplante en los sistemas de producción. Cabe mencionar que esta tendencia no fue observada en la localidad de Cuautieco que presentó %MO similares (31-39%) en todo el invernadero (Cuadro 7.3). De igual forma pueden relacionarse que mayores dosis de los nutrimentos K y P aplicados en el sistema de riego incrementan el contenido de carotenoides totales y licopeno en jitomate (Mikkelsen, 2005). En esta investigación fue la localidad de Cuautieco y La Loma las que aplicaron los contenidos más altos de los nutrimentos durante el periodo de cultivo, donde específicamente la localidad La Loma presentó los valores mayores de licopeno (Cuadros 7.1 y 7.3).

Cuadro 7.3. Contenidos de licopeno en jitomates con 100% de madurez provenientes de las diferentes localidades y su relación con la materia orgánica presente en los invernaderos. V1 (variedad *Reserva*), V2 (variedad *Charleston*) y V3 (variedad 7705).

Localidad	Ubicación	%MO	Licopeno (mg·kg⁻¹PF)
Aquixtla (V1)	E	1.68	12.75±0.30 ba
	C	1.47	6.38±0.55 c
	P	3.77	19.41±0.73 a
La Loma (V1)	E	1.89	13.49±0.69 b
	C	0.83	10.64±0.35 cb
	P	3.98	40.84±0.83 a
Cuautieco (V2)	E	3.91	9.94±0.62 a
	C	3.98	7.88±0.77 a
	P	3.14	7.22±0.64 a
Tlaltempa (V3)	E	2.09	16.54±0.85 a
	C	1.77	12.79±0.86 a
	P	1.47	12.05±0.74 a

Medias con letras iguales no son estadísticamente diferentes dentro de un mismo invernadero (Tukey, 0.05). E = entrada; C = centro; P = posterior. %MO= porcentaje de materia orgánica.

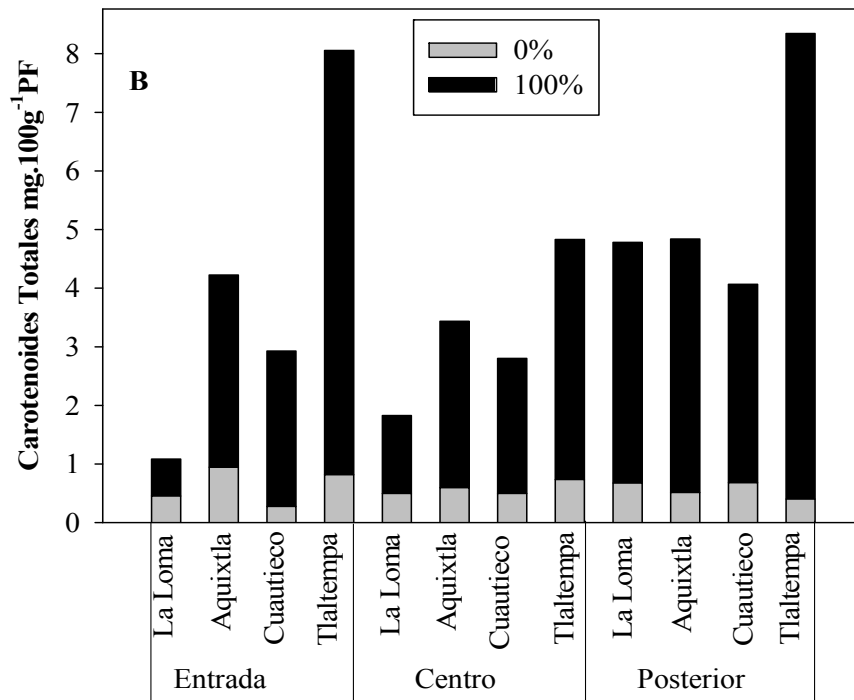
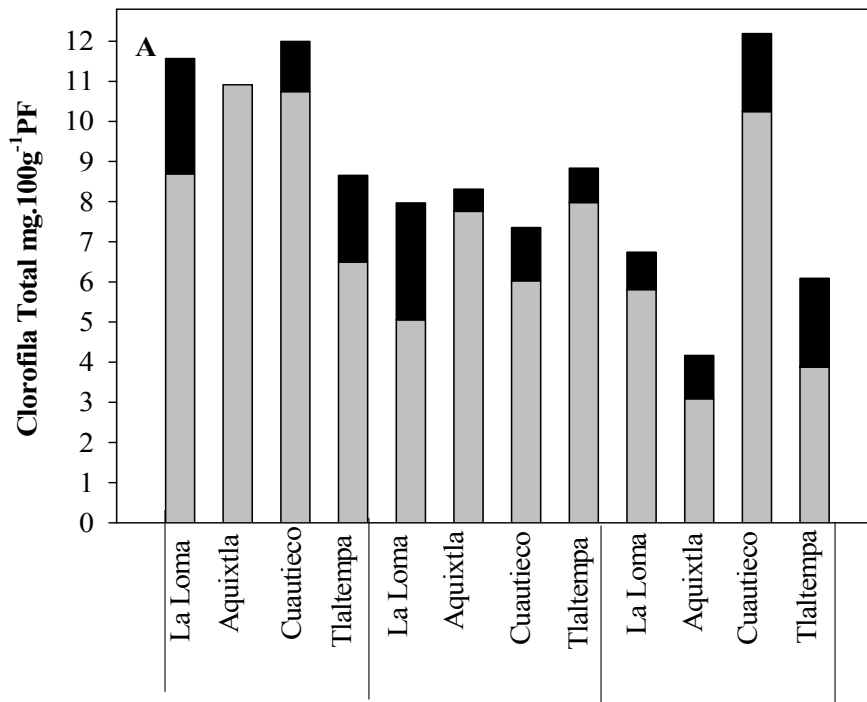


Figura 7.2. Contenidos de A) clorofila total y B) carotenoides totales en frutos de jitomate de 0% y 100% de madurez recolectados en diferentes sitios dentro de los invernaderos.

CONCLUSIÓN

Los resultados muestran claras diferencias en la calidad y composición química de los frutos de jitomate, al considerar diferentes grados de madurez, procedencia con respecto a la localidad y secciones de muestreo dentro del invernadero, aún cuando todos los invernaderos estudiados utilizan el sistema de fertirrigación. Los contenidos de azúcares en general fueron altos en comparación con los reportados en frutos cultivados en invernadero, donde destaca la variedad Charleston de jitomate tipo bola de la localidad de Cuautieco. En esta misma localidad se hicieron las aplicaciones más altas de potasio y fosforo las cuales a parte de la variedad se relacionan con contenidos altos de azúcares totales en los frutos. Los contenidos de los compuestos bioactivos (ácido ascórbico, clorofila total, carotenoides totales y licopeno) variaron significativamente entre invernaderos y secciones de colección dentro de los mismos invernaderos. Los contenidos de licopeno estuvieron asociados con los porcentajes de materia orgánica presentes en los suelos de los invernaderos.

BIBLIOGRAFÍA

- Abushita A. A., Daood H. G., Biacs P. A., 2000, Change in Carotenoids and Antioxidant Vitamins in Tomato as a Function of Varietal and Technological Factors, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2075-2081.
- Barajas E. M., 2003, Análisis en la acumulación de azúcares en pericarpios de dos genotipos silvestres de jitomate (*Lycopersicum esculentum*), *Revista Agrociencia* 37: 363-370.
- Binoy G., Charanjit K., Khurdiya D. S., Kapoor H. C., 2004, Antioxidants in tomato (*Lycopersicum esculentum*) as a function of genotype, *Food Chemistry*. 84: 45-51.
- Brandt S., Pek Z., Barna E., 2006, Lycopene content and colour of ripening tomatoes as affected by environmental conditions, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 568-572.
- Bramley P. M., 2002, Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development, *Journal of Experimental Botany*. 53: 2107-2113.
- Cortés G. V., Saavedra del Real G., 2007, Algunos efectos de la Salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo, *Idesia*. 25:47-58.
- Dadomo M., Leoni S., Rodriguez A., Koutos T., Macua J. I., Taborda M. L., Portas C M., Gandolfi G., 1994, Main results of the EEC Research Programme action C. Variability in relation with cultivar and country, *Acta Horticulturae*. 376: 43-50.
- Davies J. N., Hobson G. E., 1981, The constituents of tomato fruit: The influence of environment, nutrition and genotype, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 15: 205-280.

- Dumas Y., Dadomo M., Lucca G., Grolier P., 2003, Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83: 369-382.
- Fish W., Perkins V. P., Collins J., 2002, A Quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents, *Journal of Food Composition and Analysis*. 15:309-317.
- Foyer C. H., Rowell J., Walker D., 1983, Measurements of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination, *Planta*.157: 239-244.
- Fraser P. D., Truesdale M. R., Bird C. R., Schuch W., Bramley P. M., 1994, Carotenoid Biosynthesis during Tomato Fruit Development, *Journal of Plant Physiology*.105: 405-413.
- Garcia E., Barrett D. M., 2006, Evaluation of processing tomatoes from two consecutive growing seasons: quality attributes, peelability and yield, *Journal of Food Processing and Preservation*. 30: 20-36.
- Ghebbi Si-Mail K., Bellal M., Halladj F., 2007, Effect of potassium supply on the behavior of two processing tomato cultivars and on the changes of fruit technological characteristics, *Acta Horticulturae*.758: 269-274.
- INEGI Puebla, 2008, Superficies sembradas y cosechadas por tipo de cultivo, principales cultivos y municipios según disponibilidad de agua *In: Anuario estadístico del estado de Puebla, Año agrícola: 2007, Tomo III, Puebla, México*. pp: 1384-1395
- Juroszek P., Lumpkin H. M., Yang R. Y., Ledesma D. R., Ma C. H., 2009, Fruit quality and bioactive compounds with antioxidant activity of tomatoes grown on-farm: comparison of organic and conventional management systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 1188-1194.
- Kampfenkel K., Van Montagu M., Inzé D., 1995, Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue, *Analytical Biochemistry*. 225:165–167.
- Lactatus V. C., Boetex M., Chelu R., Mirghis R., Voican V., 1994, The influence of organic and mineral fertilizers on tomato quality for processing, *Acta Horticulturae*. 276: 329-332.
- Leonardi C., Ambrosino P., Esposito F., Fogliano V., 2000, Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 4723-4727.
- Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R., 1985, Determinations of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf extracts in different solvents, *Biochemical Society Transactions*. 603: 591-592.
- Loiudice R. M., Impembo B. L., Villari G., Lo Voi A., Siviero P., Castaldo D., 1995, Composition of San Marzano tomato varieties, *Food Chemistry*. 5: 81-89.
- Mikkelsen R. L., 2005, Sabor del tomate y la nutrición de la planta. *Informaciones Agronómicas* 59: 12-14.

- Montreuil J., Spik G., Fournet B., Toillier T., 1997, Nonenzymatic determinations of carbohydrates *In: Analysis of Food Constituents*. J L Multon (ed), Wiley-VCH Inc. New York, USA. pp: 112-114
- NOM-021-SEMARNAT 2000, 2002, Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT 2000, Especificaciones de Fertilidad, Salinidad y Clasificación de Suelos, Estudio, Muestreo y Análisis. <http://www.semarnat.gob.mx/leyesy normas/Normas%20Oficiales%20Mexicanas%20vigentes/NOM-021-REC NAT-2000.pdf>, consultada octubre de 2009.
- Raffo A., Leonardi C., Fogliano V., Ambrosino P., Salucci M., Gennaro L., Burgianesi R., Quaglia G., 2002, Nutritional value of Cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* C.v. Naomi F1) harvested at different ripening stages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6550-6556.
- Rodríguez D. N., Cano R. P., Figueroa V. U., Palomo G. A., Favela C., Álvarez R. V. P., Márquez H. C., Moreno R. A., 2008, Producción de tomate en invernadero con humus de lombriz como sustrato. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 31: 265-272.
- Sadler G., Davis J., Dezman D., 1990, Rapid Extraction of Lycopene and β -carotene from reconstituted Tomato Paste and Pink Grape-fruit Homogenates, *Journal of Food Science*. 55: 1460-1461.
- SAGARPA, 2008, Inventarios de Invernaderos Estado de Puebla. <http://www.oeidrus-puebla.gob.mx/RID.pdf>, consultada enero de 2010.
- USDA, 1991, United States Standards for Grades of Fresh Tomatoes, <http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/standards>, consultada febrero de 2011.
- Willcox J. K., Catignani G. L., Lazarus S., 2003, Tomatoes and cardiovascular health, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43:1-8.
- Yilmaz E., Tandon K. S., Scott J. W., Baldwin E. A., Shewfelt R. L., 2001, Absence of a clear relationship between lipid pathway enzymes and volatile compounds in fresh tomatoes, *Journal of Plant Physiology*. 158: 1111–1116.
- Zambrano J., Moya J., Pacheco L., 1995, Efecto del estado de madurez en la composición y calidad de frutos de tomate, *Revista Agronomía Tropical*. 46:61-72.

VIII. CAPÍTULO V

DIVERSIDAD DE LA MICROBIOTA PRESENTE EN JITOMATE (*Lycopersicum esculentum* Mill) Y SUELO EN RELACIÓN CON LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FRUTO

DIVERSITY OF THE MICROBIOTA PRESENT ON TOMATO (*Lycopersicum esculentum* Mill) AND SOIL IN RELATION TO FRUIT CHEMICAL COMPOSITION

RESUMEN

El Municipio de Aquixtla destaca por ser una de las principales regiones productoras de jitomate en agricultura protegida en el Estado de Puebla, donde se cultiva principalmente en invernaderos de fertiirrigación. Sin embargo, no existe información acerca de la calidad microbiológica y composición química del suelo y de los frutos cultivados en la región. La inocuidad del cultivo de vegetales crudos como el jitomate, depende de la microbiota presente conformada por microorganismos nativos y patógenos. La presente investigación tuvo como objetivo determinar la diversidad de bacterias enteropatógenas presentes en suelo y jitomate y su relación con la composición química de los frutos. Se analizaron los porcentajes de materia orgánica (%MO) de 12 muestras de suelo y la composición química de 162 frutos de jitomate colectados en tres secciones diferentes del invernadero y con tres estadios de madurez: 0, 50 y 100%. Para la composición química de los frutos se evaluaron los contenidos de azúcares totales, ácido ascórbico y licopeno. Asimismo se aisló e identificó la microbiota presente en suelo y fruto a partir de la cual se calcularon los índices de diversidad (Simpson (D) y Shannon-Wiener (H'), además del estimador de Chao(S_{Chao1}). Los %MO se correlacionaron significativamente con H' que representa mayor abundancia por los géneros *Enterobacter cloacae* y *Escherichia coli* enteropatógena. Los valores de $S_{(Chao)1}$ fueron mayores en jitomate en comparación con los de suelo, siendo las especies aisladas con mayor frecuencia: *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter brakii*, *Escherichia coli* enterotoxigénica y *Shigella boydii*. Las mejores correlaciones entre compuestos bioactivos e índices de diversidad, se mostraron con los contenidos de ácido ascórbico y licopeno con los índices de H' y D, respectivamente. Los mayores contenidos de azúcares se presentaron en frutos maduros en los cuales también se aisló *E.coli*, lo que sugiere que la bacteria está utilizando como sustrato algunos de los azúcares presentes en el fruto.

Palabras clave: *Lycopersicum esculentum* Mill, bacterias, *composición química*, *frutos*, *índices de diversidad*, *suelo*.

ABSTRACT

The municipality of Aquixtla stands out for being one of the major tomato-producing regions under protected agriculture in the State of Puebla, where is growing mainly in fertirrigation greenhouses. However there is no information about the microbiological quality, and chemical composition of soil and locally grown fruits. The safety of raw vegetable crop such as tomato depends on the presence of the microbiota, consisting of native and pathogens microorganisms. This research aimed to determine the diversity of enteropathogenic bacteria present in soil and tomato, and its relationship to the chemical composition of fruits. Were analyzed the percentages of organic matter (% OM) of 12 soil samples and 162 chemical composition of tomato fruits collected in three different greenhouse sections, and with three developmental stages: 0%, 50% and 100%. To the chemical composition of the fruits were evaluated the contents of total sugars, ascorbic acid and lycopene. It was also isolated and identified the microbiota present in soil and fruit from which were calculated diversity index (Simpson (D) and Shannon-Wiener (H') and the Chao estimator (SChao1). The % MO were significantly correlated with H' showing a greater abundance of genera *Escherichia coli* enterotoxigenic and *Enterobacter cloacae*. S (Chao) 1 values were higher in tomato compared with the soil being the most frequently isolated species: *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter brakii*, *Escherichia coli* enterotoxigenic and *Shigella boydii*. The best correlation between bioactive compounds and diversity indices were the contents of ascorbic acid and lycopene with H and D index, respectively. Finally there was a relation between the highest sugar contents in ripe fruits and the isolating of *E. coli*, suggesting that the bacterium uses some of the sugars present in the fruit as substrates.

Key words: *Lycopersicon esculentum* Mill, *bacteria*, *chemical composition*, *diversity indices*, *fruit*, *soil*.

INTRODUCCIÓN

La importancia del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) se reconoce por ser la primera fuente de licopeno, tercera de vitamina C y cuarta de vitamina A y flavonoides (Leonardi *et al.*, 2000; Willcox *et al.*, 2003). Actualmente a estos compuestos se le considera como “bioactivos”, cuyas propiedades antioxidantes se encuentran asociadas con la prevención de enfermedades de tipo carcinogénicas y cardiovasculares (Juroszek *et al.*, 2009). Sin embargo, asociado a estos atributos alimenticios del jitomate se encuentran las especificaciones relacionadas con su inocuidad, la cual depende de la microbiota presente. Cuando se desea analizar la microbiota, es importante conocer el contexto ambiental y las especies con las que coexiste y en muchos casos de las que depende (Begon *et al.*, 1990). Entre los microorganismos más comunes en los vegetales crudos (VC) se encuentran los bacilos Gram negativos aerobios como Enterobacter (*E. aerogenes*, *E. cloacae*, *E. agglomerans*) y Citrobacter (*C. freundii*, *C. braakii*), así como los microorganismos patógenos *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella sp*, los cuales se encuentran relacionados con múltiples enfermedades relacionadas por la ingesta de VC (Escartín, 2000). Las condiciones de manejo así como las condiciones ambientales prevalecientes en los sistemas de producción, determinan la sobrevivencia de ciertas poblaciones microbianas (Kalia y Gupta, 2006).

En el estado de Puebla, para incrementar la calidad del jitomate se han implementado sistemas productivos bajo agricultura protegida en invernaderos de hidroponía y fertirrigación, los cuales estimulan y controlan el desarrollo vegetal (Ucan *et al.*, 2005; García *et al.*, 2009). Sin embargo, estos sistemas no se encuentran exentos de fuentes de contaminación que propicien el crecimiento de las poblaciones microbianas, capaces de sobrevivir a las diferentes condiciones ambientales y prácticas de cultivo. Dentro de los factores que se consideran de riesgo de calidad microbiológica de los productos frescos se encuentran: el agua de riego y suelos contaminados, procesos inadecuados en el cultivo, prácticas deficientes de desinfección, condiciones inapropiadas durante el empaque, almacenamiento y transporte, higiene deficiente de los trabajadores, entre otros (Beuchat, 2002; Iturriaga *et al.*, 2007).

Con base en lo anterior la presente investigación, tuvo por objetivo determinar la diversidad de bacterias enteropatógenas presentes en suelo y jitomate con diferentes grados de madurez y su relación con la composición química de los frutos. Lo anterior permitirá conocer la microbiota presente en los diferentes sistemas de cultivo bajo fertirrigación en relación con la calidad química de los frutos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción del área de estudio y manejo agronómico

El estudio se realizó en tres invernaderos de fertirrigación ubicados en las localidades de La Loma, Aquixtla y Cuautieco del Municipio de Aquixtla, Puebla, durante el ciclo Otoño-Invierno del 2007. Los invernaderos fueron tipo microtúnel, cuya superficie varió entre 1000 y 1500 m², con altura de 6 m, cubierta de plástico calibre 720 y ventilación lateral.

La fertilización inicial de los invernaderos consistió en la incorporación de abono orgánico principalmente estiércol crudo, el cual se aplicó entre 2 y 3 toneladas por 1000m². Esta labor es realizada previamente a la hechura de las camas de siembra y colocación de los sistemas de riego.

Las variedades y tipos de jitomate cultivados fueron la variedad “Reserva” tipo saladette en La Loma y Aquixtla y “Charleston” tipo bola en Cuautieco.

Muestreos de suelo y frutos

Las muestras de suelo y frutos se obtuvieron de un muestreo completamente aleatorio considerando tres secciones diferentes de cada invernadero: entrada (E), centro (C) y parte posterior (P) con tres repeticiones. Se obtuvieron un total 12 muestras compuestas de suelo a una profundidad de 30 cm considerando cuatro puntos cardinales. Se colectaron 162 frutos de jitomate a partir de 15 plantas marcadas, ubicadas en las mismas secciones del invernadero donde fueron muestreados los suelos. Los frutos fueron seleccionados de acuerdo con tres estados de madurez de acuerdo a la carta de color de la USDA: 0% (verde maduro), 50% (rosado) y 100% (rojo claro) (USDA, 1991). Las muestras fueron colectadas en bolsas de plástico estériles y transportadas en condiciones de refrigeración (12°C), para realizarles los análisis correspondientes dentro de las 24 h posteriores al muestreo.

Composición química y caracterización microbiológica del suelo

A las muestras de suelo se les determinó el contenido de carbono orgánico de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana 021 (NOM-021-SEMARNAT 2000), expresado como porcentaje de materia orgánica (%MO), con base a la siguiente expresión:

$$\% \text{ MO} = \% \text{ C orgánico} \times 1.724$$

Adicionalmente se identificó la microbiota presente utilizando medios enriquecidos, selectivos y diferenciales para enterobacterias (McConkey, Salmonella-Shigella, Verde Brillante y Xilosa-Lisina-Desoxicolato). Se seleccionaron las morfologías coloniales y se realizaron pruebas bioquímicas tradicionales, las cuales fueron confirmadas por el método VITEK que se basa en los porcentajes de probabilidades asociadas con la identificación bioquímica de un microorganismo.

Para la identificación de los serotipos de *E. coli* se utilizaron los antisueros somáticos y flagelares, adicionalmente se realizaron las identificaciones de patogrupos utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Caracterización bioquímica y microbiológica del fruto de jitomate

Contenido de azúcares totales. Se realizaron tres extracciones sucesivas de un 1 g de tejido con 5 mL de etanol al 80% en baño maría con temperatura de ebullición, utilizándose el método colorimétrico de Antrona de acuerdo con Montreuil *et al.* (1997) con modificaciones para un micro-método. Las absorbancias se determinaron a 625 nm y se utilizó glucosa como estándar. Los contenidos de azúcares fueron expresados en $\text{g}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ de Peso Fresco (PF).

Contenido de ácido ascórbico total (vitamina C). Las determinaciones se realizaron por el método espectrofotométrico propuesto por Foyer *et al.* (1983) con modificaciones basadas en el método de Kampfenkel *et al.* (1995). Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV/VIS JENWAY UV-S2000. La diferencia entre la absorbancia inicial y final indicaron el contenido de ácido ascórbico total, los resultados se expresaron como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF.

Concentración de licopeno. La extracción del licopeno se hizo con 0.5 ± 0.01 g de muestra en 5 mL de hidroxitolueno butilado (BHT, Sigma W218405), acetona al 0.05% (p/v), 5 mL de etanol al 95% y 10 mL de hexano. Se utilizó el método espectrofotométrico propuesto por Sadler *et al.* (1990) con modificaciones descritas por Fish *et al.* (2002). La absorbancia del sobrenadante se leyó a una longitud de onda de 503 nm, con un espectrofotómetro UV/VIS JENWAY UV-S2000. Los resultados fueron expresados como $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de tejido.

Para el aislamiento e identificación bioquímica de la microbiota presente en el pericarpio de los frutos con diferentes grados de madurez, se consideró un procedimiento similar al realizado con las muestras de suelo.

Con las especies aisladas en suelo y frutos se calcularon las frecuencias de aislamiento de las especies considerando el total de las enterobacterias presentes en los tres invernaderos.

Definición y cálculo de los índices de diversidad

Una vez aisladas e identificadas las especies de enterobacterias presentes en las muestras de suelo y frutos de jitomate, se prosiguió con el cálculo de los índices de diversidad:

Índices de Simpson (D). Mide la diversidad tomando en cuenta la abundancia y la riqueza, el índice D se calcula a partir de la proporción de individuos de cada especie *i* que contribuyen al total de la muestra (*pi*) (Begon *et al.*, 1986; Hughes *et al.*, 2001).

$$D=1/\sum pi^2$$

Índice de Shannon-Wiener (H'). Mide la distribución de la abundancia de las especies (Shannon y Weaver, 1949) y se calcula a partir de:

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i (\ln p_i)$$

S =	Número de especies
p_i =	Proporción de individuos de la especie i respecto al total
H' =	Índice de diversidad de Shannon-Wiener

Estimador de Chao (S_{Chao1}). Evalúa “la riqueza total” de especies al agregar un factor de corrección al número observado de especies (Chao, 1984; Chao *et al.*, 1992).

$$S_{Chao1} = S_{obs} + (n1^2/n2^2)$$

S_{Chao1} =	Riqueza total de especies
S_{obs} =	Número de especies observadas
$n1$ =	No. de especies observadas i
$n2$ =	No. de especies observadas dos veces

Tratamiento estadístico

Los resultados obtenidos de los índices de diversidad de Shannon (H'), Simpson (D) y el estimador de S_{Chao} obtenidos de la abundancia de las poblaciones microbianas, presentes en frutos y suelos localizados en los tres invernaderos en estudio (La Loma, Cuautieco y Aquixtla), se compararon con las variables de composición química a través del coeficiente de Correlación de Pearson, se consideró un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El manejo así como las condiciones ambientales prevalecientes en los sistemas de producción determinan la sobrevivencia y presencia de ciertas poblaciones microbianas. De ahí que uno de los puntos importantes de este trabajo fue conocer los microorganismos (nativos y enteropatógenos) que sobreviven en suelos y frutos de jitomate pertenecientes a los sistemas de cultivo en invernadero de las localidades de La Loma, Cuautieco y Aquixtla, Puebla, además de identificar que tan diversas son las poblaciones microbianas.

En las Figuras 8.1A y 8.1B se observan las especies de enterobacterias aisladas con mayor frecuencia en suelos y frutos, utilizando condiciones similares, (número de muestras, medio de cultivo, época del año), en tres invernaderos de jitomates.

Específicamente *E. cloacae* y *E. coli* fueron las bacterias más aisladas en muestras provenientes de los suelos del invernadero de la localidad de La Loma, 18.60 y 16.27 %, respectivamente (Figura 8.1A). Los análisis serológicos y de PCR de las cepas de *E. coli* aisladas corresponden al patogrupa enteropatogénico (EPEC) y al serogrupo O82:H8. La presencia y sobrevivencia de *E. coli* (EPEC) de forma extra intestinal, podría explicarse si se considera al suelo como un ecosistema en el cual posiblemente se encuentren los nutrientes en concentraciones adecuadas, además que en el interior del invernadero se genera un ambiente con ciertas condiciones de humedad y temperatura que favorecen su crecimiento. Por otro lado, *Citrobacter* aunque se presentó con menor frecuencia, fue un género que se aisló en los tres invernaderos, específicamente las especies *freundii* y *brakii* se detectaron en frutos con 50% de madurez (frutos con coloración rosada) provenientes de la localidad de Cuautieco (Figura 8.1B).

La alta frecuencia de *E. cloacae* también fue observada en frutos con diferentes grados de madurez, específicamente en frutos con 0% de madurez (frutos verdes maduros) se presentó una frecuencia del 10.1% en los invernaderos de las localidades de la Loma y Cuautieco y 12.7% en la localidad de Aquixtla (Figura 8.1B).

Mientras que los enteropatógenos como *S. boydii* y *E. coli* fueron aislados de frutos con 100% de madurez provenientes de las localidades de Aquixtla y Cuautieco, lo cual es importante ya que estos frutos normalmente se consumen crudos. Cabe mencionar que en fruto se identificó principalmente al patogrupa enterotoxigenico (ETEC) serotipo O74:H10, de *E. coli*.

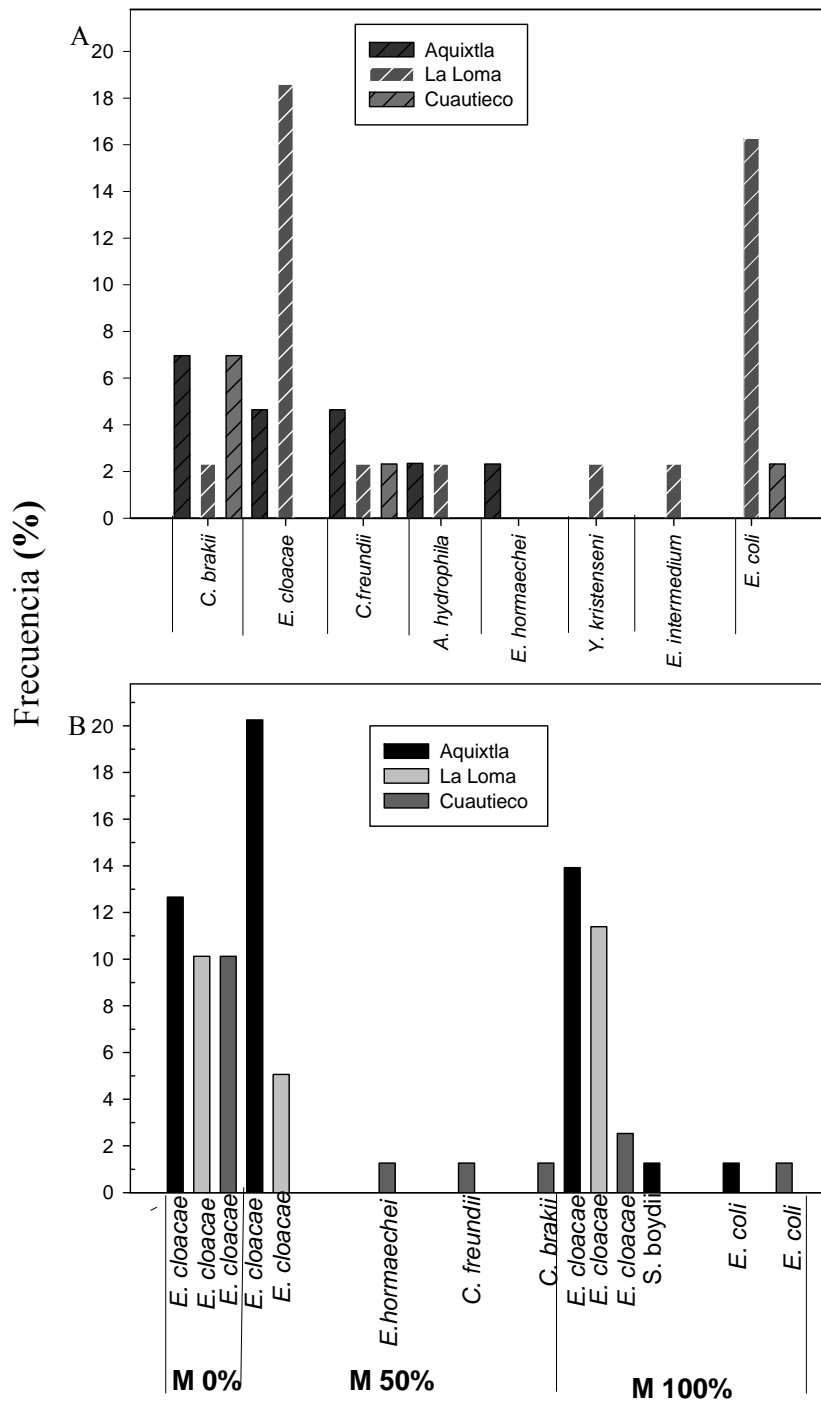


Figura 8.1. Frecuencia de aislamiento de enterobacterias en: **A).** Suelo y **B).** Frutos de jitomate en tres grados de madurez: M 0% (verde maduro), M50%(inicio pintón) y M100% (rojo claro).

Adicionalmente se comparó la diversidad de las poblaciones microbianas pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*, identificadas en suelo y frutos de jitomate, en función de los índices de *Simpson (D)* y *Shannon-Wiener (H')* y el *estimador de Chao1 (SChao1)*. Estos índices son expresiones matemáticas que consideran tres componentes de la estructura de una comunidad: la riqueza (número de especies presentes), equitatividad (uniformidad en la distribución de los individuos entre las especies) y abundancia (número total de organismos presentes) (Yuan *et al.*, 2010). En el Cuadro 8.1 se muestran los índices de diversidad de las poblaciones microbianas aisladas en suelos de cultivo y los %MO, mismos que se correlacionaron de acuerdo con los coeficientes de Pearson. Los valores de r presentaron el siguiente orden: $S_{Chao1} > H' > D$, específicamente se observó que el valor mayor de H' , es decir donde hubo mayor diversidad corresponde al invernadero de la Loma, en el cual también se tuvieron los %MO más altos ($3.67\% \pm 0.46$).

Cuadro 8.1. Índices de diversidad, microbiota y valores medios del %MO analizados en suelo de invernaderos de tres localidades del municipio de Aquixtla, Puebla.

Localidad	Microorganismos	Índices de diversidad			% MO
		H'	D	S _{CHAO1}	
Aquixtla	<i>E. cloacae</i> <i>E. hormaechei</i> <i>C. braakii</i> <i>C. freundii</i> <i>A. hydrophila</i> <i>E. intermedium</i>	1.32	3.55	8.16	2.3±1.27
La Loma	<i>E. cloacae</i> <i>E. coli (EPEC)</i> <i>C. braakii</i> <i>C. freundii</i> <i>E. intermedium</i>	1.55	1.0	15.12	3.67±0.46
Cuatieco	<i>C. braakii</i> <i>C. freundii</i>	0.67	1.0	5.0	2.33±1.60

H: Índice de diversidad de Shannon-Wiener, D: Índice de Simpson, S_{Chao1}: Estimador de Chao y %MO: % de materia orgánica.

Con base en Ibarra *et al.* (2007) valores de 3 a 3.99 % de MO son considerados suelos ricos, mismos que se asocian con una fertilidad adecuada y contribuyen al buen desarrollo y productividad de los cultivos. A este respecto, Mäder *et al.* (2002) encontraron un mayor valor de diversidad (H') en suelos más fértiles, los cuales fueron manejados en sistemas de agricultura orgánica. Es decir una mayor diversidad de especies le confiere una madurez al ecosistema y permite alcanzar un control biológico natural de la microbiota presente en el suelo y en contra de los fitopatógenos (Samaniego y Chew, 2007).

Sin embargo, en los invernaderos estudiados el abono orgánico (estiércol) es aplicado rutinariamente como fertilizante y al parecer contiene enteropatógenos, mismos que han logrado sobrevivir en el suelo y consecuentemente son transmitidos a los jitomates que se están cultivando, algo similar encontraron en suelos contaminados Sela y Fallik (2009).

Los invernaderos de las localidades de Aquixtla y Cuautieco presentaron contenidos muy similares de materia orgánica 2.30 y 2.33 % respectivamente. No obstante, al comparar los índices H', D y el estimador de SChao1 fueron mayores en los suelos de Aquixtla. De estos resultados se percibe que las diferencias presentes entre los índices están asociadas con las variables fisicoquímicas del suelo y condiciones de manejo del cultivo agrícola.

En general los índices H' y D obtenidos en frutos de jitomate fueron menores en comparación con los de suelo, lo que sugiere que las comunidades microbianas presentes en suelo son más diversas en comparación con las de los frutos (Cuadros 8.1 y 8.2), lo cual coincide con lo expuesto por Brown y Bowman (2001). En contraste los valores obtenidos del estimador de SChao₁ fueron mayores en jitomate, pudiéndose relacionar con una mayor abundancia en ciertos organismos de la misma especie (Escalante, 2003), aún en frutos con diferentes grados de madurez (Cuadro 8.2).

Entre las especies más abundantes en los frutos de jitomate se identificaron: *E. cloacae*, *C. freundii*, *C. brakii* y *E. coli*. Las tres primeras especies fueron detectadas en los tres grados de madurez, de ahí que podrían considerarse como parte de la microbiota autóctona del fruto. Las microbiotas nativa y patógena se encuentran interaccionando en la rizósfera mediante un proceso conocido como quórum Sensing, con el cual se propician conversaciones entre poblaciones, reconocimiento de señales y expresión de genes por parte de bacterias y huésped (Bauer *et al.*, 2004)

En el cuadro 8.2 se presentan los índices de diversidad y microbiota y se relacionan con los contenidos de compuestos bioactivos (ácido ascórbico y licopeno) así como azúcares totales presentes en frutos con grado de madurez de consumo. El jitomate destaca como hortaliza por ser una buena fuente de licopeno y de ácido ascórbico (Brandt *et al.*, 2006 y Raffo *et al.*, 2002), además del contenido de azúcares como componentes que determinan el sabor del fruto (Davies *et al.*, 1981). Aunque se realizaron determinaciones de composición química en frutos de jitomate con madurez del 0 y 50% (datos no presentados), en este trabajo se concentran los valores de la composición química de los frutos con madurez del 100%, en relación con la diversidad de la microbiota presente (Cuadro 8.2). Lo anterior debido a que en este estadio se aislaron e identificaron los microorganismos de mayor relevancia en la calidad sanitaria de los vegetales crudos como *E. coli* y *S.boydii* (Beuchat, 2002).

Diferentes trabajos documentan la capacidad que tienen los enteropatógenos para internalizarse y crecer dentro de la planta y de esta manera protegerse de los tratamientos de lavado y desinfección pos cosecha.

Algunos ejemplos de internalización son reportados en lechuga (Solomon *et al.*, 2002), alfalfa (Gandhi *et al.*, 2001) y específicamente Gua *et al.* (2002) reporta la internalización en plantas de jitomate.

Mukherjee *et al.* (2006) analizaron varios productos frescos incluyendo el jitomate provenientes de sistemas de producción tradicionales, orgánicos y semiorgánicos, entre los microorganismos coliformes que se aislaron con mayor frecuencia fueron *E. coli* en comparación con *Salmonella* y *L. monocytogenes*. Concluyeron que la prevalencia de *E. coli* varió con respecto al producto del cual fue aislado, en menor medida influyó el sistema de producción y la época del año donde fueron realizadas las determinaciones.

Por otra parte en un estudio realizado en 13 invernaderos de jitomate cultivado en hidroponía detectaron la presencia de *E. coli* en fruto de jitomate y en otras posibles fuentes de contaminación como calzado de trabajadores y en el sustrato (Orozco *et al.*, 2008). Kalia y Gupta (2006) mencionan que la presencia de poblaciones mixtas y el índice de crecimiento de cada microorganismo dependen de factores tanto ambientales como de composición del alimento o sustrato presentes en los sistemas de producción.

En este estudio las mejores correlaciones entre compuestos bioactivos e índices de diversidad se presentaron especialmente en la localidad de la Loma, en relación con el contenido de ácido ascórbico y los índices de Shannon-Wiener ($r=0.99$), lo cual sugiere que este compuesto puede dar condiciones propicias o de selectividad para que ciertos microorganismos se desarrollen.

Una tendencia similar se presentó en relación con el contenido de licopeno donde la mejor correlación se tuvo con los índices de Simpson ($r=0.99$), lo que se relaciona con cierta afinidad o preferencia de los microorganismos por este compuesto para la generación de energía. A este respecto de forma notoria se apreció que en la Localidad de la Loma obtuvieron los índices de diversidad H' y S Chao₁ más altos respecto a los de las otras localidades y también los frutos de jitomate tuvieron los contenidos mayores de licopeno (21.65 mg.kg⁻¹) (Cuadro 8.2) y el porcentaje más alto de materia orgánica (3.67%) en el suelo (Cuadro 8.1).

Cuadro 8.2. Índices de diversidad, microbiota y composición química evaluados en frutos de jitomate con diferentes grados de madurez (0, 50 y 100%).

Índices de diversidad y componentes químicos	Grado de Madurez	Localidad		
		Aquixtla	La Loma	Cuautieco
	0%	<i>E. cloacae</i>	<i>E. cloacae</i> <i>C. braakii</i> <i>C. freundii</i>	<i>E. cloacae</i> <i>E. hormaechei</i>
	50%	<i>E. cloacae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. cloacae</i>
	100%	<i>E. cloacae</i> <i>S. boydii</i> <i>E. coli (ETEC)</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. cloacae</i> <i>E. coli(ETEC)</i>
H		0.25	0.41	0.40
D		1.12	1.42	1.0
S _{CHAO1}		40	33	21
Azúcares Totales	100%	4.02±0.89	1.7±0.84	5.26±2.12
Ácido Ascórbico Total		10.48±4.99	16.72±8.35	16.17±6.87
Licopeno		12.80±6.55	21.65±16.67	8.34±1.41

H: Índice de diversidad de Shannon-Wiener, D:Índice de Simpson, S_{Chao1}: Estimador de Chao, el contenido de Azúcares totales fueron expresados como g·100g⁻¹ de Peso Fresco (PF), Ácido Ascórbico µg·g⁻¹ PF.y Licopeno mg.kg⁻¹ de tejido. Grados de Madurez 0% (verde maduro), 50% (rosado) y 100% (rojo claro).

Con respecto a los azúcares totales los mayores contenidos se presentaron en frutos provenientes de los invernaderos de las localidades de Aquixtla y Cuautieco 4.02±0.89 y 5.26±2.12 (%). Así mismo en estos dos invernaderos también se aisló a *E.coli* en frutos con grado de madurez de consumo, lo que sugiere que este microorganismo pueda utilizar los azúcares presentes en el fruto para abastecer sus requerimientos energéticos y desarrollo de sus actividades metabólicas. De acuerdo con Loiudice *et al.* (1995), los monosacáridos más abundantes en el jitomate corresponden a la fructosa (25%) y la glucosa (22%), mismos que constituyen el 65% de los sólidos solubles en el fruto.

Adicionalmente Selma y Fallik, (2009) reportan que los vegetales crudos contienen suficientes carbohidratos que pueden ser utilizados por numerosos microorganismos, asimismo microorganismos de la microbiota autóctona pueden secretar múltiples enzimas degradativas como pectinasas, celulasas, amilasas y proteasas, permitiendo la disponibilidad de nutrientes y propiciar el desarrollo de otras poblaciones microbianas.

Finalmente el desdoblamiento de ciertos de azúcares pueden influir en el desarrollo de algunos microorganismos, a este respecto Chmielewski (2003) considera que el tipo de azúcar provisto en el medio puede influir en el desarrollo de biopelículas microbianas.

Lo anterior concuerda con lo reportado por Macfarlane *et al.* (2006) quienes observaron que comunidades de bacterias anaerobias y anaerobias facultativas como *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*, son capaces de adherirse y formar biopelículas, desdoblando determinados polisacáridos y dejando como material de reserva ciertos oligosacáridos.

CONCLUSIÓN

La presencia de diferentes especies de microorganismos en fruto y suelo permiten considerar que ambos pueden significar “nichos” idóneos para el crecimiento de una microbiota diversa. Los microorganismos identificados con mayor frecuencia, tanto en jitomate como en suelo, fueron *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* y *Escherichia coli*. Específicamente *E. cloacae* y *C. freundii* se identificaron principalmente en frutos de jitomate en grado verde maduro (M0%) y M50%, mientras que *E. coli* tuvo mayor presencia en jitomates con grado de madurez del 100% y en suelos con altos contenidos de materia orgánica.

En general los índices H' y D obtenidos en frutos fueron menores en comparación con los de suelo, lo cual indica que las comunidades microbianas presentes en suelo son más diversas en comparación con las de los frutos.

Los valores obtenidos del estimador de S_(Chao1) fueron mayores en jitomate, pudiéndose relacionar con una mayor abundancia de organismos de la misma especie. Las mejores correlaciones entre compuestos bioactivos e índices de diversidad, se presentaron con los contenidos de ácido ascórbico y el índice de H' y licopeno con el índice de D.

BIBLIOGRAFÍA

- Baurer W., Mathesius U., 2004, Plant responses to bacterial quorum sensing signals, *Current Opinion in Plant Biology*.7:429-433.
- Begon M., Harper J., Townsend C. R., 1990, *Ecology Individuals, Populations and Communities*, Blackwell Scientific Publications, Londres, Inglaterra, pp:929.
- Beuchat L. R., 2002, Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables, *Microbes and Infection*.4:413-423.
- Brandt S., Pek Z., Barna E., 2006, Lycopene content and colour of ripening tomatoes as affected by environmental conditions, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86:568-572.
- Brown M. V., Bwman J. P., 2001, A molecular phylogenetic survey of sea-ice microbial communities (SIMCO), *FEMS Microbiology Ecology*. 35: 267-275.
- Bugarín M. R., Galvis S. A., Sánchez G. P., García P. D., 2002, Acumulación diaria de materia seca y de potasio en la biomasa aérea total de tomate, *Terra Latinoamericana*, 20: 401-409.
- Chao A., 1984, Non-parametric estimation of the number of classes in a population, *Scandinavian Journal of statistics*.11: 265-270.

- Chao A., Lee S. M., 1992, Estimating the number of classes via sample coverage, *Journal of the American Statistical Association*. 87: 210-217.
- Chmielewski R. A., Frank J. F., 2003, Biofilm Formation and Control in Food Processing Facilities, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 3: 22-32.
- Davies J. N., Hobson G. E., 1981, The constituents of tomato fruit: The influence of environment, nutrition and genotype, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.15: 205-280.
- Escalante T. E., 2003, ¿Cuántas especies hay? Los estimadores no paramétricos de Chao, *Elementos Ciencia y Cultura*. 52: 53-56.
- Escartín F. E., 2000, *Microbiología e Inocuidad de los Alimentos*, Universidad Autónoma de Querétaro, México, pp: 520-527.
- Fish W., Perkins-Veazie P., Collins J., 2002, A quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents, *Journal of Food Composition and Analysis*. 15: 309-317.
- Foyer C. H., Rowell J., Walker D., 1983, Measurements of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination, *Planta* 157: 239-244.
- Gandhi M., Golding S., Yaron S., Matthews K. R., 2001, Use of green fluorescent protein expressing *Salmonella* Stanley to investigate survival, spatial location, and control on alfalfa sprouts, *Journal of Food Protection*, 64: 1891-1898.
- Guo X., Chen J., Brackett R. E., Beuchat L. R., 2001, Survival of salmonellae on and in tomato plants from the time of inoculation at flowering and early stages of fruit development through fruit ripening, *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 4760-4764.
- Hughes J. B., Hellman J., Ricketts T. H., Bohannon B. J., 2001, Counting the Uncountable: Statistical Approaches to Estimating Microbial Diversity, *Applied and Environmental Microbiology*, 67: 4399- 4406.
- Ibarra C., Ruiz C. D., Flores G. J. A., González J. G., Eguiarte D. R., 2007, Distribución espacial del contenido de materia orgánica de los suelos agrícolas de Zapopan, Jalisco, *Terra Latinoamericana*, 25: 187-194.
- Iturriaga M., Escartín F., Beuchat L., 2003, Effect of Inoculum Size, Relative Humidity, Storage Temperature, and Ripening Stage on the Attachment of *Salmonella* Montevideo to Tomatoes and Tomatillos, *Journal of Food Protection*. 66:1756-1761.
- Iturriaga M., Tamplin M., Escartín F., 2007, Colonization of Tomatoes by *Salmonella* Montevideo is affected by relative and storage temperature, *Journal of Food Protection*. 70: 30-34.
- Juroszek P., Lumpkin H. M., Yang R. Y., Ledesma D. R., Ma C. H., 2009, Fruit quality and bioactive compounds with antioxidant activity of tomatoes grown on-farm: comparison of organic and conventional management systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 1188-1194.

- Kampfenkel K., Van Montagu M., Inzé D., 1995, Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue, *Analytical Biochemistry*. 225: 165-167.
- Kulia A., Gupta R. P., 2006, *Fruit Microbiology: In: Hand book of fruits and fruits processing*, Blackwell Publishing, Australia.
- Leonardi C., Ambrosino P., Esposito F., Fogliano V., 2000, Antioxidative activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 4723-4727.
- Loiudice R. M., Impembo B. L., Villari G., Lo Voi A., Siviero P., Castaldo D., 1995, Composition of San Marzano tomato varieties, *Food Chemistry*. 5: 81-89.
- Macfarlane S., Macfarlane G., 2006, Composition and Metabolic Activities of Bacterial Biofilms colonizing food residues in human gut, *Applied and Environmental Microbiology*, 72: 6204-6211.
- Mäder P., Fliessbach A., Dubois D., Gunst L., Fried P., Niggli U., 2002, Soil fertility and biodiversity in organic farming, *Science*. 296: 1694-1697.
- Montreuil J., Spik G., Fournet B., Toillier T., 1997, Non enzymatic determinations of carbohydrates *In: Analysis of Food Constituents*. Multon J. L., (ed), Wiley-VCH Inc. New York, USA, pp: 112-114.
- Mukherjee A., Speh D., Jones A.T., Buesing K. M., Diez-Gonzalez F., 2006, Longitudinal microbiological survey of fresh produce grown by farmers in the upper Midwest, *Journal of Food Protection*. 69: 1928–1936.
- NOM-021-SEMARNAT 2000, Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT 2000, Especificaciones de Fertilidad, Salinidad y Clasificación de Suelos, Estudio, Muestreo y Análisis. Disponible en: <http://www.semarnat.gob.mx/leyesy normas/Normas%20Oficiales%20Mexicanas%20vigentes/NOM-021-REC NAT-2000.pdf>, consultada octubre de 2010.
- Orozco L., Rico R. E., Fernandez E. E., 2008, Microbiological Profile of Greenhouses in a Farm Producing Hydroponic Tomatoes, *Journal of Food Protection*. 1: 60–65.
- Raffo A., Leonardi C., Fogliano V., Ambrosino P., Salucci M., Gennaro L., Burgianesi R., Quaglia G., 2002, Nutritional value of Cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* C.v. Naomi F1) harvested at different ripening stages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6550-6556.
- Sadler G., Davis J., Dezman D., 1990, Rapid Extraction of Lycopene and β -carotene from reconstituted Tomato Paste and Pink Grape-fruit Homogenates, *Journal of Food Science*. 55: 1460-1461.
- Samaniego G. J. A., Chew M. Y., 2007, Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferente condición agrícola en la laguna, México, *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 78: 383-390.
- Sela S., Fallik F., 2009, Microbial Quality and Safety of Fresh Produce: *In: Postharvest Handling*, Elsevier Inc. pp: 356-371.
- Shannon C. E., Weaver W., 1949, *The Mathematical Theory of Communication*, University Illinois Press, Urbana IL, USA.

- Solomon, E. B., Yaron S., Mathews R. K., 2002, Transmission of *Escherichia coli* O157, H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization, *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 397-400.
- Ucan I. C., Sánchez C. F., Contreras M. E., Corona S. T., 2005, Efecto de la densidad de población y raleo de frutos sobre el rendimiento y tamaño del fruto en tomate, *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28: 33-38.
- USDA, 1991, United States Standards for Grades of Fresh Tomatoes, <http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/standards>, consultada enero de 2011.
- Willcox J. K., Catignani G. L., Lazarus S., 2003, Tomatoes and cardiovascular health, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43: 1-8.
- Winfield M. D., Groisman E. A., 2003, Role of Nonhost Environments in the Lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*, *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 3687-3694.
- Yuan X., Xu Chai J. H., Lin H., Yang Y., Woand X., Shi J., 2010, Differences of rhizobacterial diversity and the content of peimine and peiminine of *Fritillaria thunbergii* among different habits, *Journal of Medicinal Plants Research*. 4: 465-470.

IX. CAPITULO VI

“INTERACCIONES BACTERIA-HOSPEDERO EN LA SUPERFICIE DEL FRUTO DE JITOMATE”

“BACTERIA-HOST INTERACTIONS ON THE SURFACE OF TOMATO FRUIT”

RESUMEN

La inocuidad de productos frescos como el jitomate depende de la microbiota presente, cuya sobrevivencia y crecimiento pueden relacionarse con las condiciones ambientales prevalentes durante las etapas pre cosecha. En este estudio se evaluaron los comportamientos individuales y poblaciones mixtas de bacterias pertenecientes a la microbiota nativa (*Enterobacter cloacae* y *Citrobacter freundii*) y patógena (patotipos de *Escherichia coli*). Las bacterias fueron inoculadas en frutos de jitomate con diferentes grados de madurez (madurez del 50%, M50%, madurez fisiológica MF y madurez de consumo MC) e incubados en condiciones de 60 y 85% de humedad relativa (HR) y temperaturas (T) de 22 y 40°C, durante 168 h. Estas mismas condiciones fueron relacionadas con los cambios en las propiedades físicas: color y firmeza de los frutos inoculados, así como con la habilidad de los microorganismos para producir moléculas autoinductoras (AI-1) y desarrollar biopelículas sobre la superficie. Se observó un efecto significativo ($P \leq 0.05$) por la condición de incubación, obteniéndose los recuentos más altos entre 7 y 9 Log₁₀UFC/g en inóculos simples y mixtos almacenados a 22°C y 65% de HR entre 24 y 72 h. La condición de 40°C y 85% de HR fue inhibitoria para la mayoría de los microorganismos inoculados, a excepción de *C. freundii* quien mantuvo su crecimiento de 7 Log₁₀ UFC/g hasta las 168 h. El crecimiento de las interacciones microbianas de *C. freundii* y *E. cloacae* con ETEC también se vio afectado por el incremento de la T y HR presentándose inhibición a partir de las 72 y 120 h. EHEC redujo su crecimiento al interactuar con *E. cloacae* siendo más notoria esta tendencia después de 168 h. Las reducciones de firmeza e incrementos del parámetro a^* de frutos inoculados, fueron significativos de acuerdo con las condiciones de almacenamiento especialmente con *E. cloacae* y *C. freundii* con ETEC, durante 72h de incubación a 40°C y 85% de HR. La actividad de las moléculas autoinductoras fue mayor en frutos inoculados con *C. freundii* y sus interacciones considerando ambas condiciones de almacenamiento, la cual pudo relacionarse con el desarrollo de biopelículas sobre la superficie del jitomate.

Palabras clave: *Lycopersicon esculentum* Mill, autoinductor, biopelículas, color, interacción, firmeza.

ABSTRACT

The safety of fresh products such as tomato depends on the presence of the microbiota, whose survival and growth can be linked to environmental conditions prevailing during the pre-harvest stages. This study were evaluated the individual and mixed populations behavior of bacteria belonging to the indigenous microbiota (*Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*) and pathogenic (*Escherichia coli* pathotypes: ETEC and EHEC). The bacteria were inoculated on tomato fruits with different grades of maturity (maturity 50% M50%, physiological maturity MF and ripenes MC) and incubated under conditions of 60 or 85% relative humidity (RH) and temperatures (T) of 22 and 40°C for 168h. The same conditions were associated to changes in physical properties: color and firmness of the inoculated fruits, as well as the ability of microorganisms to produce autoinducer molecule (AI-1) and develop biofilms on the surface. It was observed a significant effect ($P \leq 0.05$) by incubation condition, getting the highest populations between 7 and 9 \log_{10} cfu/g in single and mixed inocula, stored at 22 ° C and 65% RH between 24 and 72 h. The condition of 40°C and 85% RH was inhibitory for the most inoculated bacteria, except for *C. freundii* that which maintained its growth of 7 \log_{10} CFU/g until 168h. The growth of microbial interactions *C. freundii* and *E. cloacae* with ETEC was also affected by the increase of T and RH presenting inhibition after 72 and 120 h. EHEC reduced its growth by interacting with *E. cloacae* this trend was more pronounced after 168 h. The reductions of firmness and increases of the parameter a^* from inoculated fruits, were significant according to storage conditions especially with *E. cloacae*, *C. freundii* with ETEC during 72 hours of storage at 40°C and 85% RH. The activity of autoinducer molecules was greater in fruits inoculated with *C. freundii* and their interactions, considering both storage conditions, which was related with the development of biofilm on the surface of tomatoes.

Keywords: *Lycopersicum esculentum* Mill, autoinducer, biofilm, color, firmness, interaction.

INTRODUCCIÓN

Entre los principales frutos producidos a nivel mundial se encuentra el tomate o jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) (FAOSTAT, 2006), al cual se le relaciona con su atractivo sensorial, frescura y beneficios a la salud por su consumo (Raffo *et al.*, 2006). Asociados a estos atributos se encuentran las especificaciones relacionadas con su inocuidad que dependen de la microbiota presente, conformada por microorganismos nativos y patógenos sobre la superficie o parte interna del fruto. Durante la producción de jitomate entre las especies *Enterobacteriaceae* más comúnmente identificadas en frutos y diversos materiales se encuentran *Enterobacter* (*E. aerogenes*, *E. cloacae* y *E. agglomerans*), *Klebsiella terrigena*, y específicamente ciertos microorganismos patógenos tales como *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella* se asocian con múltiples brotes de enfermedades gastrointestinales (Escartín, 2002; Beuchat, 2002; Harris *et al.*, 2003; Smith y Fratamico, 2005; Orozco *et al.*, 2008; Berger *et al.*, 2010). Así mismo Sela y Fallik (2009) sugieren que microorganismos de la microbiota nativa son capaces de secretar enzimas degradativas como pectinasas, celulasas, y proteasas que favorecen la disponibilidad de nutrientes y propician el desarrollo de otras poblaciones microbianas. Adicionalmente la acción de estas enzimas puede relacionarse con la maduración y pérdida de firmeza, parámetros que son decisivos en la calidad de frutos como el jitomate (Tucker *et al.*, 1980). Otro factor buen indicador de calidad y frescura de hortalizas es el color, el cual en jitomate es determinante para la decisión de su compra y consumo (Gould, 1974; Arias *et al.*, 2000).

Las condiciones ambientales y de almacenamiento prevalecientes durante las etapas pre y post cosecha de vegetales crudos son determinantes para la sobrevivencia y/o crecimiento de ciertos microorganismos (Guo *et al.*, 2002; Suslow, 2002; Iturriaga *et al.*, 2007; Orozco *et al.*, 2008). También las relaciones entre enterobacterias, microorganismos epífitos y microflora nativa presentes en plantas, pueden verse influenciadas por las condiciones como temperatura, humedad y radiación ultravioleta presentes durante el cultivo hasta la cosecha. (Dickinson, 1986; Berger *et al.*, 2010).

Evidencias experimentales recientes sostienen que la colonización de ciertos grupos bacterianos en vegetales crudos, depende de su habilidad para interactuar entre sí a través de un proceso de comunicación celular conocido como “Quorum Sensing” (QS). (Fuqua *et al.*, 1996; Waters *et al.*, 2005). El QS se da por medio de pequeñas moléculas “señal” conocidas como autoinductores (AI), que juegan un papel esencial en la sincronización y expresión de ciertos genes (Zhang *et al.*, 2004). Las bacterias Gram negativas producen dos clases de autoinductores: los AI-1 que son Acil Homoserina Lactonas (AHLs) y AI-2 que son moléculas de furanosilborato diésteres (Surette y Bassler, 1998; Smith *et al.*, 2004). La producción de moléculas autoinductoras se relaciona con la formación de biopelículas, permitiendo que los microorganismos puedan colonizar, internalizar o adherirse a la superficie de los vegetales o bien mantenerse en comunicación con la flora nativa (Lynch *et al.*, 2002; Vance *et al.*, 2003).

Con base en lo anteriormente expuesto en esta investigación se estudiaron los comportamientos microbianos individuales y en poblaciones mixtas de bacterias pertenecientes a la microbiota nativa del jitomate como son *E. cloacae* y *C. freundii* y los patotipos de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) y enterohemorrágica (EHEC), frente a diferentes condiciones de temperatura y humedad relativa (T y RH). Además se relacionaron las condiciones de crecimiento y los cambios en las propiedades físicas de los frutos inoculados con diferentes grados de madurez, así como se evaluó la habilidad de los microorganismos para producir moléculas autoinductoras (AI-1) y formar biopelículas sobre la superficie del jitomate.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material Vegetal

Jitomates tipo saladette de la variedad “*Reserva*” fueron recolectados de la parte central de un invernadero de fertirrigación, ubicado en la Localidad de Aquixtla, Puebla, México. Para homogenizar la edad de los frutos, se consideró el marcaje de 30 plantas de acuerdo con el día de la apertura floral, así se colectaron frutos a los 62, 69 y 76 días correspondientes al segundo y tercer racimo. De acuerdo con la carta de color de la USDA (United States Department of Agriculture) los frutos pertenecieron a los estadios de madurez del 50%, madurez fisiológica y de consumo. Lo que corresponde a la evaluación visual: inicio pintón (3), rosado (4) y rojo oscuro (6). Los frutos cosechados se transportaron y almacenaron en condiciones de refrigeración hasta su procesamiento en el laboratorio donde fueron lavados y desinfectados por inmersión en una solución de etanol al 70% durante 5 minutos, previamente a la inoculación.

Cepas bacterianas y condiciones de crecimiento

Se utilizó una cepa de referencia de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC), dos cepas nativas de jitomate: *Enterobacter cloacae* y *Citrobacter freundii* y una cepa de *Escherichia coli* del patogrupa enterotoxigénico (ETEC) mismas que se muestran en el Cuadro 9.1. Las cepas *E. cloacae* y *C. freundii* fueron aisladas como parte de la flora nativa del jitomate debido a que se recuperaron con mayor frecuencia en frutos con diferentes grados de madurez y en diversos invernaderos de la región de Aquixtla, Puebla. Mientras que *E. coli* del patotipo ETEC se aisló a partir de frutos con grado de madurez de consumo y serotipificó con antisueros somáticos y flagelares. Para su clasificación en patogrupa se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplificándose el gen *lngA*.

A excepción de *A. tumefaciens* las cepas bacterianas fueron crecidas durante 24h a 37°C en caldos de soya tripticaseína (TSA) adicionados con los siguientes antibióticos: ampicilina 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, rifampicina 100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ y ácido nalidíxico 30 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, induciéndose la resistencia de las cepas de acuerdo con el procedimiento propuesto por Iturriaga *et al.* (2003).

La concentración de los cultivos bacterianos fue estimada espectrofotométricamente ajustándose los inóculos entre 10^6 y 10^7 UFC/mL, mismos que fueron confirmados por recuento en placa en Agar TSA y antibióticos.

Cuadro 9.1. Características y origen de las cepas bacterianas empleadas.

Cepas de Referencia		
Cepa	Características	Origen
<i>E. coli</i> ATCC 700927	Patogrupa EHEC Serotipo 0157:H7	UNAM. Laboratorio de Patógenos entéricos, México
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	NTL4(pCF218) (pCF372)	Universidad de Indiana. USA
Cepa Patógena		
<i>E. coli</i>	Patogrupa ETEC Serotipo O74:H10	Frutos de madurez de consumo de jitomate cultivados en la Región de Aquixtla, Puebla.
Cepas Nativas del fruto		
<i>Enterobacter cloacae</i>		Frutos de diferentes grados de madurez cultivados en la Región de Aquixtla, Puebla, México.
<i>Citrobacter freundii</i>		Frutos de diferentes grados de madurez cultivados en la Región de Aquixtla, Puebla, México

La cepa curada de *A. tumefaciens* NTL4 (pCF218) (pCF372) se creció en 250 mL del medio AT mínimo cuya composición consiste en: glucosa 0.5 % (p/v), KH_2PO_4 (0.079M), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (0.015 M), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.6 mM), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.06mM), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0.027 mM) y $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (0.0071 mM) disueltos en agua destilada y ajustado a pH 7.0 con NaOH 1N, se adicionaron como antibióticos estreptomina ($50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) y tetraciclina ($5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$).

Inoculación

Durante la inoculación se utilizaron 100 μL de las suspensiones bacterianas considerándose inóculos simples: *E. coli* (ETEC y EHEC), *E. cloacae* y *Citrobacter freundii* e inóculos mixtos: *E. coli* (ETEC) + *E. cloacae*, *E. coli* (EHEC) + *E. cloacae*, *C. freundii* + *E. coli* (ETEC), *C. freundii* + *E. coli* (EHEC) y *E. cloacae* + *C. freundii*. Los inóculos fueron distribuidos en gotas de 10 μL en superficies cercanas al “pedúnculo” del fruto dentro de un diámetro de 2 a 3 cm. Para evitar la deshidratación de los tejidos y garantizar la adherencia de los microorganismos, los frutos inoculados fueron

introducidos en cajas petri que contenían papeles filtro Whatman No 4 pre-humedecidos con agua estéril, creándose ambientes con 100% de Humedad Relativa (HR), las placas se almacenaron a 37°C durante 90 min (Rathinasabapathi, 2004).

Microambientes

Los frutos provenientes de los ambientes de 100% HR se introdujeron nuevamente en cajas petri estériles, para ser almacenados en contenedores de plástico (25x10x20cm) en los que se equilibraron las atmósferas interiores a una humedad relativa de 60 y 85% con sales saturadas de NaBr y NaCl, respectivamente (Iturriaga *et al.*; 2007). Los contenedores fueron cerrados, sellados herméticamente y almacenados a 22 y 40°C ($\pm 2^\circ\text{C}$). Las condiciones de almacenamiento (T y HR) se monitorearon con un registrador ambiental datalogger (Marca HOB0).

Recuento bacteriano

Para el recuento de los microorganismos provenientes de inóculos simples y mixtos, los frutos fueron removidos de los contenedores después de 0, 1, 3, 5 y 7 días de almacenamiento. Posteriormente 5 g de fruto fueron homogenizados en 50mL de agua peptonada al 0.1%, con un ultrahomogenizador T25 IKA_WERKE, Staufen. Posteriormente se realizaron diluciones seriadas en agar soya tripticaseína adicionado con los antibióticos, mismos que fueron descritos en las condiciones de crecimiento de las cepas. El recuento de las colonias fue realizado después de 24h de incubación a 37°C y se confirmaron con pruebas bioquímicas tradicionales.

Propiedades físicas de frutos inoculados

Paralelamente a las mediciones del crecimiento microbiano, se determinaron las propiedades fisicoquímicas de los frutos lo que permitió establecer relaciones entre cambios de apariencia (color y firmeza), pH y °Brix en presencia de los microorganismos en estudio y bajo las diferentes condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa. Las determinaciones se realizaron en frutos con diferentes grados de madurez (50%, fisiológica y de consumo) en tres repeticiones. El pH se determinó con un potenciómetro WPA-CD310 (AOAC, 1990) y los °Brix con un refractómetro digital ATAGO 3840 (AOAC, 1990) expresados como porcentaje (%) de sólidos solubles totales. El color fue evaluado con un colorímetro colorflex *Mod* 6405 utilizando el sistema CIELab y las mediciones fueron realizadas en tres partes diferentes (base, media y apical) de la superficie del fruto, se consideraron las coordenadas cromáticas L*(luminosidad), a^* (verde/rojo) y b^* (amarillo/azul). La firmeza (Kg^f) se midió con un penetrómetro (TR Mod ST32) y se expresó en términos de la deformación producida mediante un puntal cónico y penetración de 2 mm.

Detección de autoinductor 1: Acil Homoserina Lactonas (AHLS)

Se utilizaron bioensayos teniendo como sistema los lisados libres de células del microorganismo reportero *A. tumefaciens* NTL4 (pCF218) (pCF372) y extractos de

AHLS de los microorganismos inoculados en los frutos, se determinaron los índices de inducción en la actividad de expresión de la β -galactosidasa.

Lisado libre de células del microorganismo reportero

El microorganismo reportero *A. tumefaciens* NTL4 (pCF218) (pCF372) se hizo crecer en un litro del medio AT a 30°C, con agitación por 18h, para alcanzar la fase temprana exponencial y después se colectó por centrifugación (12,000xg, 10min). Los sedimentos se recolectaron y re-suspendieron en 5 mL de buffer KH_2PO_4 (100 mM; pH 7.4). Posteriormente los sedimentos se sonicaron tres veces por 30 seg y se centrifugaron (12,000xg) nuevamente a 4°C por 30 min, para remover los fragmentos celulares. Los sobrenadantes fueron colectados como lisados libre de células y almacenados a -80°C hasta su uso en los bioensayos.

Extractos de Autoinductor I (Acil Homoserina –Lactonas- AHLS)

Simultáneamente a los recuentos bacterianos se realizaron las extracciones de las AHLS producidas por los microorganismos inoculados en los frutos. Se utilizaron 10 mL de la primera dilución a la cual se le realizaron tres lavados seriados con 10 mL de acetato de etilo (acidificado con 0.5% de ácido fórmico), para después filtrar con papel Whatman No.4. Los extractos se evaporaron con nitrógeno de alta pureza hasta su totalidad y se re-suspendieron con 1 mL de buffer KH_2PO_4 20 mM, pH 7.0 y almacenaron a -20°C para su posterior detección (Ravn *et al.*, 2001; Rasch *et al.*, 2005).

Detección de la inducción en la actividad de expresión de la β -galactosidasa

Para determinar la inducción en la actividad de expresión de la β -galactosidasa, se utilizó un método espectrofotométrico que consistió en la adición dentro de una placa de 96-pozos de: 50 μL del extracto con AHLS, 50 μL del lisado libre de células del microorganismo reportero y 100 μL de KH_2PO_4 20 mM (pH 7.0), mismos que se mezclaron e incubaron a 30°C durante 2 h. Se adicionó como sustrato cromógeno 1 μL de X-Gal (5-bromo-4-cloro-3-indol B-D-galactopiranosido) ($20\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), volviéndose a mezclar e incubar a 30 °C por 1 h. La reacción colorimétrica se monitoreo a partir de medir la absorbancia a 635 nm, las mediciones se realizaron por triplicado con un lector de placas Multiskan Ascent Marca Thermo. Los índices de inducción de la actividad de expresión de la β -galactosidasa se calcularon según la siguiente expresión (1).

$$I = \frac{(Absm * 10 - Absb) - (Absj - Absb)}{(Absc)} \dots\dots\dots (Eq1)$$

Donde *Absm* correspondió a la absorbancia de la muestra, *Absj* a la absorbancia de los extractos de AHLS de frutos sin inocular, *Absb* a la absorbancia del blanco el cual consistió en el lisado libre de células, buffer KH_2PO_4 20mM (pH 7.0) y X-Gal y *Absc*

que correspondió a la absorbancia del control, que se obtuvo a partir de una curva de calibración con diferentes concentraciones de C8-AHL (N-octanoil- acetil homoserina lactona SIGMA CAT10940), se consideró la saturación del sistema con una concentración de 2.5 μ M de C8-AHL y una *Abs* de 0.12.

Preparación de muestras para la microscopía electrónica de barrido y examinación

Las muestras de pericarpio fueron preparadas para la microscopia electrónica de barrido considerando los tiempos 0, 3 y 7 días y dos condiciones de almacenamiento (22°C/60% de HR y 40°C/85% de HR) de acuerdo con Iturriaga *et al.* (2007) y algunas modificaciones según (Thompson *et al.*, 2006).

Las secciones del pericarpio fueron aproximadamente de 5x5x1 mm y se fijaron con glutaraldehído al 2.5% por 24h. Posteriormente se realizaron tres lavados seriados de cinco minutos con amortiguador de fosfatos y se procedió a deshidratar las muestras con diferentes concentraciones de etanol (30 a 90%) por 45 min y tres cambios de 30 minutos en alcohol al 100%. El secado de los tejidos se realizó a punto crítico con una secadora (Sandri-780A), después del secado los tejidos se colocaron y orientaron sobre porta-muestras usando una cinta doble adhesiva de carbón y se recubrieron con oro durante 4 min en una ionizadora de metales (Ion Sputter JFC1100, Jeol, Fine Coat). Las muestras resultantes se observaron en un Microscopio Electrónico de Barrido (JEOL-JSM 6390) con un rango de operación de 10 a 15 Kv.

Análisis estadístico de los resultados

Todos los experimentos se realizaron por triplicado. Los resultados obtenidos de las unidades formadoras de colonias (UFC Log₁₀) a partir de los recuentos microbianos, junto con los índices de inducción en la actividad de expresión de la β -galactosidasa, fueron considerados como respuestas en los análisis de varianza (ANOVA) de acuerdo con un nivel de significancia de $\alpha= 0.05$, utilizando el paquete estadístico Statistical Analysis System, GLM, versión 6.12 (SAS Institute, 1988),

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comportamiento de *E. coli* (EHEC y ETEC), *E. cloacae* y *C. freundii* en inóculos simples sobre la superficie del jitomate

El crecimiento de los cultivos axénicos inoculados en la superficie del jitomate presentó un efecto significativo ($P\leq 0.05$) por las condiciones de incubación, obteniéndose los recuentos más altos a 22°C y 65% de HR entre las 24 y 72h post-inoculación.

La tendencia de crecimiento obtenida es relevante si se considera que las condiciones ambientales fueron detectadas durante ciertas horas del día en el interior del invernadero donde se colectaron los frutos con diferentes grados de madurez, además de ser reportadas como ideales para la producción de jitomate en agricultura protegida (Castilla, 2001).

Se sabe que el crecimiento y sobrevivencia de la microflora patógena sobre la superficie de frutos y vegetales se reduce frente a humedades relativas altas (Noel *et al.*, 2010).

En este estudio la condición de 40°C y 85% de HR inhibió la mayoría de las enterobacterias inoculadas, a excepción de *C. freundii* quien mantuvo su crecimiento de 7 Log₁₀ UFC/g hasta las 168h de almacenamiento en los frutos con diferente grados de madurez (Figura 12.1G). También se detectaron diferencias en la sobrevivencia de los patotipos de *E. coli* a 40°C y 85% de HR siendo EHEC la que se recuperó hasta las 120h en los tres grados de madurez en comparación con ETEC cuyo crecimiento se presentó solamente hasta las 72h (Figuras 9.1 A, 9.1 B, 9.1 C y 9.1 D).

Cabe mencionar que ETEC se aisló de frutos de madurez de consumo y EHEC se seleccionó por su capacidad de internalización, multiplicación y permanencia en vegetales crudos, considerando los criterios de Olsen *et al.* (2000). Ambas bacterias están relacionadas con enfermedades infecciosas tales como diarrea del viajero, gastroenteritis y síndrome urémico hemolítico (Torres, 2009).

En este trabajo los dos patotipos de *E. coli* mantuvieron un crecimiento mayor de 6 Log₁₀ UFC/g a 22°C y 60% de HR, con recuentos muy similares en frutos con diferentes grados de madurez, manteniendo su población hasta las 164 horas de incubación (Figuras 9.1A-9.1D). Particularmente el comportamiento de EHEC correspondió a lo reportado por Eribo y Ashenafi, (2003), quienes probaron la sobrevivencia de este patogruppo en jitomate en condiciones semejantes de almacenamiento.

La tendencia de crecimiento de los microorganismos nativos del fruto *C. freundii* y *E. cloacae* fue similar a la observada con los enteropatógenos, manteniéndose entre 9 y 10 Log₁₀ UFC/g en frutos inoculados con diferentes grados de madurez y almacenados a 22°C y 85%HR (Figuras 9.1E y 9.1G). La permanencia de *C. freundii* frente a las condiciones de incubación podría asociarse a que este microorganismo ha sido aislado en agua, suelo de cultivo y diferentes vegetales crudos (Tschape *et al.*, 1995). Además de ser considerada una especie comensal de la flora intestinal, que en algunos aislamientos se ha relacionado con la producción de una toxina termoestable similar a la de *E. coli* enterotoxigenica (Pereira *et al.*, 2010). Mientras que *Enterobacter* es un género comúnmente responsable del deterioro de alimentos de origen vegetal con diferentes grados de acidez, debido a su capacidad degradativa y productora de gas, reduciendo considerablemente la vida de anaquel de los productos (Selma *et al.*, 2003).

Este mismo microorganismo redujo notablemente su población a partir de las 72 h en los tres grados de madurez en la condición de 40°C y 85% de HR (Figura 9.1H).

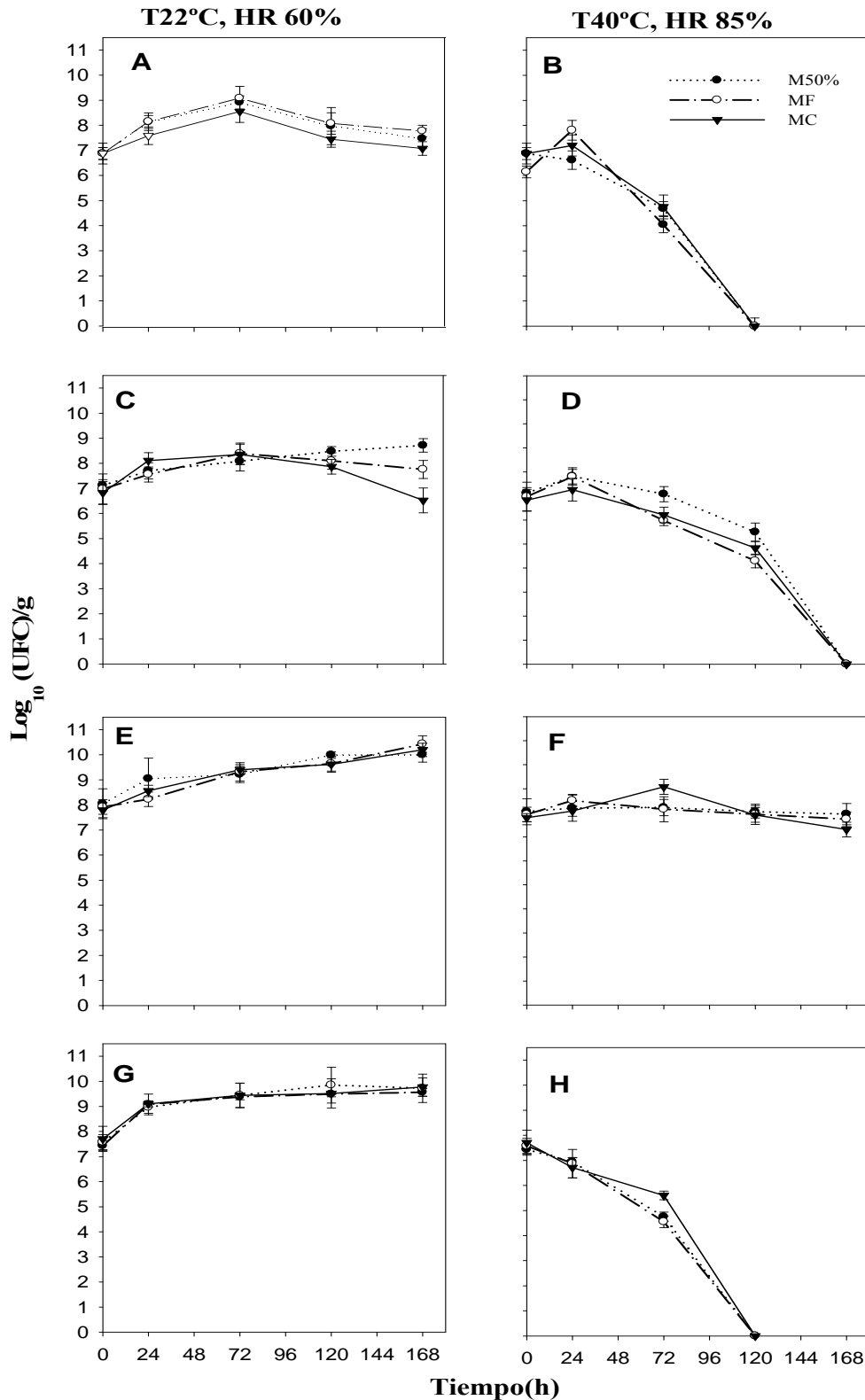


Figura 9.1: Crecimiento de las cepas bacterianas sobre la superficie del jitomate con diferentes grados de madurez y almacenamiento. (A y B) *E. coli* (ETEC), (C y D) *E. coli* EHEC, (E y F) *C. freundii*, (G y H) *E. cloacae*. Condiciones de almacenamiento: 22°C /60 de %HR y 40°/85% de HR. Grados de madurez: del 50%= M50%, fisiológica= MF y de consumo= MC. HR=humedad relativa.

Comportamiento de las interacciones bacterianas de E. coli EHEC, ETEC con E. cloacae y C. freundii sobre la superficie del jitomate

La colonización de los microorganismos enteropatógenos además de verse relacionada con las condiciones de temperatura (T) y humedad relativa (HR) dependió de las interacciones con las bacterias que conforman la microflora nativa del fruto *C. freundii* y *E. cloacae*. En los Cuadros 9.2 y 9.3 se presentan los recuentos de ETEC y EHEC en presencia de *E. cloacae* y *C. freundii*, expuestos a 22°C, 60% y 40°C, 85% de HR. Especialmente EHEC redujo su crecimiento al interactuar con *E. cloacae* siendo más acentuada esta tendencia a 40°C y 85% de HR después de 168h de almacenamiento. Existen reportes relacionados con el efecto de antagónico de *E. cloacae* sobre patógenos como *Salmonella* en jitomate (Takahashi *et al.*, 1997; Shi *et al.*, 2009). Sin embargo, en este estudio también se observó que EHEC logró recuperarse después de las 168h en sus interacciones con *C. freundii* y *E. cloacae* en las dos condiciones de almacenamiento en comparación de cuando fue inoculado de manera axénica cuya inhibición se presentó a partir de las 168h, es decir la sobrevivencia de EHEC se vio favorecida con la presencia de algunos de los microorganismos nativos del fruto. Cooley *et al.*, (2006) reportan que la persistencia de EHEC frente a la flora nativa en lechuga, se puede explicar por la competencia generada poco después de la inoculación, lo que forzó a EHEC a colonizar un lugar subóptimo para su sobrevivencia.

Mientras que ETEC inhibió su crecimiento a partir de las 120 h de incubación a los 40°C y 85% de HR en frutos con diferentes grados de madurez e independientemente de las interacciones con la microbiota nativa. En la condición de 22°C y 60% de HR se presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el crecimiento de ETEC de acuerdo con el grado de madurez, donde los recuentos más altos se obtuvieron en frutos con M50% hasta las 168h con 8.32 y 8.58 Log₁₀ UFC/g en las interacciones con *E. cloacae* y *C. freundii*, respectivamente. La preferencia de patógenos como *E. coli* y *Salmonella* por colonizar ciertos de grados madurez del jitomate puede estar relacionada con los cambios de composición química que sufren los frutos durante su maduración, que incluye contenido de azúcares simples, ácidos orgánicos e inorgánicos (Noel *et al.*, 2010).

En la interacción de *C. freundii* con *E. cloacae* se observó que ambos microorganismos inhibieron su crecimiento a 40°C y 85% de HR en los grados de madurez MF y MC a partir de las 72h. Favoreciéndose su crecimiento en la condición de 22°C y 60% de HR, manteniendo poblaciones mayores a 7 Log₁₀ UFC/g hasta por 168h en los tres grados de madurez. El comportamiento de *E. cloacae* y *C. freundii* se relaciona con lo propuesto por Suslow (2002), quien menciona que la capacidad de los microorganismos que conforman la microbiota nativa para crecer sobre la superficie de los vegetales depende de condiciones ambientales como humedad relativa y temperatura.

Cuadro 9.2. Crecimiento de los patotipos EHEC, ETEC y *E. cloacae* en presencia de *C. freundii* inoculados en frutos de jitomate con diferente grado de madurez e incubados a distintas condiciones de temperatura y humedad relativa.

Condiciones de Incubación (T°C / HR%)	Grado de madurez	Tiempo del Muestreo (h)	Recuento en Placa (Log ₁₀ UFC/g)			
			<i>Microorganismo de la flora nativa C. freundii</i>			
			<i>E. coli</i> (ETEC)	<i>E. coli</i> (EHEC)	<i>E. cloacae</i>	
22/ 60	M50%	1.5	6.54±0.48	6.48±0.10	7.47±0.34	
		24	8.75±0.43	8.84±0.17	8.93±0.35	
		72	8.93±0.35	8.02±0.22	9.40±0.38	
		120	9.36±0.58	7.23±0.33	8.04±0.50	
		168	8.58±0.55	7.87±0.09	8.53±0.38	
	MF	1.5	6.33±0.18	5.79±0.13	8.20±0.62	
		24	8.93±0.56	8.62±0.07	8.72±0.51	
		72	8.37±0.34	8.08±0.17	9.83±0.66	
		120	6.88±0.31	8.10±0.14	8.09±0.55	
		168	6.61±0.36	9.17±0.20	7.83±0.67	
	MC	1.5	5.33±0.16	6.77±0.84	7.74±0.53	
		24	7.80±0.45	7.92±0.45	8.96±0.33	
		72	9.23±0.41	7.27±0.67	9.34±0.81	
		120	7.77±0.24	7.73±0.55	8.26±0.33	
		168	5.95±0.40	7.93±0.33	7.86±0.60	
	40/85	M50%	1.5	6.54±0.48	6.48±0.10	7.47±0.34
			24	8.70±0.45	7.44±0.17	7.14±0.28
			72	8.28±0.33	7.66±0.67	5.89±0.64
120			5.44±0.79	8.17±0.14	4.74±0.52	
168			SC	8.30±0.15	SC	
MF		1.5	6.33±0.18	5.79±0.13	8.20±0.63	
		24	8.60±0.44	8.59±0.61	7.35±0.62	
		72	7.21±0.11	7.50±0.38	5.74±0.51	
		120	5.87±0.48	7.43±0.55	SC	
		168	SC	7.44±0.77	SC	
MC		1.5	5.77±0.52	6.77±0.84	7.74±0.53	
		24	8.16±0.51	8.79±0.54	7.14±0.56	
		72	7.41±0.46	6.66±0.67	6.10±0.47	
		120	5.34±0.16	6.82±0.18	SC	
		168	SC	6.58±0.23	SC	

Los recuentos representan los promedios ± las desviaciones estándar de dos experimentos con tres repeticiones por experimento. M50%: Madurez del 50%, MF: Madurez Fisiológica, MC: Madurez de Consumo, SC: sin crecimiento. En negrillas se indican los valores significativos que se discuten en el texto.

Cuadro 9.3. Crecimiento de los serotipos *E. coli* EHEC, ETEC y *C. freundii* en presencia de *E. cloacae* inoculados en frutos de jitomate con diferente grado de madurez e incubados a diferentes condiciones de Temperatura y Humedad Relativa.

Condiciones de Incubación (T°C / HR %)	Grado de madurez	Tiempo del Muestreo (h)	Recuento en Placa (Log ₁₀ UFC/g)		
			<i>Microorganismo de la flora nativa</i>		
			<i>E. coli</i> (ETEC)	<i>E. coli</i> (EHEC)	<i>C. freundii</i>
22/ 60	M 50%	1.5	6.25±0.23	5.60±0.12	8.04±0.57
		24	7.89±0.46	6.78±0.43	9.07±0.44
		72	9.08±0.38	6.60±0.59	9.38±0.49
		120	8.59±0.46	6.55±0.25	8.07±0.81
		168	8.32±0.26	6.51±0.12	7.84±0.66
	MF	1.5	6.96±0.60	5.60±0.17	7.30±0.46
		24	7.55±0.30	7.88±0.81	8.30±0.55
		72	8.38±0.42	6.28±0.47	8.61±0.76
		120	8.09±0.32	6.22±0.49	8.04±0.68
		168	7.61±0.36	6.16±0.16	7.30±0.30
	MC	1.5	6.82±0.44	5.60±0.12	8.00±0.77
		24	8.11±0.32	7.06±0.08	8.33±0.38
		72	8.35±0.40	8.07±0.09	9.20±0.55
		120	7.86±0.29	7.82±0.071	8.09±0.58
		168	7.10±0.49	7.56±0.18	7.47±0.51
40/85	M 50%	1.5	7.11±0.23	5.60±0.12	8.04±0.57
		24	7.81±0.35	5.38±0.55	6.92±0.52
		72	7.07±0.32	6.69±0.59	5.66±0.42
		120	5.49±0.38	6.36±0.92	4.85±0.66
		168	SC	4.04±0.46	SC
	MF	1.5	6.96±0.60	5.60±0.13	7.30±0.46
		24	7.80±0.30	5.66±0.72	6.94±0.67
		72	5.97±0.20	6.22±0.54	5.86±0.63
		120	4.29±0.28	6.53±0.38	SC
		168	SC	4.30±0.21	SC
	MC	1.5	6.82±0.44	5.60±0.12	8.03±0.77
		24	7.25±0.47	6.82±0.46	7.38±0.76
		72	6.21±0.32	5.81±0.47	6.07±0.51
		120	4.83±0.28	5.65±0.14	SC
		168	SC	3.30±0.21	SC

Los recuentos representan los promedios ± las desviaciones estándar de dos experimentos con tres repeticiones por experimento. M50%: Madurez del 50%, MF: Madurez Fisiológica y MC: Madurez de Consumo, SC: sin crecimiento. En negrillas se indican los valores significativos que se discuten en el texto.

Condiciones de crecimiento y cambios en las propiedades físicas de los frutos inoculados:

En este trabajo la sobrevivencia y crecimiento de las enterobacterias estudiadas en la superficie del fruto se presentaron independientemente del pH del jitomate a diferentes grados de madurez de 4.24, 4.17 y 4.39 para M50%, MF y MC, respectivamente. La acidez del fruto se debe principalmente a la presencia de ácidos orgánicos como el ácido cítrico, siendo el predominante que contribuye a los parámetros de sabor y calidad interna del fruto (Hobson y Bedford, 1989).

Otro factor además del pH relacionado con la calidad del jitomate es la firmeza, misma que forma parte de los requisitos de preferencia por el consumidor junto con el color del fruto (Romero *et al.*, 2007). La firmeza del jitomate se define como la resistencia que opone el fruto para ser deformado, entre los principales compuestos que determinan la conformación se encuentran las pectinas, celulosa, hemicelulosa y proteínas (Paul *et al.*, 1999). Mientras que el parámetro a^* de color de la escala HunterLab, se relaciona con las tonalidades rojizas que se alcanzan durante la maduración del fruto (Arias *et al.*, 2000), siendo el color uno de los criterios de cosecha por parte de los productores de hortalizas.

En el Cuadro 9.4 se presentan los valores del parámetro de color a^* y firmeza de frutos inoculados con tiempos de incubación de 24 y 72h, en los cuales se garantizó el crecimiento de las cepas en estudio, considerando las dos condiciones 22°C, 60% de HR y 40°C, 85% de HR. Se observó un efecto altamente significativo ($P \leq 0.01$) por la condición de almacenamiento, presentándose mayor firmeza en los frutos expuestos a 22°C y 60% de HR independientemente del grado de madurez, esta tendencia fue más clara en presencia de *C. freundii* con algunas de sus interacciones ETEC y *E. cloacae* en frutos con madurez fisiológica y de consumo, respectivamente. Bajo esta misma condición no se observaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en los frutos inoculados con los diferentes patogrupos de EHEC y ETEC (datos no presentados). También se observaron reducciones en la firmeza a 22°C y 60%HR, siendo más notorias en frutos inoculados con *E. cloacae* y ETEC procedentes de diferentes grados de madurez y con 72h de incubación.

En la condición de 40°C y 85% de HR los frutos que presentaron menor firmeza fueron aquellos de grados de madurez MF y MC inoculados con *E. cloacae* interaccionando con ETEC y *C. freundii*. Específicamente en frutos con grado de madurez de consumo también se presentaron disminución en su firmeza al ser inoculados con *C. freundii* y ETEC (Cuadro 9.4). Lo anterior es de interés económico debido a que la firmeza es uno parámetros más importantes para la cosecha y comercialización del fruto por parte de los productores.

Los valores obtenidos del parámetro a^* tendieron a disminuir significativamente en frutos inoculados con *C. freundii* y almacenados a 40°C y 85%HR por 72 horas.

En esta misma tendencia se observó en la condición de 22°C pero solo en frutos con madurez fisiológica y de consumo. Mientras que los valores de a^* más altos (frutos más rojizos) se tuvieron en jitomates inoculados con *E. cloacae* y sus interacciones, con grados de madurez fisiológica y de consumo expuestos a 40°C y 85% de HR (Cuadro 9.4).

Cuadro 9.4. Valores del parámetro firmeza y de color a^* de frutos de jitomates con diferentes grados de madurez inoculados y almacenados a distintos tiempos de incubación (24y 72h) y dos condiciones de temperatura y humedad relativa.

M. O.	Parámetro de Firmeza				Parámetro de color a^*			
	<i>Frutos de Madurez del 50%</i>							
	T22°C/60% HR		T40°C /85% HR		T22°C /60% HR		T40°C /85% HR	
Tiempo de incubación (h)								
	24	72	24	72	24	72	24	72
inoculado								
<i>E. cloacae</i>	3.3±0.2	2.9±0.2	2.8±0.5	2.3±0.2	19.3±0.1	20.5±0.6	19.9±0.3	21.6±0.7
<i>E. cloacae</i> + (<i>ETEC</i>)	3.1±0.5	2.8±0.5	2.6±0.8	1.9±0.1	16.3±0.2	17.4±0.1	13.9±0.2	12.1±0.5
<i>E. cloacae</i> + <i>C.freundii</i>	3.3±0.5	2.9±0.4	2.8±0.5	2.1±0.6	10.8±0.2	14.9±0.3	6.2±0.4	8.8±0.4
<i>C. freundii</i>	3.5±0.2	3.8±0.9	2.9±0.4	2.3±0.6	19.7±0.4	21.5±0.1	11.3±0.5	5.2±0.3
<i>C. freundii</i> + <i>ETEC</i>	3.2±0.6	2.7±0.7	2.8±0.9	2.6±0.8	16.2±0.1	12.1±0.2	13.2±0.2	12.0±0.3
	<i>Frutos de Madurez de Fisiológica</i>							
<i>E. cloacae</i>	2.9±0.7	2.5±0.2	2.7±0.1	2.1±0.8	31.92±0.3	32.4±0.4	32.3±0.1	33.2±0.4
<i>E. cloacae</i> + <i>ETEC</i>	2.9±0.8	2.4±0.04	2.5±0.4	1.7±0.3	17.41±0.1	18.1±0.2	18.2±0.1	18.6±0.2
<i>E. cloacae</i> + <i>C.freundii</i>	3.1±0.1	2.6±0.6	2.54±0.1	1.6±0.6	17.17±0.1	21.2±0.2	13.4±0.2	13.23±0.1
<i>C. freundii</i>	3.1±0.6	2.5±0.1	2.8±0.2	1.9±0.4	14.8±0.1	11.8±0.3	15.2±0.3	11.4±0.1
<i>C. freundii</i> + <i>ETEC</i>	3.3±0.6	3.4±0.5	2.6±0.6	1.7±0.3	17.4±0.3	21.6±0.2	18.2±0.1	18.3±0.2
	<i>Frutos de Madurez de Consumo</i>							
<i>E. cloacae</i>	2.2±0.3	1.9±0.10	2.2±0.1	1.6±0.6	36.1±0.2	36.2±0.4	36.5±0.4	37.8±0.7
<i>E. cloacae</i> + <i>ETEC</i>	2.2±0.4	1.8±0.4	1.6±0.5	1.2±0.5	21.6±0.3	20.4±0.3	18.4±0.4	19.4±0.8
<i>E. cloacae</i> + <i>C.freundii</i>	2.9±0.1	2.1±0.7	2.1±0.4	1.3±0.5	20.5±0.2	21.1±0.1	19.7±0.1	11.8±0.7
<i>C. freundii</i>	2.2±0.1	1.9±0.9	2.1±0.7	1.5±0.8	19.9±0.7	17.9±0.5	18.4±0.4	10.3±0.1
<i>C. freundii</i> + <i>ETEC</i>	2.1±0.5	1.8±0.8	1.8±0.6	1.1±0.8	18.4±0.4	20.3±0.3	21.6±0.4	19.4±0.8

Los recuentos representan los promedios ± las desviaciones estándar de tres repeticiones por experimento.

Producción de moléculas autoinducidas AI-1 (AHLS) y formación de biopelículas a partir de las interacciones bacterianas de E. cloacae y C. freundii con EHEC y ETEC.

Las acetil homoserina lactonas (AHLS) son moléculas producidas por la mayoría de las bacterias Gram negativas y son sintetizadas por proteínas de la familia LuxI, y censadas por un grupo de proteínas o factores transcripcionales conocidas como LuxR (Greenberg, 1997; Ravn *et al.*, 2001; Van Houdt *et al.*, 2006).

Entre las enterobacterias productoras de AHLS se encuentran *E. cloacae* y *E. aerogenes*, *C. freundii*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* y *K. oxytoca* (Wang *et al.*, 2006). La acumulación de AHLS en el medio se encuentra relacionada con las condiciones ambientales o de cultivo, como son: tipo de nutriente, temperatura de incubación, humedad y pH; mismas que determinan la composición de la población bacteriana (Cloak *et al.*, 2002).

Las enterobacterias *E. coli* y *Salmonella* son incapaces de producir AI-1, sin embargo pueden alterar su expresión génica en respuesta a la presencia de AHLS en el medio, a través de un regulador transcripcional SdiA similar a LuxR (Ahmer, 2004). Según Van Houdt *et al.* (2006) el hecho de que *E. coli* pueda detectar la presencia de bacterias vecinas le puede ayudar a sobrevivir en condiciones hostiles y competir con la flora nativa por los nutrientes presentes en el medio.

En esta investigación se hizo hincapié en la determinación de AHLS producidas por las especies aisladas en la microflora nativa del fruto (*C. freundii* y *E. cloacae*) en presencia de distintos patogrupos de *E. coli* y bajo diferentes condiciones de incubación. Las determinaciones del AI-1 fueron realizadas “*in-situ*” paralelamente a los recuentos bacterianos y fueron expresadas como índices de inducción de la actividad de la β galactosidasa (IID).

En general se observó que los IID presentaron diferencias significativas entre sí ($P \leq 0.05$) de acuerdo con la condición de incubación, siendo los IID más altos los obtenidos en frutos inoculados con *C. freundii* considerando como condición de incubación 40°C y 85% de HR (Cuadros 12.5 y 12.6). El hallazgo anterior puede relacionarse con lo reportado por Kawaguchi *et al.* (2008) quienes demostraron mayor estabilidad de las AHLS en temperaturas entre 30 y 40°C y reduciéndose a partir de los 50°C, estas determinaciones fueron realizadas también por medio de bioensayos con *A. tumefaciens*.

De acuerdo con la relación tiempos de incubación y producción de los IID se detectó que en la condición 2 (40°C y 85% de HR) los valores fueron comúnmente mayores (Cuadros 9.5 y 9.6), sin embargo, en esta misma condición algunas interacciones bacterianas solamente presentaron respuesta de inducción hasta las 72 h de incubación, a diferencia de la condición 1 (22°C y 60%HR) en donde se presentó inducción hasta 168 horas.

Asimismo se observaron diferencias significativas en los IID de *C. freundii* ($P \leq 0.05$) de acuerdo con la interacción con los serotipos de *E. coli*, donde los IID más altos correspondieron a la interacción de *C. freundii* y EHEC a las 120 y 168h incubados a 40°C y 85% de HR, condiciones en las que ambas bacterias mantuvieron su crecimiento (Cuadro 9.5). En contraste en la interacción de *C. freundii* y ETEC se observó que a partir de las 72 no fue detectada inducción a la actividad de la β galactosidasa, reduciéndose también el crecimiento de *C. freundii* en competencia con ETEC quien mantuvo se viable hasta las 120h (Cuadro 9.5).

Los IID de la interacción de *C. freundii* y *E. cloacae* fueron significativamente menores a los obtenidos cuando se inoculó individualmente *C. freundii* en los frutos, con respuesta de inducción solamente hasta las 72 h con 40°C y 85% de HR, lo cual sugiere que a pesar de ambas enterobacterias *C. freundii* y *E. cloacae* son capaces de producir AHLS, los IID de *E. cloacae* fueron menores a los alcanzados con *C. freundii*. Es decir en la interacción *C. freundii* y *E. cloacae* la producción de AHLS se debe principalmente a la presencia de *C. freundii* y en menor medida a *E. cloacae* (Cuadro 9.5). Podría sugerirse que bajo las condiciones de estudio y de acuerdo con la producción AHLS en la interacción mencionada, se favoreció la comunicación intra en vez de inter especies.

Cuadro 9.5. Producción de AHLS por *C. freundii* y/o EHEC y ETEC en dos condiciones de temperatura y humedad relativa.

Microorganismo	Tiempo de Muestreo (h)	Condición (1) (22°C/60%HR)		Condición (2) (40°C/85%HR)	
		Inducción de la Actividad de la β Galactosidasa	Recuento en Placa (Log ₁₀ UFC/g)	Inducción de la Actividad de la β Galactosidasa	Recuento en Placa (Log ₁₀ UFC/g)
<i>C. freundii</i>	24	7.87±0.15	8.42±0.19	15.8±0.31	8.07±0.22
	72	6.56±0.22	9.15±0.35	24.98±1.9	9.08±0.32
	120	3.49±0.22	9.57±0.53	20.56±0.9	7.90±0.30
	168	3.14±0.60	9.95±0.33	16.14±0.3	7.30±0.30
<i>C. freundii</i> + EHEC	24	4.79±0.25	7.83±0.73	ND	8.02±0.71
	72	6.36±1.08	10.05±0.26	5.64±0.50	8.87±0.95
	120	1.13±0.49	8.59±0.17	8.22±0.79	8.05±0.82
	168	ND	7.58±0.40	8.11±0.39	6.85±0.53
<i>C. freundii</i> + ETEC	24	1.53±1.03	8.86±0.70	0.22±0.85	8.87±0.46
	72	1.85±0.89	9.08±0.63	ND	6.57±0.62
	120	4.59±1.44	7.26±0.37	ND	S/C
	168	3.06±0.51	6.12±0.23	ND	S/C
<i>C. freundii</i> + <i>E. cloacae</i>	24	3.38±0.19	8.32±0.38	4.90±0.96	7.38±0.76
	72	3.37±0.46	9.20±0.55	2.6±0.61	6.07±0.51
	120	3.73±0.82	8.09±0.58	ND	S/C
	168	5.67±1.04	7.47±0.51	ND	S/C

Los índices de inducción y recuentos representan los promedios \pm las desviaciones estándar de tres repeticiones por experimento. SC Sin crecimiento, ND No Detectable.

En el Cuadro 9.6 se muestran los IID de *E. cloacae* los cuales fueron menores a los alcanzados con *C. freundii*, considerando las mismas condiciones de incubación. Se presentaron diferencias significativas en los IID cuando *E. cloacae* creció a 22°C en comparación con los obtenidos a 40°C.

La tendencia anterior se relaciona con lo reportado por Kirwan *et al.* (2006) quienes señalan que la temperatura puede ser una de las condiciones ambientales idóneas para regular la disponibilidad de AHLs a nivel celular. Los valores máximos de los IID se obtuvieron en las interacciones de *E. cloacae* con *C. freundii* y EHEC en la condición de 22°C/65%HR con 168h de incubación. También se pudo observar que a 40°C y 85% HR la actividad de inducción fue mínima o nula a partir de las 72h de incubación a excepción de la interacción *E. cloacae* con ETEC detectándose niveles de IID hasta las 120h.

Cuadro 9.6. Producción de AHLs en *E. cloacae* y/o *E. coli* (EHEC, ETEC) en dos condiciones de temperatura y humedad relativa.

Microorganismo	Tiempo de Muestreo (h)	Condición (1) (22°C/60%HR)		Condición (2) (40°C/85%HR)	
		Inducción de la Actividad de la β -Galactosidasa	Recuento en Placa (Log10UFC/g)	Inducción de la Actividad de la β Galactosidasa	Recuento en Placa (Log10UFC/)
<i>E. cloacae</i>	24	1.41±1.04	9.10±0.12	1.66±0.77	7.7±0.5
	72	2.03±0.64	9.44±0.49	1.54±0.48	6.71±0.4
	120	2.12±1.04	9.52±0.58	ND	5.69±0.17
	168	2.12±1.08	9.77±0.36	ND	S/C
<i>E. cloacae</i> +EHEC	24	ND	6.77±0.91	ND	6.44±0.07
	72	0.93±0.86	7.23±0.11	0.91±0.22	7.63±0.08
	120	2.21±0.97	8.29±0.40	ND	5.63±0.07
	168	3.75±1.08	8.49±0.25	ND	4.59±0.13
<i>E. cloacae</i> +ETEC	24	ND	8.11±0.31	1.24±0.31	7.96±0.85
	72	1.27±0.38	8.35±0.40	3.07±0.65	6.14±0.49
	120	3.07±0.92	7.87±0.29	1.99±0.72	4.56±0.45
	168	0.8±0.05	6.52±0.49	ND	3.5±0.44
<i>E. cloacae</i> + <i>C. freundii</i>	24	3.38±0.19	8.96±0.33	4.90±0.96	7.14±0.6
	72	3.37±0.46	9.34±0.81	2.6±0.61	6.10±0.4
	120	3.73±0.82	8.26±0.33	ND	S/C
	168	5.67±1.04	7.86±0.60	ND	S/C

Los índices de inducción y recuentos representan los promedios \pm las desviaciones estándar de tres repeticiones por experimento. SC Sin crecimiento, ND No Detectable.

Diferentes reportes sugieren que la producción de moléculas autoinductoras por bacterias Gram negativas puede estar relacionada con la formación de biopelículas en superficies bióticas y abióticas, contribuyendo en un riesgo de contaminación durante el procesamiento de alimentos (Carpentier y Cerf, 1993; Davies *et al.*, 1998; Lynch *et al.*, 2002; Vance *et al.*, 2003).

Lo anterior debido a que la microflora no adherida es más fácilmente eliminada durante la desinfección, en comparación con que aquella que se encuentra formando biopelículas (Michiels *et al.*, 1997; Du *et al.*, 2008).

Durante la formación de una biopelícula se pueden observar cinco etapas: a) Absorción inicial reversible de las células a la superficie, b) adherencia y producción de una sustancia polimérica extracelular (EPS), c) desarrollo temprano de la arquitectura de la biopelícula, d) maduración y e) dispersión de las células en la biopelícula (Lewis, 2001).

Según Perrot *et al.* (1998) la habilidad de los microorganismos por formar biopelículas está directamente relacionada con las condiciones de estrés ambiental como son limitaciones de nutrientes, radiación solar y variaciones de temperatura. Al respecto Else *et al.* (2003) demostraron que ambientes con humedad relativa del 100% y temperatura de 30°C son las condiciones óptimas para la adherencia y formación de biopelículas en diferentes tipos de superficies abióticas. En jitomate Iturriaga *et al.* (2007) mencionan que en condiciones de 95% de humedad relativa y 22°C son las idóneas para la formación de biopelículas por *Salmonella* sobre la superficie del fruto. En este mismo vegetal se documenta que las condiciones para producir el autoinductor-2 están directamente relacionadas con la formación de biopelículas por *E.coli O157:H7* (Lu *et al.*, 2005). Esta relación entre producción de autoinductores y formación de biopelículas permite que los microorganismos puedan colonizar o adherirse a la superficie de vegetales o bien mantenerse en comunicación con la flora nativa (Van Houdt, 2004).

Durante la adherencia de patógenos como *E. coli* y *Salmonella* sobre la superficie de vegetales están involucrados algunos polímeros como el poli β -1,6-N-acetil-D-glucosamina, ácido colánico, antígeno capsular “O” y fimbrias agregativas (Jeter y Matthyse, 2005; Solomon *et al.*, 2005). Específicamente las fimbrias curli son producidas por varias especies *Enterobacteriaceae* como son *Enterobacter sp.*, *Salmonella Typhimurium*, *E. coli* y *C. freundii* permitiéndoles la interacción y adherencia a superficies que han mostrado la formación de biopelículas (Zogaj *et al.*, 2003; Fernández *et al.*, 2003). La sobrevivencia de estos microorganismos y su capacidad de formar biopelículas, reducen la eficiencia de programas de limpieza y desinfección durante la producción de alimentos (Fett, 2000).

En la naturaleza las biopelículas se encuentran conformadas por la presencia de múltiples especies Pereira *et al.*, (2010), de ahí que en el presente trabajo se consideró la formación de biopelículas por especies simples y por interacciones bacterianas, evaluando la ocurrencia de efectos sinérgicos para su sobrevivencia en las condiciones ambientales estudiadas.

Las imágenes de microscopias de barrido mostraron a un tiempo de incubación de 1.5 horas un gran número de células bacterianas dispersas sobre la superficie de los frutos inoculados, detectándose ya iniciada la adhesión de *C. freundii* sobre el pericarpio del jitomate (Figuras 9.2 A y 9.2 B).

A partir de las 72h las microscopias correspondientes a las interacciones microbianas como *C. freundii* y ETEC revelan el desarrollo de estructuras tipo biopelículas en la superficie lográndose apreciar numerosas bacterias embebidas, considerando como condición de incubación 22°C y 65% de HR (Figura 9.2 C). Mientras que a 40°C y 85% de HR con 72 h y con la misma interacción se pudo observar que el tejido vegetal presentó varias grietas en la superficie del fruto sobre las cuales se detectaron varias células bacterianas adheridas (Figura 9.2 D).

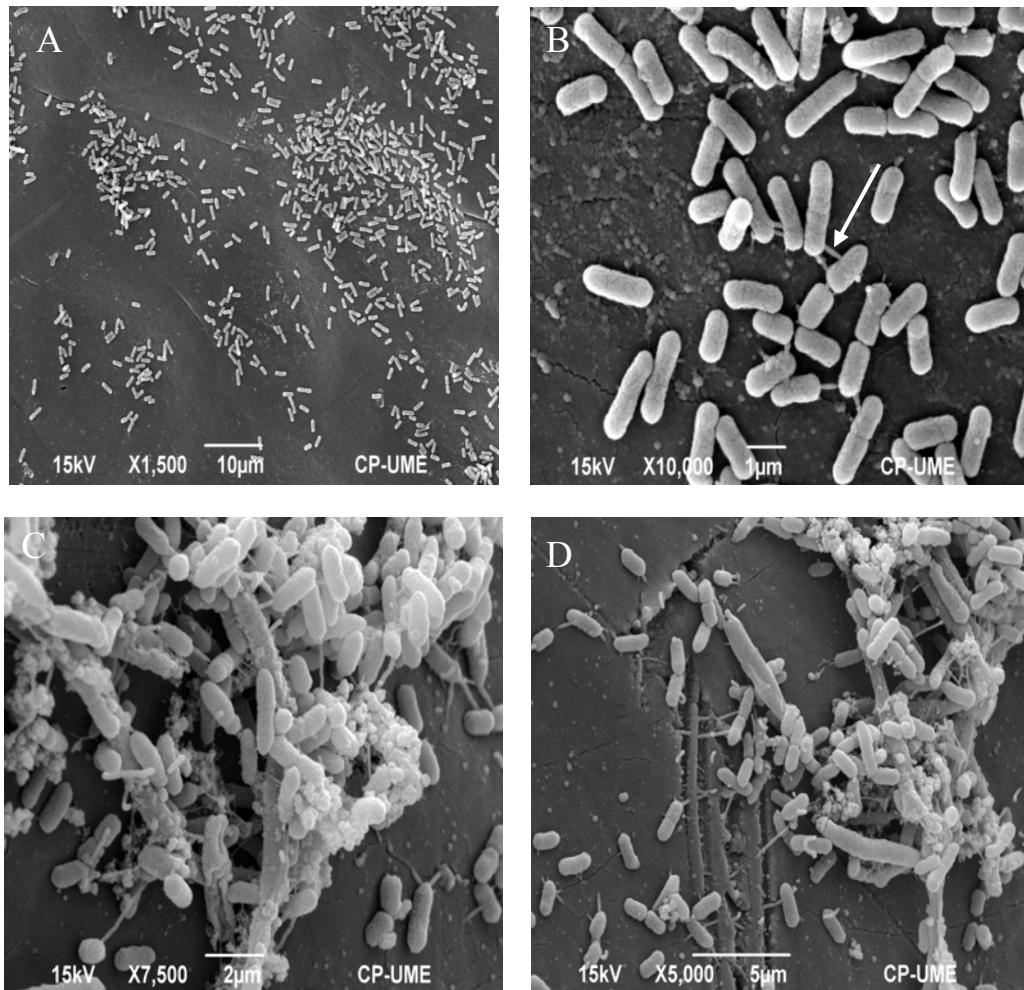


FIGURA 9.2: Microscopias de barrido en el pericarpio de jitomate inoculado con *C. freundii* y la interacción *C. freundii* y ETEC a 22 y 40°C con 65y 85% de HR. A y B) 1.5 horas las microscopias muestran iniciada la adherencia de *C. freundii* sobre la superficie del fruto. C) 72horas con 22°C y 65% de HR *C. freundii* y *E. coli* ETEC formar una estructura tipo biopelícula y D) 72horas con 40°C y 85% HR se observa la adherencia de células *C. freundii* y ETEC sobre la superficie del tejido vegetal agrietado.

Las Figuras 9.3A-9.3D corresponden a microscopías de barrido con *E. cloacae* a 40°C y 85% de HR, las cuales son similares a las reportadas por Herson *et al.* (1987) quienes evaluaron el efecto del tiempo de adherencia y formación de biopelículas en la sobrevivencia de *E. cloacae*. Después de 72 h de incubación se observaron poblaciones de células bacterianas adheridas a un material extracelular con morfología amorfa y varias estructuras bacilares. Finalmente a las 162h solamente fue posible detectar material extracelular y algunas células bacterianas embebidas. Los cambios estructurales durante la adherencia de los microorganismos nativos *E. cloacae* y *C. freundii*, pudieron estar relacionados con las condiciones de estrés generadas con los incrementos de temperatura y humedad a los que fueron expuestos durante el almacenamiento los frutos inoculados.

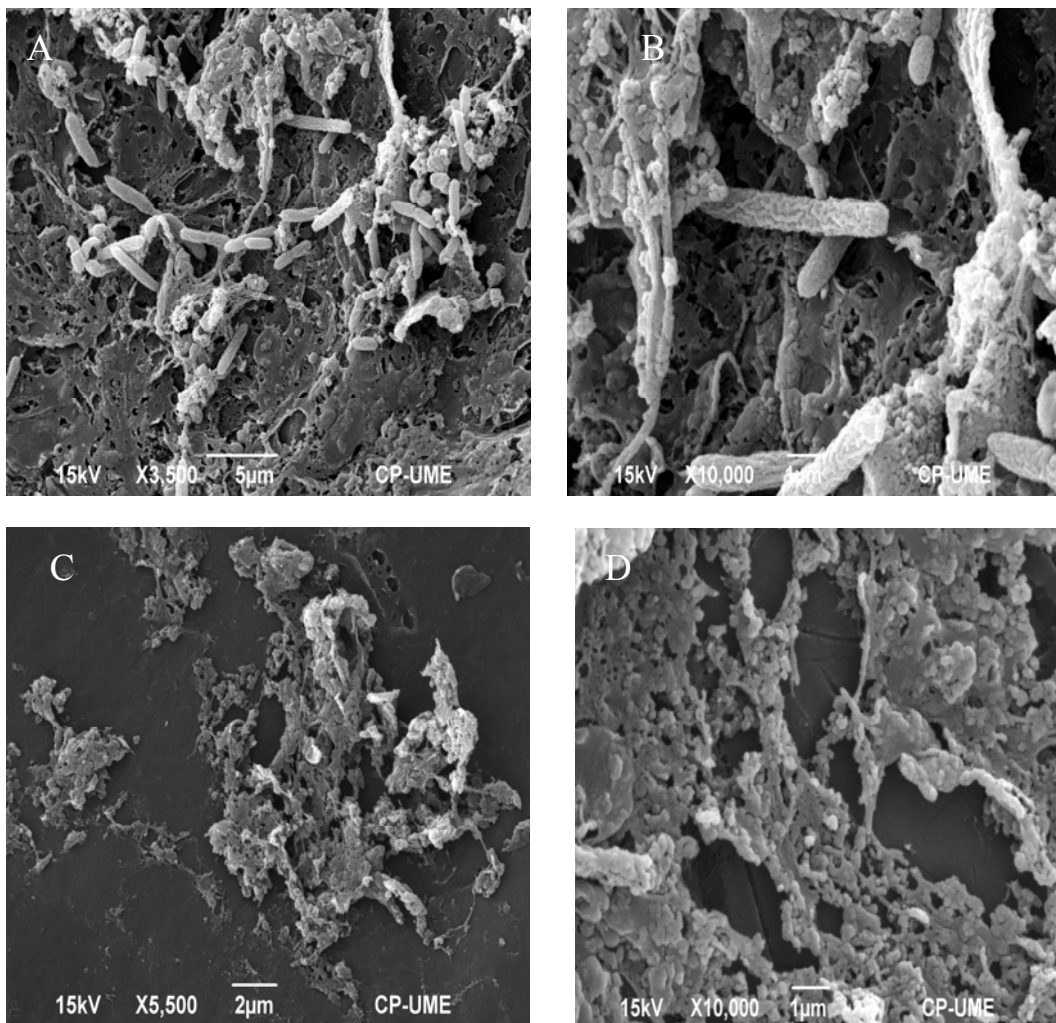


FIGURA 9.3. Microscopías de barrido de pericarpio de jitomate inoculado con *E. cloacae* a 40°C y 85% de HR. A y B) 72 horas se observan poblaciones de células adheridas y material extracelular. C y D) 162 horas de incubación se observa material extracelular y solamente algunas bacterias embebidas.

CONCLUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos en este estudio se demostró que el comportamiento de los microorganismos patógenos (*E. coli* ETEC y EHEC) y flora nativa (*E. cloacae* y *C. freundii*) son capaces de colonizar el jitomate, dependiendo directamente de las condiciones ambientales prevalecientes durante el almacenamiento de los frutos. Los recuentos más altos de la microbiota presente (patógena y nativa) se obtuvieron a 22°C y 65% de HR entre las 24 y 72h de crecimiento, condición que fue idónea para garantizar la adherencia y la formación de biopelículas sobre la superficie del fruto.

La sobrevivencia de EHEC y ETEC varió de acuerdo con su interacción con los microorganismos de la flora del jitomate, independientemente del grado de madurez de los frutos inoculados. Mientras que la actividad de las moléculas autoinducidas fue mayor con *C. freundii* y sus interacciones con los patogrupos de *E. coli* en la condición de 40°C y 85% de HR. Adicionalmente la presencia de cierta flora sobre el pericarpio del fruto tuvieron un efecto significativo sobre las propiedades físicas, específicamente las reducciones de firmeza se presentaron en frutos inoculados con las interacciones de *E. cloacae* y *C. freundii* con *E. coli* (ETEC) incubados a 40°C durante 72h de incubación. Bajo estas mismas condiciones los valores del parámetro de color a^* se incrementaron, reflejándose en frutos más rojizos los cuales fueron inoculados con *E. cloacae* y sus interacciones. Mientras que reducciones de a^* se presentaron por la presencia de *C. freundii* en frutos almacenados en ambas condiciones de temperatura y humedad (22°C/60%HR y 40°C/85%HR). Los hallazgos obtenidos pueden ser utilizados para plantear propuestas relacionadas con el biocontrol en la contaminación del jitomate ya sea durante su desarrollo o bien en su cosecha en relación con las condiciones ambientales presentes en el invernadero y con las posibles interacciones microbianas que puedan presentarse durante la colonización del fruto.

BIBLIOGRAFÍA

- Abbott D. W., Boraston A. B., 2008, Structural Biology of Pectin Degradation by *Enterobacteriaceae*, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 72: 301–316.
- Ahmer B. M., 2004, Cell-to-cell signalling in *Escherichia coli* and *Salmonella enteric*, *Molecular Microbiology*. 52: 933–945.
- Arias R., Lee T. C., Logendra L., Janes H., 2000, Correlation of lycopene measured by HPLC with the L^* , a^* , b^* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48:1697–1702.
- Baurer W., Mathesius U., 2004, Plant responses to bacterial quorum sensing signals, *Current Opinion in Plant Biology*.7: 429-433.
- Berger C. N., Sodha S. V., Shaw R. K., Griffin P.M., Pink D., Hand P., Frankel G., 2010, Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens, *Environmental Microbiology*. 12: 2385–2397.

- Beuchat L. R., 1996, Pathogenic microorganisms associated with fresh produce, *Journal of Food Protection*. 59:204–216.
- Beuchat L. R., 2002, Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables, *Microbes and infection*. 4: 413-423.
- Carpentier B., Cerf O., 1993, A review Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry, *Journal of Applied Bacteriology*. 75: 499–511.
- Castilla F. N., 2001, Manejo del cultivo intensivo con suelo: *In: El Cultivo del Tomate*, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp: 190-225.
- Clarke M. B., Sperandio V., 2005, Events at the Host-Microbial Interface of the Gastrointestinal Tract III Cell-to-cell signaling among microbial flora, host, and pathogens: there is a whole lot of talking going on, *American Journal of Physiology Gastrointestinal and liver Physiology*. 288:1105–1109.
- Cloak O. M., Solow B.T., Briggs C. E., Chen C., Fratamico P. M., 2002, Quorum Sensing and Production of Autoinducer-2 in *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella enteric* Serovar Typhimurium in food, *Applied and Environmental Microbiology*. 68:4666-4671.
- Cooley M. B., Chao D., Mandrell R. E., 2006, *Escherichia coli* O157:H7 survival and growth on lettuce is altered by the presence of epiphytic bacteria, *Journal of Food Protection*. 69: 2329–2335.
- Davies D. G., Parsek M. R., Pearson J. P., Iglewski B.H., Costerton J. W., Greenberg P. E., 1998. The involvement of cell-to cell signals in the development of bacterial biofilm, *Science*. 280: 295–298.
- Dickinson C. H., 1986, Adaptations of micro-organisms to climatic conditions affecting aerial plant surfaces, *In: Microbiology of the phyllosphere*, Fokkema N.J, Van den Heuvel J., (ed). Cambridge University, New York, USA, pp: 77-100.
- Du W. X., Olsen C. W., Avena B. R. J., Mchugh T. H., Levin C. E, Friedman A., 2008, Antibacterial Activity against *E. coli* O157:H7, Physical Properties, and Storage Stability of Novel Carvacrol-Containing Edible Tomato Films, *Journal of Food Science*. 73:378-383.
- Else T., Curtis R., Pante R., Amy S., 2003, Boundaries for Biofilm Formation: Humidity and Temperature, *Applied and Environmental Microbiology*.69: 5006–5010.
- Eribo B., Ashenafi M., 2003, Behavior of *Escherichia coli* O157H7 in tomato and processed tomato products, *Food Research International*. 36: 823-830.
- Escartín F., E., 2002, Perfil de contaminación de una planta productora de jitomate hidropónico evaluación de práctica de operación diseñadas para eliminar riesgos microbianos. Cuaderno de Trabajo. 1-13.
- FAOSTAT, 2006, Estadísticas datos agrícolas; <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>, consultada julio de 2010.
- Federle M. J., Bassler B. L., 2003, Interspecies communication in bacteria, *The Journal of Clinical Investigation*. 112:1291-1299.

- Fernández D. S. S., Flores T. F. R., Suarez H. M. A., Garza G. M. T., 2003, The effect of pH and some nutritional factors, on the ability of a native strain of *Enterobacter cloacae* to accumulate exopolysaccharides in vitro. *Biofilms 2003* (Abstracts).
- Fett W., 2000, Naturally occurring biofilms on alfalfa and other types of sprouts, *Journal of Food Protection*. 63:625–632.
- Fuqua C., Winans S. C., 1996, Conserved *cis*-acting promoter elements are required for density-dependent transcription of *Agrobacterium tumefaciens* conjugal transfer genes, *The Journal of Bacteriology*. 178: 435–440.
- Gould W., 1974, Colour and colour measurement: *In: Tomato Production Processing and Quality Evaluation*, Avi Publishing Westport, pp: 228–244.
- Greenberg P. E., 1997, Quorum sensing in Gram-negative bacteria, *ASM News*. 63: 371–377.
- Guo X., Chen J., Brackett R., Beuchat L., 2001, Survival of *Salmonella* on and in Tomato Plants from the Time of Inoculation at Flowering and Early Stages of Fruit Development through Fruit Ripening, *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 4760-4764.
- Guo X., Chen J., Brackett R., Beuchat L., 2002, Survival of *Salmonella* on Tomatoes Stored at High Relative Humidity, in Soil, and on Tomatoes in contact with soil, *Journal of Food Protection*. 65: 274-279.
- Harris L. J., Farber J. M., Beuchat L. R., Parish M. E., Suslow T. V., Garrett E. H., Busta F. F., 2003, Outbreaks associated with fresh produce: incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2:78-141.
- Herson D. S., McGonigle B., Paye M. A., Baker K.H., 1987, Attachment as a factor in the protection of *Enterobacter cloacae* from Chlorination, *Applied and Environmental Microbiology*. 53:1178-1180.
- Hobson G. E., Bedford L., 1989, The composition of cherry tomatoes and its relation to consumer acceptability, *The Journal of Horticultural Science*. 64: 321-329.
- Iturriaga M., Tamplin M., Escartin F., 2007, Colonization of Tomatoes by *Salmonella* Montevideo is affected by relative and storage temperature, *Journal of Food Protection*.70: 30-34.
- Kawaguchi T., Chen Y. P., Norman R. S., Decho A. W., 2008, Rapid Screening of Quorum-Sensing Signal *N*-Acyl Homoserine Lactones by an In Vitro Cell-Free Assay, *Applied and Environmental Microbiology*. 74: 3667-3671.
- Kirwan J. P., Gould T. A., Schweizer H. P., Bearden S.W., Murphy R. C., Churchill M. E. A., 2006, Quorum-sensing signal synthesis by the *Yersinia pestis* acyl-homoserine lactone synthase YspI, *The Journal of Bacteriology*. 188:784–788.
- Lewis K., 2001, Riddle of biofilm resistance, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45: 999–1007.
- Lu L., Hume M. E., Pillai S. D., 2005, Autoinducer-2-Like Activity on Vegetable Produce and Its Involvement in Bacterial Biofilm Formation on Tomatoes, *Foodborne Pathogens and Disease*. 2:242-249.

- Lynch M. J., Swift S., Kirke D. F., Keevil C. W., Dodd C. E., Williams P., 2002, The regulation of biofilm development by quorum sensing in *Aeromonas hydrophila*, *Environmental Microbiology*. 4:18–28.
- Merson M. H., Morris G. K., Sack D. A., Wells J. E., Feeley J. C., Sack R. B., Creech W. B., Kapikian A. Z., Gangarosa E. J., 1976, Travelers' diarrhea in Mexico, *The New England Journal of Medicine*. 294:1299-1305.
- Michiels C. W., Schellekens M., Soontjens C. C. F., Hauben K. J. A., 1997, Molecular and metabolic typing of resident and transient fluorescent pseudomonad flora from a meat mince, *Journal of Food Protection*. 60: 1515–1519.
- Noel J. T., Arrach N., Alagely A., McClelland M., Teplitski M., 2010, Specific responses of *Salmonella enterica* to Tomato Varieties and Fruit Ripeness Identified by In Vivo Expression Technology, *Plos One*. 5:1-11.
- Noeldner P. K. M., Coleman M. J., Faulks R., Oliver R. P., 1994, Purification and characterization of mannitol dehydrogenase from the fungal tomato pathogen *Cladosporium fulvum* (*syn. Fulvia fulva*), *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 45: 281-289.
- Olsen S. J., MacKinon L. C. J., Goulding S., Slutsker L., 2000, Surveillance for foodborne disease outbreaks United States, 1993–1997, *Morbidity and Mortality Weekly Report*.49:1–51.
- Orozco L., Rico R. L., Escartin E. F., 2008, Microbiological profile of greenhouses in a farm producing hydroponic tomatoes, *Journal of Food Protection*.71: 60–65.
- Paul R. E., Gross K., Qui Y., 1999, Changes in papaya cell walls during fruit ripening, *Postharvest Biology and Technology*. 16:79-89.
- Pereira A. L., Silva T. N., Gomes A., Araújo A. C. G., Giugliano L. G., 2010, Diarrhea-associated biofilm formed by enteroaggregative *Escherichia coli* and aggregative *Citrobacter freundii*: a consortium mediated by putative F pili, *The Journal of Microbiology*. 10: 3-18.
- Raffo A., La Malfa G., Fogliano V., Maiani G., Quaglia G., 2006, Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1), *Journal of Food Composition and Analysis*.19: 11-19.
- Rash M., Andersern J. B., Nielsen F. K., Ravn F. L., Christensen H., Givskov M., Gram L., 2005, Involvement of Bacterial Quorum Sensing Signals in Spoilage of Bean Sprouts, *Applied and Environmental Microbiology*. 71: 3321–3330.
- Rathinasabapathi B., 2004, Survival of *Salmonella* Montevideo on tomato leaves and mature green tomatoes, *Journal of Food Protection*. 67: 2277–2279.
- Ravn L., Christensen A. B., Molin S., Givskov M., Gram L., 2001, Methods for detecting acylated homoserine lactones produced by Gram-negative bacteria and their application in studies of AHL-production kinetics, *Journal of Microbiological Methods*. 44: 239-251.
- Romajaro F., Martínez M., 2007, Factores pre cosecha determinantes de la calidad y conservación en pos cosecha de productos agrarios, <http://www.horticom.com/pd/imagenes/65/906/65906.pdf>, consultada junio de 2010.

- Selma M. V., Fernández P. S., Valero M., 2003, Control of *Enterobacter aerogenes* by high-intensity, pulsed electric fields in horchata a Spanish low acid vegetable, *Food Microbiology*. 20: 105-110.
- Selma S., Fallik E., 2009, Microbial Quality and Safety of Fresh Produce, *In: Postharvest Handling*, Florkowski W. J., Prussia S. E., Shewfelt R. L., (ed), Academic Press, USA, pp: 352-380.
- Shi X., Wu Z., Namvar A, Kostrzynska M., Dunfield K., Warriner K., 2009, Microbial population profiles of the microflora associated with pre- and postharvest tomatoes contaminated with *Salmonella typhimurium* or *Salmonella* Montevideo, *Applied and Environmental Microbiology*. 107: 329–338.
- Smith J. L., Fratamico P. M. 2005, Diarrhea-inducing *Escherichia coli*, *In: Foodborne pathogens-microbiology and molecular biology*. Fratamico PM, Bhunia AK, Smith JL, (ed), Caister Academic Press, Norfolk, U.K. pp: 357–82.
- Solomon E. B., Niemira B. A., Sapers G. M., Annous B. A., 2005, Biofilm formation, cellulose production, and curli biosynthesis by *Salmonella* originating from produce, animal and clinical sources, *Journal of Food Protection*. 68: 906–912.
- Suslow T., 2002, Production practices affecting the potential for persistent contamination of plants by microbial foodborne pathogens, *Phyllosphere microbiology*. APS Press, St. Paul USA. pp: 241–256.
- Takahashi Y., Takahashi K., Sato M., Watanabe K., Kawano T., 1997, Bacterial Leaf Rot of Odontioda Orchids Caused by *Enterobacter cloacae*, *Annals of the Phytopathological Society of Japan*. 63:164-169.
- Thompson L. J., Gray V., D., Holy L. A., 2006, Carbon: nitrogen: phosphorus ratios influence biofilm formation by *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*, *Journal of Applied Microbiology*. 101: 1105–1113.
- Torres T., A., 2009, Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*, *In: vaccines for biodefense and emerging and neglected diseases*, Barret T. A. D., Stanberry L. R., (ed), Elsevier, California, USA, pp:1013-1028.
- Tschape H., Prager R., Streckel W., Fruth, A., Tietze E., Bohme G., 1995, Verotoxinogenic *Citrobacter freundii* associated with severe gastroenteritis and cases of hemolytic uremic syndrome in a nursery school: green butter as the infection source, *Epidemiology and Infection*. 114: 441–450.
- Tucker G., Robertson N., Grierson D., 1980, Changes in polygalacturonase isoenzymes during the ripening of normal and mutant tomato fruit, *European Journal of Biochemistry*. 112:119-124.
- Van Houdt R., Aertsen A., Jansen A., Quintana A. L., Michiels C.W., 2004, Biofilm formation and cell-to-cell signalling in Gram-negative bacteria isolated from a food processing environment, *Journal of Applied Microbiology*. 96: 177–184.
- Van Houdt R., Aertsen A., Moons P., Vanoirbeek K., Michiels C. W., 2006, N-acyl-L-homoserine lactone signal interception by *Escherichia coli*, *FEMS Microbiology Letters*. 256: 83-89.
- Vance R. E., Zhu J., Mekalanos J. J., 2003, A constitutively active variant of the quorum-sensing regulator LuxO affects protease production and biofilm formation in *Vibrio cholera*, *Infection and Immunity*. 71: 2571–2576.

- Wang H., Cai T., Weng M., Zhou J., Cao H., Zhong Z., Zhu J., 2006, Conditional production of acyl-homoserine lactone-type quorum-sensing signals in clinical isolates of enterobacterias, *Journal of Medical Microbiology*. 55: 1751-1753.
- Warriner K. F., Ibrahim M., Dickinson C., Wright W. M., 2003, Internalization of human pathogens within growing salad vegetables, *Biotechnology Genetic Engineering Reviews*. 20:117–134.
- Waters C. M., Bassler B. L., 2005, Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria, *Annual Review of Cell Developmental Biology*. 21:319–346.
- Zhang L., Dong Y., 2004, Quorum sensing and signal interference: diverse implications, *Molecular Microbiology*. 53:1563-1571.
- Zogaj X., Bokranz W., Nimtz M., Romling U., 2003, Production of cellulose and curli fimbriae by members of the family *Enterobacteriaceae* isolated from the human gastrointestinal tract, *Infection Immunity*. 71:4151-4158.

IX. CAPITULO VII

“PARAMETROS DE CALIDAD Y COMPONENTES QUÍMICOS DE JITOMATE CULTIVADO EN DIFERENTES TIPOS DE INVERNADERO Y CONDICIONES AMBIENTALES”:

“QUALITY PARAMETERS AND CHEMICAL COMPONENTS OF TOMATO GROWN IN DIFFERENT TYPES OF GREENHOUSE AND ENVIRONMENTAL CONDITIONS”

RESUMEN

Los sistemas de producción de jitomate en invernadero pueden variar de acuerdo con las condiciones de manejo y ambientales, mismas que pueden influir sobre la calidad y composición química del fruto. Entre las condiciones ambientales más importantes se encuentran: la temperatura, intensidad de la luz y humedad relativa, otros factores como el tipo de invernadero, estadio de madurez durante la cosecha, variedad y cultivar utilizado en la producción, también pueden afectar la calidad del fruto. Por lo que la presente investigación enfocó su objetivo en evaluar las variaciones en los parámetros de calidad (pH, °Bx, color, acidez titulable, índice de madurez, firmeza y azúcares totales) y los contenidos de compuestos bioactivos (licopeno, ácido ascórbico, clorofila y carotenoides totales) de frutos de jitomate provenientes de siete invernaderos de fertirrigación e hidroponía, en los que se monitorearon las condiciones ambientales. Se evaluaron frutos de las variedades *Reserva*, *Charleston*, *7705* y *La Joya*, en madurez del 50% (M50%), madurez fisiológica (MF) y madurez de consumo (MC). Las humedades relativas y temperaturas máximas presentes en los invernaderos afectaron significativamente ($P \leq 0.01$) los contenidos de licopeno y ácido ascórbico en frutos con diferentes grados de madurez de las variedades *La Joya* y *Charleston*. Los parámetros de calidad presentaron diferencias significativas de acuerdo con las variedades y grados de madurez de los frutos y fueron más estables a las condiciones extremas de temperatura y humedad relativa. La firmeza se correlacionó significativamente con los índices de color a^*/b^* , $(a^*/b^*)^2$ y contenidos de compuestos bioactivos. Se tuvieron diferencias significativas en la composición química de los frutos de acuerdo con el grado de madurez, los mayores contenidos de licopeno se obtuvieron con la variedad *Reserva* en los tres grados de madurez (6.29, 14.22 y 26.56 mg.kg⁻¹ PF) cultivados en hidroponía, mientras que para ácido ascórbico la variedad *7705* fue la que tuvo los valores más altos (35.81, 28.31 y 16.53 µg.g⁻¹ PF) y provinieron de frutos cultivados en fertirrigación.

Palabras clave: *Lycopersicum esculentum* Mill, condiciones ambientales, compuestos bioactivos, fertirrigación, hidroponía.

ABSTRACT

Systems of tomato production in greenhouses can differ according to the environmental and management conditions, which can influence the quality and chemical composition of the fruit. Among the most important environmental conditions are: temperature, light intensity and relative humidity, other factors such as greenhouse type, stage of maturity at harvest, variety and cultivar can also affect fruit quality. As this research aimed to assess changes in quality parameters (pH, ° Bx, color, acidity, maturity index, firmness and total sugars) and the contents of bioactive compounds (lycopene, ascorbic acid, chlorophyll and total carotenoids) of tomato fruits from seven hydroponics and fertigation greenhouses, and in which environmental conditions were monitored. The varieties of fruits *Reserva*, *Charleston*, *7705* and *La Joya* were assessed at maturity: 50% (50% M), physiological maturity (PM) and ripe (R). The relative humidity and high temperatures in the greenhouse affected significantly ($P \leq 0.01$) content of lycopene and ascorbic acid in fruits with different stages of maturity of varieties *La Joya* and *Charleston*. The quality parameters showed significant differences according to the varieties and stages of fruit maturity and were stadier to extreme temperatures and relative humidity. Firmness was significantly correlated to color indeces a^*/b^* , $(a^*/b^*)^2$ and content of bioactive compounds. In the chemical composition of the fruits were significant differences according to the stage of maturity, the higher content of lycopene were found at the *Reserva* variety in the three stages of maturity (6.29, 14.22 and 26.56 mg.kg⁻¹ PF) grown in hydroponics, while the variety *7705* had the highest values of ascorbic acid (35.81, 28.31 and 16.53 mg·g⁻¹ FW) and came from fruit grown in fertirigation.

Keywords: *Lycopersicum esculentum* Mill, *bioactive compounds*, *environmental conditions*, *fertirigation*, *hydroponics*.

INTRODUCCIÓN

La producción del tomate o jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) se reconoce a nivel mundial como uno de los principales cultivos, lo cual se justifica por su importancia en la dieta del ser humano (FAOSTAT, 2006). En México el cultivo de jitomate en invernadero se ha incrementado notablemente en los últimos diez años, con 148,000 tm correspondientes a 950 ha, gran parte se exporta a Estados Unidos, Canadá y Europa (Cook *et al.*, 2005). Durante la producción de jitomate se involucran un gran número de interacciones complejas entre el cultivar, el ambiente y el manejo del cultivo; donde cada uno juega un papel en la calidad del fruto (Schnitzler y Gruda, 2003). Los atributos de calidad del jitomate son evaluados a través de las propiedades físico-químicas del fruto, entre las que destacan: el contenido de sólidos solubles totales (°Brix), pH, peso, contenido de ácidos orgánicos (acidez titulable), color, firmeza, sabor y aroma. Algunos de estos atributos están directamente relacionados con la preferencia del consumidor y con los parámetros para la comercialización y procesamiento del fruto (Kader *et al.*, 1977).

La composición química del jitomate es muy variada, actualmente estudios epidemiológicos sugieren que ciertos componentes conocidos como *fitoquímicos* están directamente relacionados con la prevención de ciertas enfermedades crónico-degenerativas de tipo cardiovasculares y cancerígenas (Weisburger, 1999; Willcox *et al.*, 2003.) Actualmente estas propiedades antioxidantes se relacionan con la presencia de compuestos conocidos como “bioactivos” entre los que destacan el licopeno, carotenoides, ácido ascórbico, flavonoides y vitamina E. (Raffo *et al.*, 2006).

Para mejorar la producción de jitomate se han implementado sistemas especiales de producción que incluyen hidroponía y fertirrigación. Sin embargo, estos sistemas agrícolas pueden variar de acuerdo con las condiciones de manejo y ambientales, mismas que influyen en las parámetros de calidad y composición química del fruto (Dumas *et al.*, 2003; Brandt *et al.*, 2006; y Juroszek *et al.*, 2009). Entre los factores ambientales de importancia se encuentran la temperatura, humedad relativa, intensidad de la luz, naturaleza del suelo, etc. Mientras que las condiciones de cultivo consideran el abonado, riego, poda, tratamiento, etc. (Valero *et al.*, 2002).

Por otra parte se sabe que las variaciones en el contenido y composición química del fruto de jitomates están relacionados con la variedad, grado de madurez, prácticas de cultivo, condiciones de temperatura y luminosidad que existen durante la producción, almacenamiento y comercialización del fruto (Abushita *et al.*, 2000; Binoy *et al.*, 2004).

De ahí que el presente trabajo tuvo como objetivo determinar la variabilidad en los parámetros de calidad y composición fitoquímica del jitomate; considerando diferentes grados de madurez, cultivares, condiciones ambientales y sistemas de producción.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El estudio se realizó en siete invernaderos tipo microtúnel, durante el ciclo primavera-verano del 2008 (febrero-julio), en las localidades de Aquixtla, Tlaltempa, La Loma y Cuautieco, pertenecientes al Municipio de Aquixtla, Puebla, se consideraron los dos sistemas de producción predominantes en la región: hidroponía y fertirrigación. Las variedades y tipos de jitomate cultivados en cada comunidad, fueron: “*Reserva*” tipo saladette en localidad de La Loma y Aquixtla, “*Charleston*” tipo bola y “7705” tipo saladette en Cuautieco y *La Joya* y *Aníbal* tipo saladette en Tlaltempa. Las plántulas de cada variedad fueron trasplantadas a las cuatro semanas de edad y a partir de la etapa de floración se consideró el marcaje de las plantas para identificar y registrar los grados de madurez. Los frutos con 50% de madurez (M50%), madurez fisiológica (MF) y de consumo (MC) correspondieron a 62, 69 y 76 días de crecimiento posteriores a la floración. Para la cosecha de los frutos además del marcaje se relacionó la coloración de los frutos de acuerdo con la carta de color de la USDA (United States Department of Agriculture), los estadios de madurez del 50%, madurez fisiológica y de consumo coinciden con la evaluación visual: inicio pintón (3), rosado (4) y rojo oscuro (6), respectivamente.

Monitoreo de condiciones ambientales

Las condiciones ambientales monitoreadas en los invernaderos fueron la temperatura (°C), la radiación fotosintéticamente activa (RFA, $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) y la humedad relativa (%HR) recibidas en el interior de cada invernadero a un metro por encima de la altura total de las plantas. Las mediciones se realizaron con un Datalogger (Marca HOBO), el cual se colocó en un soporte de acrílico y se suspendió en la parte central de la estructura. El registro de las condiciones ambientales se realizó cada hora desde el momento del trasplante. Para relacionar las variables climáticas con los resultados obtenidos en la composición química de los frutos, se consideraron los datos de los últimos 12 días que son decisivos en la pre-cosecha para alcanzar los diferentes grados de madurez del fruto (50%: M50%, madurez fisiológica: MF y madurez de consumo: MC) en las diferentes variedades cultivadas en los invernaderos bajo los sistemas de hidroponía y fertirrigación; manteniendo tres días previos a cada cosecha. (Brandt *et al.*, 2006).

Parámetros de calidad

Las determinaciones se realizaron en frutos con tres grados de madurez (M50%, MF y MC) con cuatro repeticiones se incluyeron las características internas de los frutos (pH, sólidos solubles totales-°Brix y acidez titulable-AT) y a las características externas (color y firmeza).

Características internas

Se determinaron en jugo extraído a partir de 10 g de fruto en los diferentes grados de madurez. La lectura del pH se realizó con un potenciómetro WPA-CD310 (AOAC, 1990) y los °Brix con un refractómetro digital ATAGO 3840 (AOAC, 1990). Los °Brix fueron expresados como porcentaje (%) de sólidos solubles totales. La acidez titulable se determinó por titulación con NaOH al 0.1 N hasta alcanzar un pH de 8.1 y se expresó como equivalentes de ácido cítrico (% p/v) (Mencarelli y Salveit, 1988). Los índices de madurez (IM) se calcularon mediante la relación °Brix/acidez titulable. Los contenidos de azúcares totales se determinaron mediante el método de Antrona de acuerdo con (Montreuil *et al.*, 1997) con modificaciones para un micro método. Se realizaron tres extracciones sucesivas de un 1g de tejido con 5 mL de etanol al 80% en baño maría a temperatura de ebullición. Las determinaciones colorimétricas se detectaron a una absorbancia de 625 nm y se utilizó glucosa como estándar. Los contenidos de azúcares fueron expresados en $\text{g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ de Peso Fresco (PF).

Características externas

Se determinaron en la zona ecuatorial del fruto, donde el color fue evaluado utilizando el sistema CIELab con un colorímetro colorflex *Mod* 6405. Las mediciones fueron realizadas en la superficie del fruto y en tres partes diferentes (base, media y apical), considerando las coordenadas cromáticas L^* (luminosidad), a^* (verde/rojo) y b^* (amarillo/azul). A su vez los valores a^* y b^* se ocuparon para calcular los índices a^*/b^* , $(a^*/b^*)^2$, el tono o cromaticidad (Cr) con la relación $\text{Cr}=(a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ y el ángulo Hue o ángulo de matiz mismo que se calculó con $\text{Hue}=\text{Tan}^{-1}(b^*/a^*)$ (Arias *et al.*, 2000). Mientras que la firmeza (Kg^f) se determinó con un penetrómetro (TR Mod ST32) y fue medida en términos de la deformación producida mediante un puntal cónico y penetración de 2 mm.

Compuestos bioactivos: ácido ascórbico total, licopeno, clorofila y carotenoides totales

Las determinaciones de ácido ascórbico total se realizaron por el método descrito por Foyer *et al.* (1983) con modificaciones basadas en el método de Kampfenkel *et al.* (1995). Las lecturas se realizaron en un espectrofotómetro UV/VIS JENWAY UV-S2000 y la diferencia entre la absorbancia inicial y final indicaron el contenido de ácido ascórbico total, los resultados se expresaron como $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF. El licopeno se determinó por el método espectrofotométrico propuesto por Sadler *et al.* (1990) con modificaciones descritas por Fish *et al.* (2002). La extracción se hizo con 0.5 ± 0.01 g de muestra en 5 mL de hidroxitolueno butilado (BHT, Sigma W218405), acetona al 0.05% (p/v), 5 mL de etanol al 95% y 10 mL de hexano. La absorbancia del sobrenadante se leyó a una longitud de onda de 503 nm, con un espectrofotómetro JENWAY UV-S2000, los resultados fueron expresados como $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ PF.

Para las determinaciones de clorofila y carotenoides totales se realizaron extractos con acetona al 80% (v/v). La concentración de cada pigmento se determinó de acuerdo a Lichtenthaler y Wellburn (1985) y se expresaron en $\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$ PF.

Análisis estadístico

Se realizó con el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS), versión 6.12 (SAS Institute, 1988). Los datos se analizaron bajo un diseño completamente al azar, se utilizaron análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$ y 0.01 para evaluar el efecto de las condiciones ambientales, grado de madurez, sistema de producción y variedades sobre los parámetros de calidad y composición de bioactivos. Adicionalmente se realizaron análisis de comparación de medias de acuerdo con la prueba de Tukey para determinar las diferencias significativas y coeficientes de correlación de Pearson y para relacionar los parámetros evaluados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones ambientales

Dentro de un invernadero se busca un microclima que favorezca el crecimiento de las plantas donde los factores ambientales, especialmente la temperatura, intensidad de luz y humedad relativa pueden tener una influencia directa sobre la composición nutricional y atributos de calidad como firmeza y propiedades sensoriales de los frutos (Dorais *et al.*, 2001; Kader, 2007). Otros factores relevantes que pueden influir sobre la composición química son el sistema de producción, estado de madurez en el momento de la cosecha así como variedad botánica y cultivar (Giovanelli *et al.*, 1999; Abushita *et al.*, 2000; Juroszek *et al.*, 2009). En el Cuadro 10.1 se presentan las lecturas mínima (Min), moda (Mo) y máxima (Max) de las condiciones ambientales como temperaturas y humedad relativa registradas en el interior de los invernaderos. Existieron diferencias significativas ($P < 0.05$) particularmente entre las TMin, TMo y TMax considerando los tres grados de madurez (M50%, MF y MC) y entre variedades siendo los invernaderos bajo el sistema de fertirrigación las que mostraron T menores en comparación con los hidropónicos. Los frutos de M50% de las variedades 7705 y Charleston fueron expuestos a temperaturas más bajas en invernadero de fertirrigación (5.99 ± 2.17 °C) e hidroponía (8.22 ± 1.7 °C) respectivamente, cabe mencionar que ambos tipos de invernaderos se encuentran ubicados en la misma localidad (Cuautieco). Mientras que la TMo fue de 9.42 a 14.38 °C en los invernaderos de fertirrigación y 10.38 a 16.38 °C en los hidropónicos, estos intervalos de temperatura se encuentran por debajo de la T idónea (24 a 28 °C) para el cultivo de jitomate en invernadero (Nuez, 2001). Los valores de TMax alcanzados sobrepasaron las temperaturas óptimas siendo más altas en los invernaderos bajo el sistema de fertirrigación, específicamente donde fue cultivada la variedad *La Joya*, alcanzándose T de 37.95, 40.75 y 35.92 °C durante los tres grados de madurez, estos incrementos de T ocasionaron reducciones significativas en los %HR durante los grados de madurez del 50% y MF del 86 y 71%, respectivamente.

Adicionalmente las modas correspondientes a los porcentajes de HR estuvieron por encima del 78%, incluso se presentaron en los grados de madurez del 50% en los invernaderos con la variedad *Reserva* y 7705 humedades del 100%. Según Castilla, (2001) los valores óptimos de humedad relativa deben encontrarse entre 65 y 70% lo que permite una adecuada transpiración del cultivo, cuando se exceden estos rangos se

crea un ambiente favorable para el desarrollo de patógenos y deficiencias de calcio en frutos y hojas.

Cuadro 10.1. Valores promedio de las condiciones ambientales prevalecientes en el cultivo de variedades de jitomate en invernaderos de fertirrigación e hidroponía.

<i>Condiciones Ambientales</i>						
<i>Variedades de Invernaderos Fertirrigación</i>						
	<u>Temperatura</u>			<u>Humedad Relativa</u>		
	Min	Mo	Max	Min	Mo	Max
<i>Reserva(1)</i>						
M50%	9.3abc	14.2 a	32.7ab	24.8 a	91.6ab	91.6ab
MF	13.41a	14.38ab	33.7ab	24.7d	91.8 a	94.6 a
MC	12.74 a	13.99 a	28.1bc	37.4bc	93.1 a	94.7b
<i>Reserva (2)</i>						
M50%	12.06 a	13.89ab	35.59a	26.2 a	100 a	100 a
MF	9.51 a	13.3ab	27.6b	34.3bc	88.2 a	91.6 a
MC	11.77 a	13.99 a	25.3bc	43.5ab	91.7 a	94.8b
<i>La Joya</i>						
M50%	11.38ab	12.44abc	37.9 a	24.0 a	26.3c	86.1b
MF	10.80abc	12.64ab	40.7a	23.02d	28.0 b	71.1b
MC	8.52b	12.96a	35.9a	23.6 c	91.0a	93.7b
<i>7705</i>						
M50%	5.99c	9.42c	22.9b	41.3 a	100 a	100 a
MF	8.63c	10.31b	37.1 a	23.9d	93.07 a	92.6 a
MC	11.18ab	13.13 a	31.9ab	26.4c	78.8 a	100 a
<i>Variedades de Invernaderos Hidroponía</i>						
<i>Charleston</i>						
M50%	8.22bc	10.7bc	38.66a	23.8 a	60.7bc	95.2ab
MF	11.48abc	11.8ab	33.6ab	25.4cd	80.6 a	99.0a
MC	10.11ab	12.72 a	37.7a	23.7c	97.7 a	99.3 a
<i>Reserva</i>						
M50%	9.81ab	10.11c	32.8ab	27.9 a	100 a	98.6 a
MF	12.84ab	16.38 a	26.2b	47.20 a	94.62 a	96.53 a
MC	12.06 a	15.71 a	21.62c	58.32 a	93.85 a	96.83ba
<i>Aníbal</i>						
M50%	12.05 a	12.30abc	36.43b	27.20 a	96.82ab	99.20 a
MF	9.80bc	14.30ab	25.41b	41.4ab	88.83 a	93.11 a
MC	12.45 a	13.70 a	24.80c	45.4ab	92.50 a	96.50ab

Condiciones con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey (5%).

Otra condición ambiental que debe controlarse durante la producción de jitomate es la radiación fotosintéticamente activa (RFA) la cual es responsable de la fotosíntesis, el fotoperiodo y la fotomorfogénesis, procesos importantes que rigen el crecimiento de la planta (Aderoye y Jolliffe, 1987). Los valores de RFA Min evaluados en los invernaderos fueron de $0.53 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ mientras que los valores máximos variaron entre 212 hasta $299 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, donde los valores de RFA tendieron a reducirse conforme se incrementó el grado de madurez (datos no presentados).

Parámetros de calidad

La calidad óptima para el consumo de jitomate fresco se obtiene conforme la maduración del fruto, entre los atributos de calidad interna se encuentran los sólidos solubles totales, acidez titulable y pH, que son considerados como principales parámetros responsables del sabor y están directamente relacionados con la calidad percibida por los consumidores (Hobson y Bedford, 1989). Estos atributos dependen de las condiciones ambientales de crecimiento y maduración del fruto entre los factores ambientales que determinan la maduración se encuentra la luz, temperatura, humedad relativa, composición de la atmósfera, por mencionar algunos (Brandt *et al.*, 2006). En los Cuadros 10.2 y 10.3 se presentan los parámetros de calidad de frutos de jitomate cosechados a diferentes grados de madurez en invernaderos de hidroponía y fertirrigación. En esta investigación los valores de pH presentaron diferencias significativas en los grados de madurez del 50% y MF, independientemente de la variedad, siendo los frutos cultivados en los invernaderos de hidroponía más ácidos que los de fertirrigación. Estos frutos provinieron de la variedad *La Joya* (3.99 a 4.28) y *Charleston* (3.77 ± 0.07 y 3.74 ± 0.09) cultivados con el sistema de fertirrigación e hidroponía respectivamente. Sin embargo, los valores de pH de frutos con madurez de consumo no presentaron diferencias y fueron ligeramente menores a los reportados por Hernández *et al.* (2008) con valores de pH de 4.6.

Los invernaderos donde fueron cultivadas las variedades antes mencionadas presentaron las T máximas, según Romajaro *et al.* (2006) un incremento en ésta condición ambiental durante el periodo pre cosecha puede originar alteraciones en otras propiedades fisicoquímicas como lo son los sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) y la acidez titulable (AT). Por su parte Kader y Morris, (1977) consideran que los $^{\circ}\text{Bx}$ y la AT son los principales responsables del sabor del jitomate y están directamente relacionados con la percepción de calidad por parte del consumidor. En general los valores de $^{\circ}\text{Bx}$ fueron mayores al 3% y la AT superiores a 0.32% considerando los tres grados de madurez, lo cual según Flores *et al.* (2009) están relacionados con frutos de buena calidad y sabor.

En cuanto a los $^{\circ}\text{Bx}$ y contenido de azúcares totales se presentó un efecto altamente significativo ($P\leq 0.01$) con respecto al grado de madurez, observándose una reducción de los $^{\circ}\text{Bx}$ en frutos menos maduros y diferencias significativas de acuerdo con el sistema de producción.

Esta tendencia concuerda con lo reportado por Molyneux *et al.* (2004) quienes encontraron que los niveles más bajos en sólidos solubles totales se presentaron en

frutos de jitomate cosechados en estadios tempranos de desarrollo, en comparación con aquellos que se habían tornado rojos.

Según Kader (1987) se produce una reducción de los sólidos solubles y azúcares totales debido a que los frutos sufren el proceso metabólico de respiración durante la maduración y por tanto se consumen azúcares como la glucosa y fructosa como principales sustratos. Entre las variedades cultivadas en los sistemas de fertirrigación, los frutos de *Reserva (S2)* en madurez de consumo tuvieron un contenido mayor de azúcares $2.6 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ PF y $4.9 \text{ }^\circ\text{Bx}$ en comparación a *Reserva(S1)* $1.17 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ PF y $4.35 \text{ }^\circ\text{Bx}$, cultivadas en localidades diferentes Aquixtla y La Loma respectivamente.

Cuadro 10.2. Parámetros de calidad interna de diferentes variedades de jitomate en tres estados de madurez y cultivados en hidroponia.

	Grado de Madurez	Variedades		
		<i>Charleston</i>	<i>Reserva</i>	<i>Aníbal</i>
pH	50%	3.77±0.07 c	4.3±0.16b	4.6±0.07 a
	MF	3.74±0.09 b	4.5±0.05a	4.61±0.06 a
	MC	4.28±0.06 a	4.4±0.10 a	4.37±0.14 a
°Brix	50%	3.85±0.12 ab	4.3±0.24a	3.5±0.42b
	MF	4.35±0.19 b	5.1±0.19 a	3.42±0.1c
	MC	4.53±0.61 a	5.3±0.14 a	4.65±0.38 a
AT	50%	0.39±0.02 a	0.44±0.11a	0.33±0.07 a
	MF	0.33±0.03 ab	0.37±0.06a	0.26±0.03b
	MC	0.36±0.04 a	0.43±0.04 a	0.39±0.11 a
IM	50%	9.78±0.66 a	10.20±2.4 a	10.89±2.13 a
	MF	12.96±0.62 a	14.28±2.5 a	13.23±1.34a
	MC	12.38±0.79 a	12.37±1.4 a	12.94±1.3 a
Firmeza	50%	8.1±1.02 a	6.77±0.91 a	8.37±0.58 a
	MF	7.0±0.51 a	6.24±0.70 a	6.16±0.79 a
	MC	4.55±0.21 a	4.02±1.0a	3.42±0.33 a
Azúcares Totales	50%	1.28±0.11a	0.59±0.41b	0.32±0.07c
	MF	1.26±0.57b	1.61±0.24a	0.77±0.08c
	MC	1.32±0.15b	2.54±0.44 a	0.98±0.06b

Valores medios de los parámetros de calidad con la misma letra son estadísticamente iguales dentro de un mismo grado de madurez, según la prueba de Tukey (5%). AT = acidez titulable (% ac. cítrico); 50% = Madurez del 50% MF = Madurez fisiológica; MC = Madurez de consumo, IM= Índice de Madurez.

Las diferencias en los contenidos pudieron deberse principalmente a las condiciones de manejo del cultivo en ambos invernaderos, sin embargo, ambos valores son menores a los reportados por Sima *et al.* (2010) cuyos contenidos de azúcares fueron de $3.7 \text{ g}\cdot 100\text{g}^{-1}$ PF y $6 \text{ }^\circ\text{Bx}$, en frutos cultivados con sistema de fertirriego. Mientras que en los frutos de hidroponia la variedad *Reserva* mantuvo los contenidos mayores de azúcares en comparación con las variedades *Aníbal* y *Charleston*.

Es decir se observó que independientemente del sistema de producción utilizado (hidroponia o fertirrigación) la variedad *Reserva* mantuvo contenidos de azúcares similares (2.60 ± 0.22 y 2.54 ± 0.44 g·100g⁻¹ PF).

Cuadro 10.3. Parámetros de calidad interna de diferentes variedades de jitomate en tres estados de madurez y cultivados en invernaderos bajo el sistema de fertirrigación.

	Grado de Madurez	Variedades			
		<i>Reserva(S1)</i>	<i>Reserva(S2)</i>	<i>La Joya</i>	<i>7705</i>
pH	50%	4.24±0.4a	4.34±0.2a	3.99±0.2b	4.33±0.3 a
	MF	4.17±0.1a	4.32±0.2a	3.98±0.1b	4.21±0.1a
	MC	4.39±0.6 a	4.31±0.2 a	4.28±0.2b	4.49±0.5 a
°Brix	50%	3.07±0.1b	4.42±0.3a	4.07±0.4 a	3.37±0.13b
	MF	3.27±0.2b	4.47±0.4 a	4.55±0.3 a	3.50±0.11b
	MC	4.35±0.5 a	4.90±0.4 a	4.30±0.3 a	4.40±0.14 a
AT	50%	0.26±0.03b	0.34±0.07a	0.29±0.05 a	0.25±0.02 a
	MF	0.27±0.02bc	0.39±0.03 a	0.28±0.01b	0.21±0.01c
	MC	0.41±0.03b	0.41±0.03 a	0.31±0.04c	0.31±0.03c
IM	50%	11.71±0.5a	13.46±1.13a	13.90±2.25 a	13.23±0.03a
	MF	12.57±0.97a	11.59±1.84b	16.40±1.39a	16.04±1.2a
	MC	10.65±0.59b	11.19±0.5 c	13.99±2.34ab	14.39±2.0a
Firmeza	50%	7.77±0.59b	11.35±1.86 a	9.25±1.7ab	7.0±0.14b
	MF	5.72±0.68 bc	6.82±1.53 b	8.17±0.45 a	5.3±0.08c
	MC	3.62±0.58 ab	4.53±1.10 a	3.23±0.59ab	2.4±0.34b
Azúcares	50%	0.41±0.1d	0.69±0.16 c	0.97±0.15 b	1.18±0.26 a
Totales	MF	0.47±0.2c	1.11±0.09 b	1.19±0.13ab	1.39±0.10a
	MC	1.17±0.3c	2.60±0.22 a	1.69±0.15 b	1.43±0.1 bc

Valores medios de los parámetros de calidad con la misma letra son estadísticamente iguales dentro de un mismo grado de madurez, según la prueba de Tukey (5%). AT= acidez titulable (% ac. cítrico); 50% = Madurez del 50% MF = Madurez fisiológica; MC = Madurez de consumo, IM= Índice de Madurez.

Además de los azúcares que constituyen 60% de los sólidos solubles, los ácidos orgánicos, principalmente el cítrico y en menor medida el málico, aminoácidos, lípidos y minerales determinan el sabor del jitomate El contenido de ácido cítrico se encuentra directamente relacionado con la acidez titulable (AT) del fruto (Peiris *et al.*, 1998).

En este estudio, en general se observó que los valores más altos de AT se presentaron en frutos con madurez del 50% (0.44 a 0.25 %) y MC (0.43 a 0.31 %), siendo estos ligeramente menores a los reportados (0.5 %) por Hernández *et al.* (2007).

En los Cuadros 10.2 y 10.3 también se muestran las diferencias significativas de AT entre variedades al considerar un mismo grado de madurez y sistema de producción (hidropónico o fertirrigación), donde destaca la variedad *Reserva* que mostró los contenidos mayores de ácido cítrico en frutos provenientes de invernaderos con hidroponia y/o fertirrigación en los tres grados de madurez.

Las correlaciones entre la AT y la T y % HR presentes en los invernaderos, presentaron coeficientes de correlación menores a $r=0.3$, que concuerda con los datos reportados por Pichia (1986) quien considera que las condiciones ambientales como temperatura y humedad relativa no afectan significativamente el contenido de ácido cítrico en frutos de diferentes variedades de jitomate. Mientras que la relación sólidos solubles y acidez titulable que indican el índice madurez (IM), son importantes para definir las diferencias en el “*flavor*” entre cultivares de jitomate, idealmente se espera un incremento en el nivel de azúcares y una concentración óptima de ácidos, mientras que un incremento de estos últimos propicia una disminución en la aceptabilidad del fruto (Malundo *et al.*, 1995). Los IM obtenidos en los invernaderos de hidroponía tendieron a ser más constantes en los diferentes grados de madurez en comparación con los frutos cultivados en fertirrigación, donde la variedad *Reserva* con frutos de MF y MC presentaron diferencias significativas entre sí. Finalmente los IM evaluados en frutos de MC provenientes de invernaderos de hidroponía y fertirrigación fueron mayores a 10, lo cual según Nielsen (2003) pueden considerarse como frutos organolépticamente adecuados para su consumo.

Otro factor relacionado con la calidad del jitomate es la firmeza, misma que forma parte de los requisitos de preferencia del consumidor junto con el color (Romojaro *et al.*, 2005). La firmeza está estrechamente relacionada con la resistencia que opone el fruto para ser deformado, entre los principales compuestos que determinan la conformación se encuentran la pectina, celulosa, hemicelulosa y proteínas (Valero *et al.*, 2002). Conforme ocurre la maduración la firmeza de los frutos tiende a reducirse, lo cual se debe a la acción de tres enzimas principales: celulasas, pectinesterasa y poligalacturonasa siendo esta última la que mejor se correlaciona con el ablandamiento, ya que su concentración se incrementa durante la maduración del jitomate (Tucker *et al.*, 1980). En esta investigación no solamente se observó un efecto significativo del grado de madurez sobre la firmeza del fruto ($P \leq 0.01$), sino que además se presentaron diferencias significativas por condiciones de manejo del cultivo, siendo los frutos cultivados en fertirrigación los que presentaron 15 % mayor firmeza en comparación con los de hidroponía.

Lo anterior pudo evidenciarse entre variedades de los frutos *Reserva(S2)* y *La Joya* en el grado de madurez del 50%, cultivados en fertirrigación quienes presentaron valores más altos de firmeza, 11.35 ± 1.86 y 9.25 ± 1.7 Kg^f, respectivamente. Sin embargo, los frutos de MC más firmes fueron de la variedad *Charleston* tipo bola cultivados en hidroponía, con 50% mayor firmeza que los evaluados de la variedad 7705 tipo saladette y cultivados en fertirrigación (4.5 y 2.4 Kg^f). Los cambios en firmeza fueron determinados en frutos que se maduraron en la planta, los cuales pueden diferir respecto a los de frutos cosechados previos a la madurez de consumo y que regularmente son expuestos a ciertas condiciones de almacenamiento. Lo anterior puede deberse a los cambios fisiológicos que se dan en el fruto una vez cosechados, quienes pierden agua durante la transpiración y respiración misma que ya no es reemplazada por la planta teniendo como consecuencia la pérdida de turgencia en el fruto (Giovannoni, 2004).

Otro buen indicador de calidad de frutas y hortalizas frescas es el color, el cual específicamente en jitomate es determinante para la decisión de su compra y es un atributo considerado por la industria para su procesamiento (Gould, 1974; Arias *et al.*, 2000).

Es decir el color en el jitomate es la característica externa más importante en la determinación del punto de maduración y de la vida post-cosecha. De acuerdo con los parámetros evaluados de la escala de HunterLab los valores L^* y b^* presentaron diferencias significativas entre variedades, que muestran una reducción importante de acuerdo con la maduración del fruto (Figura 10.1 A), lo anterior como consecuencia de la síntesis de los carotenoides y disminución de las tonalidades verdosas (Shewfelt *et al.*, 1988).

En frutos con 50% de madurez no se observó un efecto significativo en a^* y b^* por el tipo de sistema de producción utilizado, sin embargo, los valores promedios de L^* tendieron a ser mayores en frutos cultivados con fertirriego en comparación con los hidropónicos. Los frutos con MF no presentaron diferencias significativas entre variedades ni por tipo de invernadero, obteniéndose los valores más altos de L^* con la variedad *Charleston* tipo bola, es decir fueron frutos con mayor luminosidad, esta misma tendencia se observó en el grado de madurez de consumo. Así mismo los valores de a^* se incrementaron con respecto al grado de madurez (Figura 10.1B) y fueron las variedades 7705 y *Anibal* (37.98 y 35.11), tipo saladette y cultivados en fertirrigación, las que tuvieron frutos de una coloración rojiza más intensa. Mientras que los frutos con MC de las variedades *La Joya* (fertirrigación) y *Charleston* (hidroponia) presentaron valores menores del parámetro a^* 30.59 y 32.64 respectivamente, los cuales podrían relacionarse con las T máximas durante la maduración de los frutos dentro de los invernaderos (Cuadro 10.2 y Figura 10.1B). También se detectó que los valores de a^* se correlacionaron negativamente con los valores de firmeza ($r = -0.79$) y ambos parámetros dependen de los cambios fisiológicos del fruto.

Mientras que las lecturas de color consideradas por los índices *Hue*, *Chroma* y las razones a^*/b^* , y $(a^*/b^*)^2$ se relacionan con los contenidos de pigmentos en los alimentos, específicamente en jitomate pueden referirse al contenido de licopeno en frutos maduros (Wold, *et al.*, 2004; Brandt *et al.*, 2006).

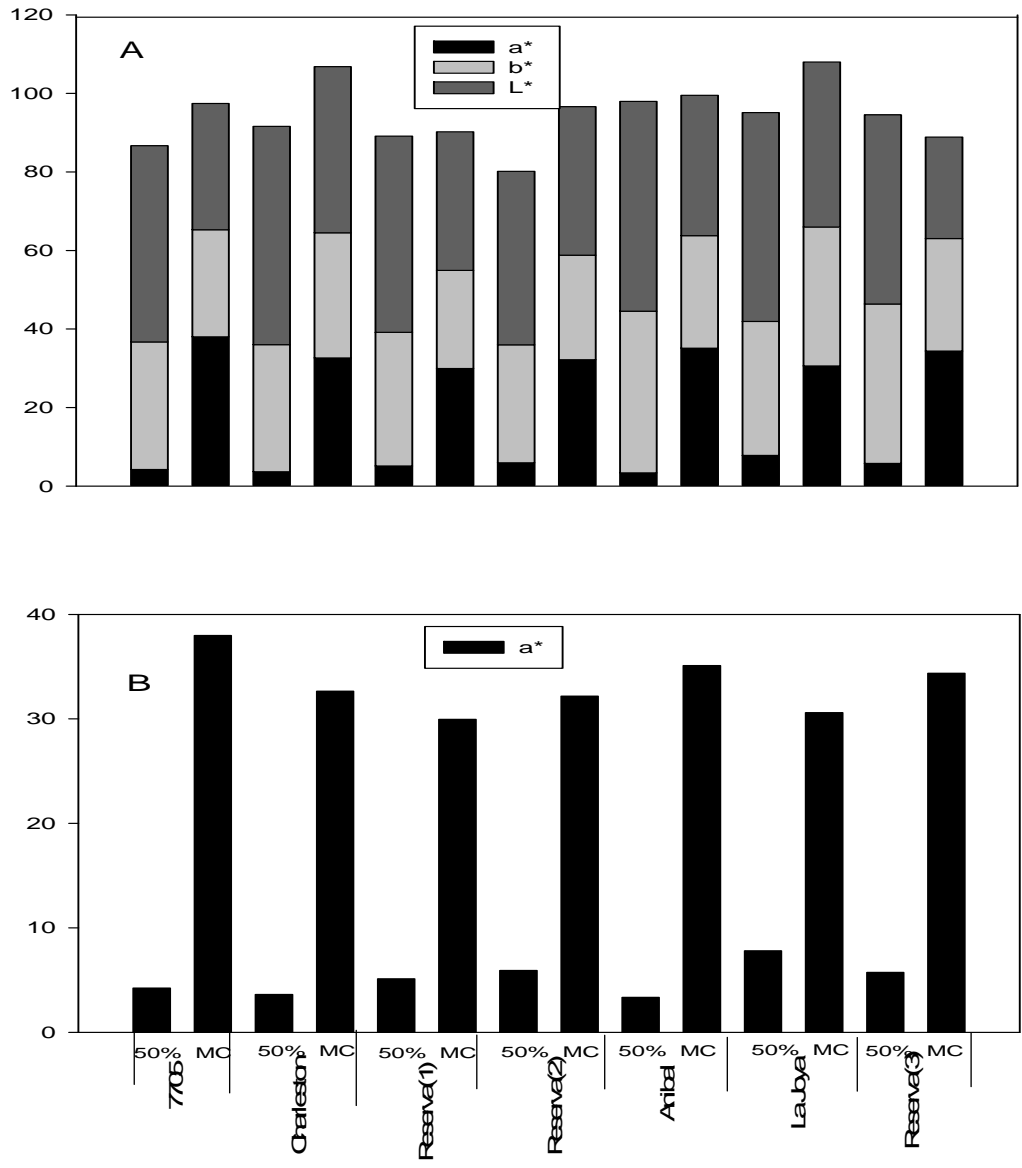


Figura 10.1. Comparación de los parámetros de color en frutos con diferentes grados de madurez 50% y de consumo, pertenecientes a siete variedades de jitomate cultivados en invernaderos bajo los sistemas de producción de hidroponía y fertirrigación. A) valores de los parámetros a^* , b^* y L^* y B) valores del parámetro a^* .

En el Cuadro 10.4 se correlacionaron los índices de color con respecto a los valores obtenidos en licopeno y firmeza, considerando los diferentes grados de madurez de los frutos. Los valores de a^* , a^*/b^* y $(a^*/b^*)^2$ mostraron la mejor correlación con $r = -0.79$, -0.80 y 0.78 y $r = 0.74$, 0.81 y 0.82 para firmeza y contenido de licopeno respectivamente. Estos últimos coeficientes coinciden con los reportados por Arias *et al.* (2000), quienes además afirman que la relación $(a^*/b^*)^2$ es considerada como un índice de maduración y *Hue* refleja la coloración real del fruto con valores desde 180° para jitomates verdes hasta 0° para frutos rojos. En este estudio los índices *Hue* y *Chroma*, presentaron menor correlación con la propiedad de firmeza y licopeno.

Cuadro 10.4. Coeficientes de correlación de Pearson entre los índices de color (a^*/b^* , $(a^*/b^*)^2$, *Hue* y *Chroma*), firmeza, licopeno y clorofila total de frutos de jitomate con madurez de consumo.

<i>Factor</i>	<i>Coefficiente de Correlación</i>		
	<i>Firmeza</i>	<i>Licopeno</i>	<i>Clorofila Total</i>
a^*	-0.79**	0.74**	-0.52**
a^*/b^*	-0.80**	0.81**	-0.56**
$(a^*/b^*)^2$	0.78**	0.82**	-0.54**
<i>Hue</i>	-0.053ns	0.011ns	-0.06ns
<i>Chroma</i>	-0.48**	0.45**	-0.22*

La maduración del jitomate se considera como un proceso complejo que involucra una serie de cambios cualitativos y cuantitativos de la composición química, en el que participan ácidos orgánicos, azúcares solubles, aminoácidos, pigmentos y alrededor de 400 compuestos volátiles que determinan el sabor y aroma del fruto (Petro-Turza, 1987). Durante las primeras etapas de desarrollo la clorofila es la que le imparte la coloración, conforme progresa el proceso de maduración, este pigmento se degrada y los carotenoides son sintetizados en el fruto (Davies y Hobson, 1981). De ahí que los frutos hayan presentado diferencias significativas en el contenido de clorofila de acuerdo con el grado de madurez, presentándose los valores más altos en frutos del 50% de madurez en las variedades *7705* y *Charleston* (22.10 y $20.87 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$) (Datos no presentados). Sin embargo, de acuerdo con los valores medios en los contenidos de clorofila, independientemente del grado de madurez no se detectaron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) por el manejo del cultivo, obteniéndose contenidos de 16.67 y $16.47 \text{ mg}\cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$ en los invernaderos con fertirrigación e hidroponía respectivamente.

Los contenidos de clorofila en frutos de 50% de madurez son similares a los reportados en la variedad de jitomate *Siena* (25.94 ± 0.65), donde se obtuvieron reducciones por encima del 90% de clorofila durante la maduración del fruto (Periago *et al.*, 2009), las cuales superan notablemente a las encontradas en este estudio que fueron del 33 y 35% en frutos provenientes de sistemas de hidroponía y fertirrigación. Los contenidos prevalecientes de clorofila durante la maduración del jitomate pueden influir sobre la degradación de algunos carotenoides durante su exposición a la luz, es decir los carotenoides pueden presentar una mayor estabilidad a la luz en ausencia de las clorofilas (Merzlyak y Solovchenko 2002).

Los pigmentos influyen en la calidad de percepción de frescura junto con la textura (Liu *et al.*, 2009), específicamente los contenidos de clorofila se correlacionaron significativamente con la firmeza de los frutos ($r=0.58$) e inversamente con el factor a^* de color ($r=0.52$) (Cuadro 10.4).

Los carotenoides (licopeno, caroteno y xantofilas) son los responsables de los colores rojo, naranja y amarillo del jitomate, así como de la acción vitamínica donde el α y β caroteno y la criptoxantina son precursores de vitamina A (Ortega *et al.*, 2004). En este estudio se observó un efecto significativo ($P \leq 0.05$) por el sistema de producción utilizado, mostrando mayores contenidos de carotenoides totales los frutos cultivados en invernaderos de fertirrigación en comparación con los de hidroponía. Así mismo se presentaron diferencias significativas entre variedades y grados de madurez, donde los frutos de las variedades *La Joya* con M50% ($13.97 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ PF9}$) y MF ($17.21 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ PF}$) y *Reserva (SI)* con MC ($42.79 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ PF}$) tuvieron los contenidos de carotenoides más altos (Cuadro 10.5). Los contenidos de carotenoides totales fueron correlacionados significativamente con los índices de color a^*/b^* y $(a^*/b^*)^2$ con $r=0.69$ y 0.70 , respectivamente. De acuerdo con Fraser *et al.* (1994) los contenidos de los carotenoides en jitomate de acuerdo con el grado de madurez varían principalmente para frutos verdes por la presencia de xantofilas (luteína y violaxantina) y para madurez fisiológica los contenidos se deben a los de carotenos como β caroteno, fitoeno y licopeno y en los frutos de madurez de consumo, el pigmento de mayor presencia es el licopeno y en menor medida el fitoeno, fitofueno, β y γ caroteno. Mientras que en frutos de estadio maduro los niveles máximos de carotenoides totales y licopeno se encuentran en los tejidos más externos como exocarpo y mesocarpo, disminuyendo considerablemente su concentración en los tejidos más internos como columela y mucílago (López-Casado *et al.*, 2003).

En este trabajo el contenido de licopeno tuvo un efecto altamente significativo por el grado de madurez, cuyos valores fueron de 1.39 a 6.29, de 3.0 a 14.22 y de 6.82 a 23.41 $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1} \text{ PF}$, para los grados de madurez del fruto de M50%, MF y MC, respectivamente (Cuadro 10.5). Los valores antes mencionados son mayores a los reportados por Arias *et al.* (2000) quienes evaluaron los contenidos de licopeno en diferentes grados de madurez.

Asimismo se presentaron diferencias significativas entre variedades con frutos de un mismo grado de madurez, siendo los frutos *Charleston* tipo bola los que mostraron menores contenidos de licopeno. Lo anterior concuerda con lo reportado por Dorais *et al.* (2008) quienes relacionan el incremento de los fitoquímicos presentes en jitomate de acuerdo con la variedad, condiciones ambientales y de cultivo, grado de madurez y manejo post-cosecha. Investigaciones realizadas por Abushita *et al.* (2000) y Dumas *et al.* (2003) quienes relacionaron el contenido de licopeno con la radiación fotosintética, influencia de temperatura, prácticas de irrigación y condiciones de siembra y cosecha.

De acuerdo con las condiciones ambientales evaluadas en este trabajo, la temperatura máxima fue la que se correlacionó inversamente con el contenido de licopeno ($r = -0.52$) en frutos cultivados tanto en fertirrigación como en hidroponía. Por ejemplo, durante las etapas pre-cosecha en las variedades *Charleston* (Figura 10.2A) y *La Joya* (Figura 10.2B) se llegaron a alcanzar TMax mayores a 33°C que afectaron directamente el contenido de licopeno.

Cuadro 10.5. Contenido de compuestos bioactivos en diferentes variedades jitomate y grados de madurez.

<i>Compuesto bioactivo</i>	<i>Reserva (S1)</i>	<i>Reserva (S2)</i>	<i>La Joya</i>	<i>7705</i>	<i>Charleston</i>	<i>Reserva (H1)</i>	<i>Anibal</i>
Ác.							
Ascórbico							
M50%	27.3±1.7 b	24.8±3.1 b	21.9±3.9 b	35.8±3.3 a	26.7±3.0 b	37.8±2.4 a	28.6±2.8 b
MF	17.4±2.9 bc	17.3±2.6 bc	15.4±3.7 c	28.3±0.9 a	16.1±1.8 c	23.3±4.6 ab	14.9±2.7 c
MC	8.3 ±1.1 b	12.1±2.8 ab	11.4±1.6 ab	16.5±2.8 a	10.5±2.8 b	8.7±4.13 b	8.0±0.7 b
Carot.							
Totales							
M50%	11.3±1.3 ab	11.4±2.8 b	14.0±3.3 a	5.9±1.4 c	7.8±0.8 bc	9.8±0.5 abc	6.5±2.78 bc
MF	13.8±1.4 ab	17.2±1.6 a	17.2±4.4 a	13.4±0.4 ab	9.7±0.2 b	16.3±2.9 a	14.9±3.4 ab
MC	42.8±2.1 a	23.4±1.7 bc	26.3±2.4 bc	23.1±3.3 bc	10.9±0.7 d	31.6±6.3 b	25.1±4.9 bc
Licopeno							
M50%	5.3±0.3 b	3.5±0.65 c	5.0±0.8 b	6.7±1.3 a	1.4±0.03 d	6.3±0.1 ab	5.9±0.90 ab
MF	10.9±1.8 ab	9.9±2.06 b	8.8±1.4 b	9.8±0.5 b	3.1±0.4 c	14.2±2.3 a	10.3±6.51 b
MC	20.7±2.6 b	20.2±2.08 b	13.1±1.3 c	21.9±3.4 ab	6.8±1.3 d	26.6±2.0 a	23.4±3.2 ab

Valores medios de los compuestos bioactivos con la misma letra son estadísticamente iguales dentro de un mismo grado de madurez, según la prueba de Tukey (5%). AT= acidez titulable; 50% = Madurez del 50% MF = Madurez fisiológica; MC = Madurez de consumo.

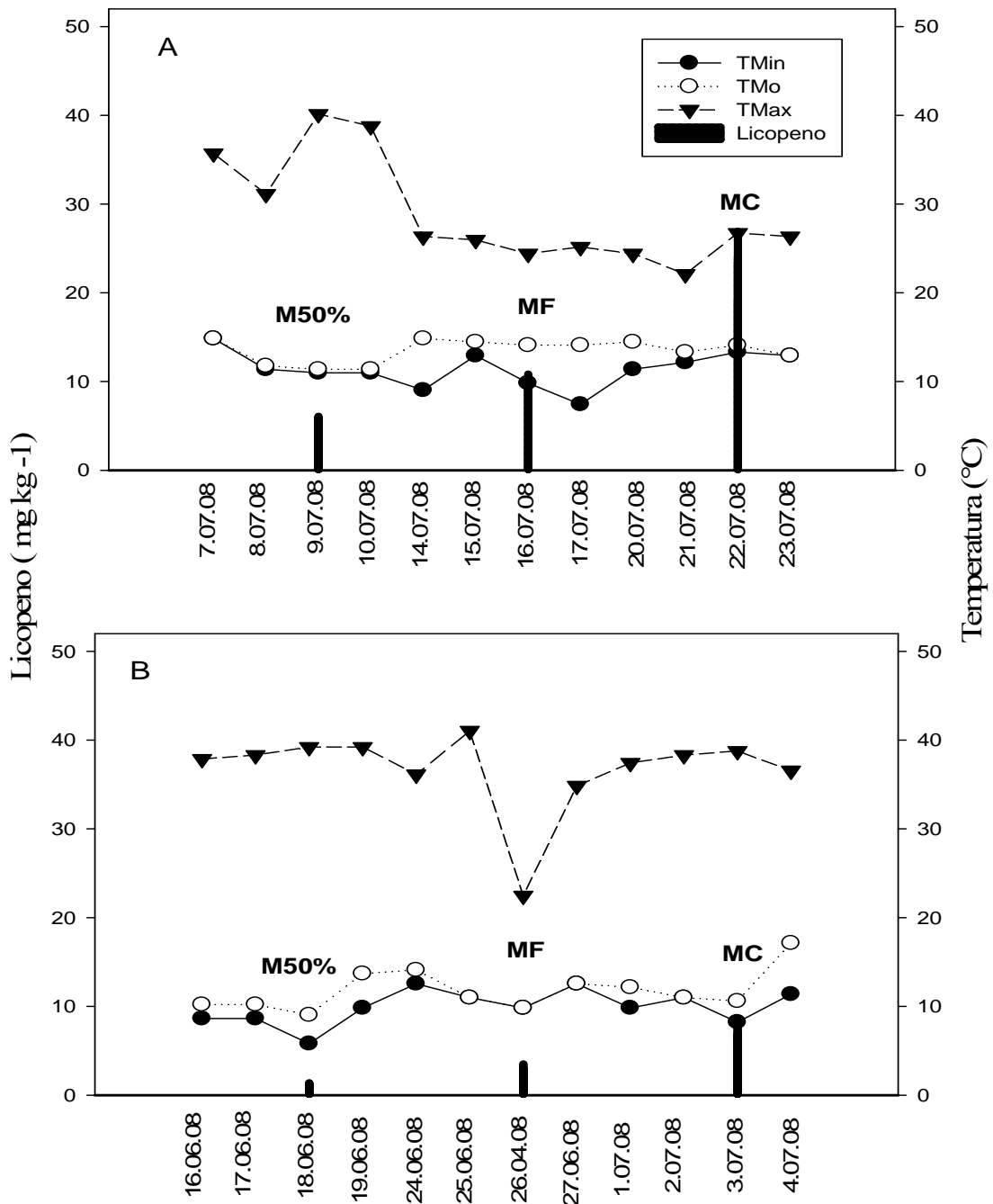


Figura 10.2. Relaciones de condiciones ambientales (temperatura mínima-TMin, temperatura moda-TMo y temperatura máxima-TMax) y contenido de licopeno en frutos de jitomate de las variedades A) Charleston y B) La Joya colectados en madurez del 50% (M50%), madurez fisiológica (MF) y madurez de consumo (MC).

Tres días antes y durante la primera cosecha los valores promedio de TMax para el cultivo de las variedades *Charleston* y *La Joya* fueron de 37.88 a 39.22 °C y 34.01 a 41.52°C, para la segunda cosecha los intervalos fueron de 22.99 a 41.05 °C y 37.44 a 43.22 °C y en la tercera cosecha tuvo temperaturas de 34.85 a 38.74 y 34.01 a 37°C. Desde el punto de vista metabólico, estos valores de TMax registrados podrían relacionarse con los niveles altos de carotenoides totales y valores mínimos de los contenidos de licopeno.

Según Abushita *et al.* (1997) la síntesis del licopeno puede verse afectada con el incremento de la temperatura, debido a que los precursores del licopeno son inhibidos y la producción de licopeno se detiene en temperaturas por debajo de 12 °C y por encima de 32 °C, el intervalo más favorable se encuentra entre 22 y 25 °C. Las humedades relativas extremas influyen reduciendo los contenidos de licopeno, específicamente se registraron TMin del 25% que se correlacionaron ($r=-0.57$) inversamente con el contenido de fitoquímicos en frutos de las variedades *La Joya* y *Charleston*. Por otro lado las variedades que presentaron mayores contenidos de licopeno fueron *Reserva* y *Anibal* ambas cultivadas en invernaderos bajo hidroponia, tipo saladette y con madurez de consumo. Lo anterior puede incidir para la selección de variedades de cultivo, debido a que el jitomate se lo ha considerado como la fuente de licopeno más importante en la dieta y se han demostrado experimental y epidemiológicamente sus propiedades como antioxidante frente a padecimientos cancerígenos y coronarios. Además de contribuir reduciendo la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y ayudar a disminuir los niveles de colesterol en la sangre (Weisburger, 1999; Leonardi *et al.*, 2000.)

La radiación fotosintéticamente activa máxima (RFAMax) se presentó en el invernadero de hidroponia ($269 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) donde se cultivó la variedad *Anibal* en la cual como ya se mencionó se obtuvieron los contenidos mayores de licopeno. Este valor de RFAMax se encuentra dentro del intervalo propuesto por Brandt *et al.*, (2006) como óptimo para la producción de jitomate de 150 a $400 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$. Adicionalmente al licopeno los flavonoides y las vitaminas C y E se consideran como responsables de la actividad antioxidante de tomates (Toor *et al.*, 2004). Específicamente la vitamina C es la más abundante con valores de 22 a 48 mg·100 g PF (Steward *et al.*, 2000), en este trabajo los contenidos de vitamina C tuvieron un efecto altamente significativo ($P<0.01$) con respecto al grado de madurez, reduciéndose los contenidos conforme la maduración del fruto, lo cual coincide con lo reportado por Abushita *et al.* (1997) quienes mencionan que los contenidos más altos se presentan en frutos verdes y se reducen en frutos maduros. Mientras que los valores medios de vitamina C independientemente de la variedad de los frutos correspondieron a 28.99, 18.95 y 10.95 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF en los grados madurez del 50%, MF y MC (Cuadro 10.6), los cuales fueron mayores a los reportados por Ketsa y Wongueerakhan (1987) en frutos de jitomate cosechados en los mismos grados de madurez.

La composición química del jitomate puede verse influida por los sistemas utilizados durante su producción, al respecto, Lippert (1993) considera que los invernaderos hidropónicos comparados con los de suelo (fertirrigación), pueden mantener contenidos más altos de ácido ascórbico, sin embargo, en este estudio no se encontró diferencia significativa con respecto al manejo ($P \geq 0.05$). Aunque los contenidos mayores del antioxidante se determinaron en la variedad 7705 cultivada con fertirrigación, en los tres grados de madurez (Cuadro 10.6). Lo anterior concuerda con lo propuesto por Juroszek *et al.* (2009) quienes encontraron diferencias significativas en los contenidos de ácido ascórbico desde 20.83 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF hasta valores de 31.13 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF, de acuerdo con las variedades de cultivo.

Cuadro 10.6. Contenido de compuestos bioactivos en diferentes variedades jitomate y grados de madurez, cultivados en el sistema de producción con fertirrigación.

<i>Compuesto bioactivo</i>	<i>Reserva (S1)</i>	<i>Reserva (S2)</i>	<i>La Joya</i>	<i>7705</i>	<i>Charleston</i>	<i>Reserva (HI)</i>	<i>Anibal</i>
Ácido Ascórbico							
M50%	27.3b	24.79b	21.92b	35.81 ^a	26.76b	37.81 a	28.55b
MF	17.4 bc	17.3bc	15.4c	28.31 ^a	16.10c	23.3ab	14.90c
MC	8.26 b	12.1ab	11.4ab	16.53 ^a	10.55b	8.70b	8.04b
Carotenoides totales							
M50%	11.3ab	11.4ab	13.97 a	5.92c	7.76bc	9.8abc	6.5bc
MF	13.8ab	17.24 a	17.21 a	13.4ab	9.69b	16.33 a	14.9ab
MC	42.79a	23.4bc	26.3bc	23.1bc	10.88d	31.64b	25.1bc
Licopeno							
M50%	5.3b	3.49c	5.03b	6.86 ^a	1.39d	6.29ab	5.9ab
MF	10.9ab	9.88b	8.83b	9.77b	3.06c	14.22 a	10.3b
MC	20.67b	20.2b	13.06c	21.9ba	6.82d	26.56 a	23.4ab

Características con la misma letra son estadísticamente iguales según la prueba de Tukey (5%). Donde: AT= acidez titulable; 50% = Madurez del 50% MF = Madurez fisiológica; MC = Madurez de consumo, IM= Índice de Madurez.

Al tomar en cuenta que existen otros factores que pueden afectar la cantidad de ácido ascórbico en el jitomate como la temperatura y la humedad (Marfil *et al.*, 2008; Hernández, 2008) y al relacionar las variaciones ambientales de los invernaderos en este estudio y el grado de madurez donde se presentó el mayor contenido de ácido ascórbico (M50%), se podría proponer que las HRmin y la HRmax fueron mayores al 27 y 95%

mientras que la TMin y TMo fueron de 9.8 y 11.8 °C, respectivamente. Los valores de T concuerdan con lo reportado por Shewfelt (1990) donde específicamente temperaturas inferiores a 20 °C favorecen el aumento de la vitamina C, incrementando la calidad nutricional del jitomate. Kader y Morris (1977) mencionan que la acidez y el ácido ascórbico en jitomates se pierden más rápidamente si dicho fruto se encuentra a una temperatura igual o superior a 30 °C, situación que se presentó en varios de los invernaderos donde la TMax fue mayor durante las tres etapas pre-cosecha. También los contenidos de ácido ascórbico se correlacionaron significativamente con la firmeza de los frutos ($r=0.54$), específicamente en las variedades *Reserva (S2)* y *Charleston* cultivados en fertirrigación e hidroponía, respectivamente.

CONCLUSIÓN

Las condiciones de humedad relativa y temperatura máximas presentes en los invernaderos excedieron los niveles óptimos para la producción de jitomate con valores por encima de 30°C y 78 %HR, respectivamente. Específicamente las TMax influyeron sobre los contenidos de licopeno y ácido ascórbico en frutos con diferentes grados de madurez y variedades cultivadas en sistemas de producción de hidroponía y fertirrigación. Los parámetros de calidad no se correlacionaron con los cambios en las condiciones ambientales, siendo los °Bx y AT mayores a 3 y 0.3% respectivamente, mismos que pueden estar asociados con la buena calidad y sabor de los frutos. La firmeza se correlacionó significativamente con los índices de color a^*/b^* y $(a^*/b^*)^2$, así como con los contenidos de clorofila total y ácido ascórbico. En cambio los contenidos de licopeno y carotenoides totales presentes en los frutos fueron correlacionados inversamente con la firmeza. El sistema de producción influyó significativamente sobre el contenido de compuestos bioactivos, observándose las concentraciones mayores de licopeno en frutos de madurez de consumo cultivados en invernaderos hidropónicos, mientras que los contenidos de ácido ascórbico fueron mayores en frutos con 50% de madurez cultivados en fertirrigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Abushita A. A., Hebshi E. A., Daood H. G., Biacs P. A., 1997, Determination of antioxidant vitamins in tomatoes, *Food Chemistry*. 2: 207-212.
- Abushita A. A., Daood H. G., Biacs P. A., 2000, Change in Carotenoids and Antioxidant Vitamins in Tomato as a Function of Varietal and Technological Factor, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2075-2081.
- Adegoroye A. S., Jolliffe P. A., 1987, Some inhibitory effects of radiation stress on tomato fruit ripening, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 39: 297-302.
- Arias R., Lee T. C., Logendra L., Janes H., 2000, Correlation of lycopene measured by HPLC with the L^* , a^* , b^* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48:1697–1702.

- Binoy G. K., Charanjit D. S., Khurdiya D. S., Kapoor H. C., 2004, Antioxidants in tomato (*Lycopersicum esculentum*) as a function of genotype, Food Chemistry. 84: 45-51.
- Brandt S., Pék Z., Barna É., Lugasi A., Helyes L., 2006, Lycopene content and colour of ripening tomatoes as affected by environmental conditions, Journal of the Science of Food and Agriculture. 86: 568-572.
- Castilla F. N., 2001, Manejo del cultivo intensivo con suelo: *In: El Cultivo del Tomate*, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp 190-225.
- Cook R., Calvin L., 2005, Greenhouse tomatoes change the dynamics of the North American fresh tomato industry. Economic Research Report-2, U.S. Department of Agriculture Economic Research Service: www.ers.usda.gov/publications/err2/, consultada enero de 2011.
- Davies J. N., Hobson G. E., 1981, The constituents of tomato fruit- the influence of environment, nutrition, and genotype, Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 15: 205–280.
- Dorais M., Papadoupulos A. P., Gosselin A., 2001, Greenhouse tomato fruit quality, Horticultural Reviews. 26: 239-319.
- Dorais M., Ehret D., Papadopoulos A., 2008, Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer, Phytochemistry Reviews. 7:231-250.
- Dumas Y. M., Dadomo G., Di Lucca., Grolier P., 2003, Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes, Journal of the Science of Food and Agriculture. 83: 369-382.
- FAOSTAT, 2006, Estadísticas datos agrícolas, <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>, consultada en agosto de 2010.
- Fish W., Perkins-Veazie P., Collins J., 2002, A Quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents, Journal of Food Composition and Analysis. 15:309-317.
- Flores S. M. T., Perez D. M., Guerrero J. E., Garrido V. A., 2009, Feasibility in NIRS Instrument for predicting internal quality in intact tomato, Journal of Food Engineering. 91: 311-318.
- Foyer C. H., Rowell J., Walker D., 1983, Measurements of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination, Planta.157: 239-244.
- Fraser P. D., Truesdale M. R., Colin B. R., Schuch W., Bramley P. M., 1994, Journal of Plant Physiology.105: 405-413.
- Giovanelli G., Lavelli V., Peri C., Nobili S., 1999, Variation in antioxidant compounds of tomato during vine and post-harvest ripening, Journal of the Science of Food and Agriculture.79:1583 -1588.
- Giovannoni J. J., 2004, Genetic regulation of fruit development and ripening, The Plant Cell. 16: S170-S180.

- Gould W., 1974, Colour and colour measurement: *In: Tomato Production Processing and Quality Evaluation*, Avi Publishing Westport, pp: 228–244.
- Guadarrama A., 1983, Algunos cambios químicos durante la maduración de frutos de semeruco, (*Malpighia punicifolia L.*), *Revista Facultad de Agronomía*. 12: 111-128.
- Hernandez S. M., Rodriguez R. E., Diaz R. C., 2007, Analysis of organic acid content in cultivars of tomato harvested in Tenerife, *European Food Research and Technology*. 226: 423-435.
- Hernandez S. M., Rodriguez R. E., Diaz R. C., 2008, Chemical composition of tomato (*Lycopersicon esculentum*) from Tenerife, the Canary Islands, *Food Chemistry*. 106: 1046–1056.
- Hobson G. E., Bedford L., 1989, The composition of cherry tomatoes and its relation to consumer acceptability, *The Journal of Horticultural Science* 64: 321-329.
- Jones R. A., Scott S. J., 1984, Genetic potential to improve tomato flavor in commercial F1 hybrids, *Journal of the the American Society for Horticultural Science*. 109: 318-321
- Juroszek P., Lumpkin H. M., Yang R. Y., Ledesma D. R., Ma C. H., 2009, Fruit quality and bioactive compounds with antioxidant activity of tomatoes grown on-farm: comparison of organic and conventional management systems, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 57: 1188-1194.
- Kader A. A., Morris L. L., 1977, Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling procedures, *Journal of the the American Society for Horticultural Science*. 103: 6-13
- Kader A. A., 1987, Respiration and gas exchange of vegetables: *In: Postharvest physiology of vegetables*, Weichmann J., (ed), Marcel Dekker Inc., New York, USA, pp: 25-43.
- Kader A. A., 2007 *Biología y tecnología pos cosecha: Un panorama: In: Tecnología Poscosecha de Productos Hortofrutícolas*, Kader A.,(ed), University of California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA, pp:43-54.
- Kampfenkel K., Van Montagu M., Inzé D., 1995, Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue, *Analytical Biochemistry*. 225: 165–167.
- Ketsa S., Wongveerakhan A., 1987, Ascorbic acid content at maturity stages in tomato (*Lycopersicum esculentum Mill*) cultivars, *Thai Journal Agricultural Science*, 20: 257-261.
- Leonardi C., Ambrosino P., Esposito F., Fogliano V., 2000, Antioxidant activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 48: 4723-4727.
- Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R., 1985, Determinations of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf extracts in different solvents, *Biochemical Society Transactions*. 603: 591-592.

- Lippert F., 1993, Amounts of organic constituents in tomato cultivated in open and closed hydroponic system, *Acta Horticulturae*. 339:113-123.
- Liu L. H., Zabarás D., Bennett L. E., Aguas P., Woonton B. W., 2009, Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage, *Food Chemistry*, 115: 495–500.
- López C. G., Matas A. J., Cuartero J., Heredia A., Romero A. R., 2003, Mancha solar en el fruto de tomate: análisis de carotenoides y estudio histológico, X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas, *Actas de Horticultura No 3*, 401-403.
- Malundo T. M., Shewfelt R. L., Scott J. W., 1995, Flavor quality of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) as affected by sugar and acid levels, *Postharvest Biology and Technology*, 6: 103-110.
- Marfil P. H. M., Santos E. M., Telis V. R. N., 2008, Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions, *Journal of Food Science and Technology*, 41:1642-1647.
- Mencarelli F., Salveit M. E., 1988, Ripening of mature-green tomato fruits slices, *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 113: 742-745.
- Merzlyak M. N., Solovchenko A. E., 2002, Photostability of pigments in ripening apple fruit: a possible photoprotective role of carotenoids during plant senescence, *Journal of Plant Science*. 163: 881–888.
- Mikkelsen R. L., 2005 Sabor del tomate y la nutrición de la planta, *Revista Informaciones Agronómicas*. 59: 12-14.
- Montreuil J., Spik G., Fournet B., Toillier T., 1997, Nonenzymatic determinations of carbohydrates *In: Analysis of Food Constituents*, Multon J. L. (ed), Wiley-VCH Inc. New York, USA. pp: 112-114.
- Nielsen S., 2003, *Food analysis*, Kluwer Academic-Plenum Publishers, New York, USA.
- Nuez F., 2001, *El Cultivo del Tomate*, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp 190-219.
- Ortega A., Basabe T., Sobaler L., 2004, Frutas, Hortalizas y Verduras: *In: Frutas y verduras y salud*, Elvieser, España, pp: 1-18.
- Peiris K., Dull G., Leffler R., Kays S., Near infrared spectrometric technique for nondestructive determination of soluble solids content in processing tomatoes, *Journal of the the American Society for Horticultural Science*, 123:1089-1093.
- Periago M. J., Alonso J. G., Jacob K., Olivares A. B., Bernal M. J., Iniesta M. D., Martínez C., Ros G., 2009, Bioactive compounds, folates and antioxidant properties of tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) during vine ripening, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 60: 694–708.
- Petro-Turza M., 1987, Flavor of tomato and tomato products, *Food Review International*, 2: 309-351.
- Picha D., 1986, Effect of harvest maturity on the final fruit composition of cherry and large-fruited tomato cultivars, *Journal of the American Society for Horticultural Science*.111:723-727.

- Raffo A., La Malfa G., Fogliano V., Maiani G., Quaglia G., 2006, Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1), *Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 11-19.
- Romojaro F., Martínez M., 2007, Factores pre cosecha determinantes de la calidad y conservación en pos cosecha de productos agrarios, <http://www.horticom.com/pd/imagenes/65/906/65906.pdf>, consultada junio de 2010.
- Schnitzler W. H., Gruda N., 2003, Quality issues of greenhouse production, *Acta Horticulturae*. 614:663-674.
- Shewfelt R., Thai C., Davis J., 1988, Prediction of changes in color tomatoes during ripening at different constant temperatures, *Journal of Food Science*. 53:1433-1437.
- Sima R., M., Măniuțiu D. N., Cenariu D., Lazăr V., Sima N. F., 2010, The impact of culture system and fertilization type on yield and fruit quality of greenhouse tomatoes, *Journal of the Bioflux Society*. 2:49-54.
- Steward A. J., Bozonnet S., Mullen W., Jenkins G. I., 2000, Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2663-2669.
- Thompson K. A., Marshall M. R., Sims C. A., Wei C. I., Sargent S. A., Scott J. W., 2000, Cultivar, Maturity, and Heat Treatment on Lycopene Content in Tomatoes, *Journal of Food Science*. 65:791-795.
- Toor R. K., Savage G. P., 2005, Antioxidant activity in different fractions of tomatoes, *International Food Research*. 38: 487-494.
- Tucker G., Robertson N., Grierson D., 1980, Changes in polygalacturonase isoenzymes during the ripening of normal and mutant tomato fruit, *European Journal of Biochemistry*. 112:119-124. 1980.
- USDA, 1991, United States Standards for Grades of Fresh Tomatoes. Disponible en <http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/standards>, consultada enero de 2011.
- Valero U. C., Ruiz A. M., 2002, Técnicas de medida de la calidad de frutas Ensayos estándar para la medida de firmeza, azúcares, ácidos y color, junto con un ejemplo de valores obtenidos en distintas muestras de mercado de manzana, melocotón, kiwi, melón y tomate, *Revista Vida Rural* 1-8.
- Weisburger J. H., 1999, Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables tomatoes and tea, *Food and Chemical Toxicology*. 37: 943-948.
- Willcox J. K., Catignani G. L., Lazarus S., 2003, Tomatoes and cardiovascular health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 43:1-8.
- Wold B. A. H., Rosenfeld J., Holte K., Baugerød H., Rune B., Haffne K., 2004, Colour of post-harvest ripened and vine ripened tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as related to total antioxidant capacity and chemical composition, *International Journal of Food Science and Technology*. 39: 295-302

XI. DISCUSIÓN GENERAL

Identificación y selección de la región de estudio

México es uno de los principales países productores de jitomate a nivel mundial y es el producto hortícola de mayor exportación (FAOSTAT, 2006); con respecto a la participación del estado de Puebla se sabe que ocupa el décimo lugar en producción y contribuye con 27,399 ton anuales. En la última década algunos municipios de la Sierra Norte de Puebla, como Tetela de Ocampo, Aquixtla, Zacatlán e Ixtacamaxtitlan han promovido de manera intensiva el cultivo de jitomate mediante el establecimiento de invernaderos (SAGARPA, 2008). Esto ha propiciado que el jitomate además de ser una especie importante a nivel nacional, su producción bajo agricultura protegida se concentre en ciertas zonas del país como en el Municipio de Aquixtla, el cual se identifica como una de las principales regiones productoras de jitomate en el Estado de Puebla. De acuerdo con lo anterior se eligió esta región para realizar el presente estudio, en el que en primera instancia tuvo como propósito identificar y seleccionar los sistemas agrícolas de producción de jitomate en invernadero, a través un diagnóstico tipo “sistémico” que incluyó tres fases: selección del área de estudio, diagnóstico e integración y sistematización de la información.

De este diagnóstico se detectó que el municipio de Aquixtla cuenta con una superficie cultivada de jitomate en invernadero de aproximadamente 19 ha, con un total de 80 productores. Los sistemas productivos explorados difirieron en sus condiciones de manejo, cultivares, superficie cultivada y tipo de invernadero, además se identificaron dos tipos de invernaderos productores de jitomate: hidropónicos y de fertirrigación, de los cuales la mayor parte de los productores (73.81%) optan por utilizar el sistema de fertirrigación. Esta preferencia se debe a que los productores consideran la producción en hidroponía más costosa y finalmente el precio del fruto en el mercado local es el mismo, independientemente del sistema de cultivo utilizado.

Entre las localidades más representativas por su superficie cultivada, número de productores, rendimientos obtenidos y paquete tecnológico utilizado, se identificaron: La Loma, Cuautieco, Aquixtla y Tlaltempa, por lo que se seleccionaron como unidades experimentales a los invernaderos hidropónicos y de fertirrigación pertenecientes a estas localidades. En el Cuadro 11.1 se resume la información obtenida de las localidades seleccionadas, donde la mayor superficie corresponde a la producción jitomate en fertirrigación (9.5 ha) misma que contribuye con 71.53 % de la superficie total cultivada y se concentra el 66.25 % de los productores, del municipio.

Las principales variedades utilizadas en ambos sistemas de producción (hidropónico y fertirrigación) corresponden al jitomate tipo saladette con las variedades *La Joya*, *7705*, *Anibal*, *Reserva* y menor medida se cultiva jitomate tipo bola de la variedad *Charleston*.

Estas variedades se cultivan en crecimiento determinado e indeterminado dependiendo de las condiciones ambientales y demandas del mercado.

Cuadro 11.1. Descripción del número de productores, superficie cultivada y variedades de jitomate en los invernaderos de cuatro localidades del Municipio de Aquixtla, Puebla.

<i>Invernaderos seleccionados</i>				
<i>Localidad</i>	Número de productores	Superficie cultivada en fertirrigación (ha)	Superficie cultivada en hidroponía (ha)	Algunas de las variedades cultivadas
Cuautieco	10	0.9	0.6	<i>Charleston 7705</i>
Tlaltempa	13	3.49	0.9	<i>La Joya Anibal</i>
La Loma	8	1	1	<i>Reserva</i>
Aquixtla	22	4.1	1.13	<i>Reserva</i>
<i>Total</i>	53	9.5	3.6	
Porcentaje con respecto al número total de localidades (%)	66.25	71.53	76.43	

*Información recabada del diagnóstico sistémico Agosto, 2007.

Se identificaron dos tipos de problemáticas en el diagnóstico unas relacionadas con el manejo del cultivo y condiciones ambientales presentes en los sistemas de producción y otras que consideran las dificultades de comercialización del fruto. Las primeras pueden deberse a que no todos los productores cuentan con el asesoramiento técnico adecuado, para realizar las operaciones de nutrición y fumigación en las diferentes etapas del ciclo de cultivo. Lo anterior se puede relacionar con la falta de uniformidad en las propiedades físico-químicas y de composición nutrimental del fruto, que son determinantes como atributos de calidad y como parte de los criterios de preferencia por parte del consumidor (Dumas *et al.*, 2003). Mientras que para el control de las condiciones ambientales la mayoría de los productores realiza el levantamiento de cortinas laterales que se encuentran en los extremos de los invernaderos. Sin embargo en algunos invernaderos aunque cuentan con registradores de temperatura y humedad, no se lleva a cabo un monitoreo preciso para realizar oportunamente la ventilación de los invernaderos, lo podría repercutir en la salud de las plantas y en la calidad de los frutos (Cadahia, 2001).

También cabe resaltar las dificultades de comercialización del fruto, que están asociadas a que la mayoría de los productores de la región distribuyen el producto con intermediarios locales, quienes minimizan el precio del fruto.

Además, la falta de mercados para el jitomate producido en Aquixtla se debe en parte a la inexistencia de propuestas que estén relacionadas con el valor agregado del fruto. Estas propuestas tienen que estar encaminadas a que los frutos cumplan con los requerimientos actuales de inocuidad, atributos de calidad y composición químico-funcional, relacionados con el tipo de variedad y sistema de cultivo utilizados en la región de estudio.

Variación en la composición química y microbiota presente en frutos de jitomate cultivados en sistemas de fertirrigación.

La literatura sustenta ampliamente la estrecha relación que existe entre el manejo agronómico, el grado de madurez y la calidad de los frutos cultivados en invernadero (Cortés y Saavedra Del Real, 2007, Ghebhi Si Mail *et al.*, 2007), que denota la importancia de identificar los factores que afectan la composición química del jitomate. En la cual ciertos compuestos conocidos como bioactivos presentan propiedades de “antioxidantes”, asociadas con la prevención de enfermedades de tipo carcinogénico y cardiovasculares. Entre los bioactivos se encuentran el licopeno, vitamina C, vitamina A y flavonoides (Juroszek *et al.*, 2009 y Willcox *et al.*, 2003).

El diagnóstico realizado en el inicio del proyecto de tesis también evidenció la diferencia en el manejo aún dentro de un mismo sistema de producción de jitomate, en el Capítulo IV se tuvo el propósito de conocer la variación en los parámetros de calidad y la composición química de los frutos, en diferentes grados de madurez y secciones del interior (entrada, centro y parte posterior) de cuatro invernaderos de fertirrigación, pertenecientes a las localidades previamente seleccionadas: La Loma, Aquixtla, Cuautieco y Tlaltempa. Se evaluaron los parámetros de calidad física como pH, °Brix y acidez titulable, que son determinantes en la calidad interna del fruto relacionada con el criterio de selección por parte del consumidor (Hobson y Bedford, 1989). Las mayores diferencias se detectaron entre los parámetros acidez titulable (AT) y SST (Sólidos Solubles Totales ó °Bx) de acuerdo con el grado de madurez y procedencia de los frutos. Particularmente los valores de °Bx se relacionaron con los contenidos más altos de azúcares en frutos de la variedad *Charleston* tipo bola, lo cual era de esperarse, por ser un tipo de jitomate más dulce. Sin embargo, fue notable que en esta variable se tuvieron diferencias significativas de acuerdo con el sitio de muestreo, por ejemplo, se apreció que los contenidos de azúcares fueron mayores en frutos colectados en la entrada y los de la parte posterior del invernadero. Lo anterior sugiere una heterogeneidad en las condiciones de manejo del cultivo, ya que se sabe que ciertas labores agronómicas como la fertilización puede influir sobre la composición del jitomate (Lactatus *et al.*, 1994), específicamente este comportamiento se observó en invernaderos que aplicaron dosis altas de K y P.

Asimismo como resultado de esta parte de la investigación se identificaron algunos factores que afectaron significativamente la composición de los frutos incluyendo los compuestos bioactivos (Cuadro 11.2).

En los contenidos de clorofila total y ácido ascórbico influyeron el grado de madurez (0 y 50%) y ubicación de los frutos dentro del invernadero (entrada y parte posterior), debido quizás a la irregularidad durante la nutrición del cultivo y por las diferencias en la intensidad de radiación que se puede interceptar en cada parte dentro del invernadero (Dumas *et al.*, 2003).

Cuadro 11.2. Factores relacionados con la composición química de frutos colectados en tres sitios diferentes del invernadero (entrada, centro y parte posterior), de las variedades Charleston, 7705 y Reserva, cultivados en fertirrigación.

<i>Componente químico</i>	<i>Factores</i>
<i>Azúcares totales</i>	Variedad (<i>Charleston</i> tipo bola), ubicación de los frutos en el invernadero (entrada y parte posterior) y condiciones de manejo del cultivo (aplicaciones altas de K y P)
<i>Clorofila total</i>	Grado de madurez (0%, verdes maduros) y ubicación de los frutos en el invernadero (entrada)
<i>Carotenoides totales</i>	Variedad (7705 tipo saladette), grado de madurez (frutos con 100% de madurez) y ubicación de los frutos en el invernadero (parte posterior)
<i>Licopeno</i>	Variedad (<i>Reserva</i> y 7705 tipo saladette), grado de madurez (frutos con 100% de madurez), ubicación de los frutos en el invernadero (entrada y parte posterior), condiciones de manejo del cultivo (aplicaciones altas de K y P en el sistema de riego y % MO en suelo)
<i>Ácido ascórbico</i>	Grado de madurez (frutos con 50% de madurez) y ubicación de los frutos en el invernadero (parte posterior)

%MO corresponde al porcentaje de materia orgánica presente en el suelo de cultivo.

Las clorofilas y carotenoides son pigmentos determinantes del proceso de maduración del jitomate. Durante las primeras etapas de desarrollo la clorofila imparte la coloración al fruto, inicia su degradación y son sintetizados los carotenoides de acuerdo con la ruta de carotenogénesis (Davies y Hobson 1981). Esta tendencia fue claramente observada durante el desarrollo de los frutos donde los componentes clorofílicos tuvieron los contenidos más altos en los primeros grados de madurez (0%) y los carotenoides totales se incrementaron conforme la maduración del fruto. Sin embargo, a pesar de ser la maduración un proceso natural, se observó que la variedad y la ubicación de los frutos en los invernaderos afectaron significativamente los contenidos de carotenoides totales y licopeno.

También se detectó que ciertas condiciones de manejo del cultivo como la aplicación de materia orgánica en el suelo, se asoció con contenidos mayores de licopeno en los frutos.

Situación similar se observó en aquellos frutos que recibieron mayores dosis de los nutrimentos K y P aplicados en el sistema de riego, lo cual sugiere que si no hay una homogenización adecuada de los nutrientes y la intensidad luminosa que incide sobre las plantas no es uniforme, se tendrá irregularidad en la composición química de los frutos, como el contenido de licopeno (Leonardi *et al.*, 2000).

Microbiota presente suelo y frutos de jitomate cultivados en sistemas de fertirrigación

Como se mencionó anteriormente en el municipio de Aquixtla el mayor volumen de producción de jitomate, se ha venido desarrollando en invernaderos de fertirrigación. Sin embargo, no existe información documentada acerca de la calidad microbiológica de los frutos y del suelo de cultivo pertenecientes a los invernaderos de la región. De ahí que en el Capítulo V de la tesis se estableció como objetivo determinar la diversidad de bacterias enteropatógenas presentes en suelo y jitomates con diferentes grados de madurez y su relación con la composición química de los frutos cultivados en tres invernaderos con fertirrigación en el municipio de Aquixtla. La evaluación de la composición química y la caracterización microbiológica se realizaron en 12 muestras compuestas de suelo y 162 frutos de jitomate colectados en diferentes secciones de tres invernaderos de fertirrigación (entrada, centro y parte posterior) y en tres estadios de madurez: 0%, 50% y 100%, mostrando una amplia variación en los compuestos químicos y en los microorganismos presentes. A partir de la microbiota aislada e identificada se calcularon los índices de diversidad de Simpson (D) y Shannon-Wiener (H'), además del estimador de Chao (S_{Chao1}).

Entre las enterobacterias aisladas e identificadas con mayor frecuencia en suelo estuvieron *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter brakii* y *Escherichia coli* correspondiente al patogrupa enteropatógeno. Se detectó una relación positiva entre los índices de diversidad de las poblaciones microbianas con los porcentajes de materia orgánica (% MO) presentes en los suelos de cultivo, donde las mejores correlaciones las mostraron los índices S_{Chao1} y H' . Los valores mayores de H' se relacionan con suelos más fértiles según lo reportado por Mäder *et al.* (2002) quienes utilizaron este índice para comparar suelos en sistemas de agricultura orgánica. Sin embargo, los suelos ricos en MO específicamente en los invernaderos del Municipio de Aquixtla se fertilizan con abono orgánico el cual contiene principalmente estiércol, pudiendo estar presentes algunos enteropatógenos que pueden sobrevivir en el suelo y consecuentemente ser transmitidos a los vegetales que se estén produciendo (Sela y Fallik, 2009).

Entre las especies que se identificaron con mayor abundancia en los frutos fueron *E. cloacae*, *C. freundii*, *C. brakii* y *E. coli* del patogrupa enterotoxigénico, las tres primeras se detectaron en los tres grados de madurez, de ahí que podrían considerarse como parte de la microbiota autóctona del fruto. Mientras que los enteropatógenos como *S. boydii* y *E. coli* fueron aislados de frutos con 100% de madurez, lo cual es relevante ya que

estos frutos ya son considerados con el grado óptimo de consumo y muchas veces son ingeridos crudos.

La presencia de *E. coli* en jitomate fresco además de este trabajo se ha evidenciado en otros sistemas de producción incluyendo los tradicionales, orgánicos y semiorgánicos, en donde se ha aislado en mayor frecuencia que otros géneros como *Salmonella* y *Listeria* (Mukherjee *et al.*, 2006). La detección de enteropatógenos en productos frescos es de suma importancia, debido a que varios de ellos son capaces de internalizarse y crecer dentro de la planta, de esta forma sobrevivir a los tratamientos de lavado y desinfección pos cosecha. Algunos ejemplos de internalización se han reportado en lechuga (Solomon *et al.*, 2002), alfalfa (Gandhi *et al.*, 2001) y específicamente Guo *et al.* (2002) reporta la internalización en plantas de jitomate.

En general los índices H' y D obtenidos en frutos de jitomate fueron menores comparados con los de suelo, lo cual indica que las comunidades microbianas presentes en suelo son más diversas que las de los frutos. Mientras que los valores obtenidos del estimador de S_(Chao1) fueron mayores en jitomate, pudiéndose relacionar con una mayor abundancia de organismos de la misma especie como fueron: *E. cloacae*, *C. freundii* y *C. brakii*. La presencia de estas especies podría relacionarse con su preferencia por ciertos compuestos presentes en el jitomate, mismos que son requeridos para su desarrollo (Kalia y Gupta, 2006).

Específicamente Selma y Fallik, (2009) reportan que los vegetales crudos contienen carbohidratos que pueden ser utilizados por numerosos microorganismos, en este estudio los frutos con 100% de madurez (M100%) con mayores contenidos de azúcares, presentaron las enterobacterias de mayor relevancia en la calidad sanitaria de los vegetales crudos como *E. coli* y *S. boydii* (Beuchat, 2002).

Por otra parte las mejores correlaciones entre los contenidos de compuestos bioactivos e índices de diversidad se presentaron entre las concentraciones de ácido ascórbico y licopeno con los índices de H' y D, respectivamente. Con la tendencia anterior podría considerarse que si bien los frutos de jitomate son una buena fuente de compuestos bioactivos (Brandt *et al.*, 2006; Raffo *et al.*, 2002), también pueden presentar una importante heterogeneidad en su microbiota como lo indican los índices calculados. De esta forma también pudieron relacionarse los mayores contenidos de licopeno en frutos que fueron colectados en invernaderos que presentaron los porcentajes más elevados de materia orgánica en sus muestras de suelo.

Interacciones bacteria-hospedero en la superficie del fruto de jitomate.

La microbiota presente en vegetales que se consumen crudos como el jitomate incluye microorganismos nativos y patógenos que habitan sobre la superficie o parte interna del fruto. Fernández (2002) y Orozco *et al.* (2008) señalan que entre las especies *Enterobacteriaceae* más comúnmente identificadas durante la producción de jitomate se encuentran: *Enterobacter* (*E. aerogenes*, *E. cloacae* y *E. agglomerans*), *Klebsiella terrigena*, y específicamente ciertos microorganismos patógenos como: *Listeria*

monocytogenes, *Escherichia coli* y *Salmonella*, mismos que se asocian con múltiples casos de enfermedades gastrointestinales (Beuchat, 2002; Harris *et al.*, 2003; Smith y Fratamico, 2005; Berger *et al.*, 2010).

En este estudio se aislaron e identificaron algunos de estos géneros en los frutos de los invernaderos con los que se trabajó, de ahí que en el Capítulo VI se procedió a evaluar los comportamientos microbianos individuales y en poblaciones mixtas de bacterias pertenecientes a la microbiota nativa *E. cloacae* y *C. freundii* y los patotipos de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) y enterohemorrágica (EHEC). Con el propósito de identificar las condiciones ambientales más propicias para el crecimiento de la microbiota aislada, las inoculaciones se realizaron en frutos de jitomate con diferentes grados de madurez (M50%, MF y MC). Se reprodujeron en laboratorio las condiciones ambientales de humedad relativa (60 y 85 %) y temperatura (22 y 40 °C), registradas en ciertas horas del día en el interior de uno de los invernaderos de fertirrigación de localidad de Aquixtla, seleccionado para esta investigación. Se apreció un efecto significativo ($P < 0.05$) por la condición de incubación, presentándose los recuentos más altos en los inóculos simples y mixtos almacenados a 22 °C y 60 % de HR entre las 24 y 72 h de crecimiento. Particularmente los patotipos EHEC y ETEC mantuvieron un crecimiento mayor de 6 Log₁₀ UFC/g, siendo muy similares los recuentos en frutos con diferentes grados de madurez por 164 horas de incubación. Mientras que la tendencia de crecimiento de los microorganismos nativos del fruto *C. freundii* y *E. cloacae* fue mayor a la observada con los enteropatógenos, manteniéndose entre 9 y 10 Log₁₀ UFC/g en frutos inoculados con diferentes grados de madurez.

De las condiciones estudiadas la de 40°C y 85% de HR tuvo un efecto inhibitorio en la mayoría de las enterobacterias inoculadas, a excepción de *C. freundii* quien mantuvo su crecimiento de 7 Log₁₀ UFC/g hasta las 168 horas. Se presentaron diferencias en la sobrevivencia de los patogrupos de *E. coli*, siendo EHEC el que se recuperó hasta las 120h en los tres grados de madurez en comparación con ETEC cuyo crecimiento se presentó solamente hasta la 72h. Cabe mencionar que este último patogrupos fue aislado de frutos de madurez de consumo y EHEC fue seleccionada por su capacidad de internalización, multiplicación y permanencia en vegetales crudos, considerando los criterios de Olsen *et al.* (2000). Ambos microorganismos están relacionados con enfermedades infecciosas tales como diarrea del viajero, gastroenteritis y síndrome urémico hemolítico (Torres, 2009).

Particularmente el comportamiento de las interacciones microbianas como *C. freundii* y *E. cloacae* con ETEC se vio afectado negativamente por el incremento de la temperatura y la humedad relativa (40 °C y 85 % de HR), aunque esto ocurrió a partir de las 72 y 120 h, respectivamente. En contraste a 22 °C y 60 % de HR, el crecimiento de ETEC se vio favorecido donde inclusive se detectaron diferencias significativas en crecimiento dependiendo del grado de madurez de los frutos, siendo mayor su desarrollo en frutos con 50 % de madurez.

Una situación similar se presentó con la interacción *E. cloacae* y *C. freundii* a 22°C y 60% de HR quienes mantuvieron su crecimiento hasta 168 h, independientemente del grado de madurez de los frutos.

Mientras que en la interacción de *E. cloacae* con EHEC se observó un efecto antagónico sobre este último, siendo más notoria esta tendencia a 40°C y 85% de HR después de 168 h de almacenamiento.

En esta etapa de la investigación también se estudio como el crecimiento de los microorganismos inoculados bajo las diferentes condiciones ambientales de temperatura y humedad relativa, se relacionaban con cambios en las propiedades físicas como color y firmeza de los frutos de jitomate por un periodo de siete días (168 h), que es el periodo aproximado que tardan los frutos para pasar del grado de madurez fisiológica a madurez de consumo. Lo anterior debido a que está documentado que ciertos microorganismos de la microbiota nativa, son capaces de relacionarse con la maduración y pérdida de firmeza de los vegetales crudos, el cual es un parámetro decisivo en la calidad de frutos como el jitomate (Tucker *et al.*, 1980). El término de firmeza se relaciona con la resistencia que opone el fruto para ser deformado, entre los principales compuestos que determinan la conformación se encuentran las pectinas, celulosa, hemicelulosa y proteínas (Valero *et al.*, 2002), compuestos que podrían verse afectados por la presencia de ciertos microorganismos. En los frutos inoculados se detectaron reducciones significativas en la firmeza por la condición de almacenamiento, siendo más notorias en las interacciones de *E. cloacae* y *C. freundii* con *E. coli* (ETEC) incubados a 40 °C durante un periodo de 72 h. Este hallazgo es de importancia debido a que los microorganismos inoculados (*Enterobacter*, *Citrobacter* y *Escherichia*) se detectaron previamente en los frutos cultivados en los invernaderos en estudio, lo cual sugiere que cuando se alcanzan condiciones de alta temperatura y humedad relativa (40 °C y 85%), en presencia de cierta microbiota la firmeza de los frutos puede llegar a reducir significativamente. La situación anterior puede ser desfavorable en el momento de la cosecha ya que este parámetro al igual que el color, se consideran decisivos en el corte por parte del productor y de elección para su compra por el consumidor.

En relación con el color se sabe que el parámetro a^* de la escala HunterLab, se relaciona con las tonalidades rojizas que se alcanzan durante la maduración de frutos como el jitomate (Arias *et al.*, 2000). En este trabajo se mostró que el tipo de microorganismo y la condición ambiental de almacenamiento prevaleciente afectaron diferencialmente a los valores del parámetro a^* , por ejemplo la presencia de *C. freundii* en frutos inoculados y almacenados en ambas condiciones de temperatura y humedad (22°C/60% HR y 40°C/85% HR) redujeron significativamente ($P < 0.05$) a esta variable. Situación contraria se observó con jitomates inoculados con *E. cloacae* y sus interacciones, con grados de madurez fisiológica (MF) y de consumo (MC) expuestos a 40 °C y 85 % de HR, detectándose los valores más altos de a^* y frutos más rojizos. Lo anterior puede sugerir que en particular esta condición ambiental (40 °C y 85 % de HR),

en presencia de *E. cloacae* y sus interacciones podrían favorecer la acumulación de pigmentos relacionados con la maduración del jitomate, como lo es el licopeno.

Una vez que se tuvo conocimiento de que el comportamiento de las bacterias patógenas y de la flora nativa dependió por una parte de las condiciones ambientales como temperatura y humedad relativa prevalecientes durante el almacenamiento de los frutos y por otra de las interacciones microbianas que se llegan a establecer, se procedió a estudiar el proceso de comunicación celular conocido como *Quorum Sensing* (QS), del cual dependen las interacciones bacterianas. (Fuqua *et al.*, 1996; Waters *et al.*, 2005). El QS se da por medio de pequeñas moléculas “señal” conocidas como autoinductores (AI), las cuales juegan un papel esencial en la sincronización y expresión de ciertos genes (Zhang *et al.*, 2004). Las bacterias Gram negativas producen dos clases de autoinductores (AI): los AI-1 que son moléculas de Acil homoserina Lactonas de (AHLS) y AI-2 que son moléculas de furanosilborato diesteres (Surette y Bassler, 1998; Smith *et al.*, 2004).

Las enterobacterias *E. coli* y *Salmonella* no tienen la capacidad de producir AI-1, sin embargo, pueden alterar su expresión génica en respuesta a la presencia de AHLS en el medio, a través de un regulador transcripcional *SdiA* (Ahmer, 2004). Según Van Houdt *et al.* (2006) el hecho de que *E. coli* pueda detectar la presencia de bacterias vecinas le puede ayudar a sobrevivir en condiciones hostiles y competir con la flora nativa por los nutrientes presentes en el medio. Según Cloak *et al.* (2002) la acumulación de AHLS en el medio se encuentra relacionada con las condiciones ambientales o de cultivo como son: tipo de nutriente, temperatura de incubación, humedad y pH; mismas que determinan la composición de la población bacteriana. En esta investigación se consideró la determinación de AHLS (AI-1) producidas por las especies aisladas en la microflora nativa del fruto (*C. freundii* y *E. cloacae*), en presencia de distintos patogrupos de *E. coli* y bajo diferentes condiciones de incubación. Las determinaciones del AI-1 fueron realizadas paralelamente a los recuentos bacterianos y fueron expresadas como índices de inducción de la actividad de la β galactosidasa (IID).

En general se observó que los IID presentaron diferencias significativas entre sí ($P < 0.05$) de acuerdo con la condición de incubación, siendo los IID más altos y por lo tanto con mayor actividad de las moléculas autoinductoras en frutos inoculados con *C. freundii* e incubados a 40 °C y 85% de HR. Particularmente *C. freundii* fue la especie que mejor se adaptó a las condiciones anteriormente mencionadas manteniendo un crecimiento de 7 Log₁₀ UFC/g hasta las 168 h de almacenamiento.

De acuerdo con la relación de los tiempos de incubación y producción de los IID se evidenció mayor producción de AI-1 a 40 °C/85 % de HR, sin embargo, en esta condición algunas interacciones bacterianas solamente presentaron respuesta de inducción hasta las 72 h de incubación, a diferencia de la condición de 22 °C/60% de HR, en la que la inducción se prolongó hasta las 120 y 168 horas.

En las interacciones de *C. freundii* con los patotipos de *E. coli* se presentaron diferencias significativas en los IID ($P < 0.05$), siendo más altos los correspondientes a la interacción de *C. freundii* y EHEC a las 120 y 168 h con incubación a 40°C y 85% de HR, condiciones que mantuvieron el crecimiento de ambas bacterias. En contraste en la interacción de *C. freundii* y ETEC, a partir de las 72 h ya no se detectó inducción de la actividad de la β galactosidasa reduciéndose también el crecimiento de *C. freundii* en competencia con ETEC, quien se mantuvo viable hasta las 120 h. Mientras que en la interacción de *C. freundii* y *E. cloacae* los valores obtenidos de los IID fueron menores a los obtenidos cuando se inoculó individualmente *C. freundii* en los frutos, con respuesta de inducción solamente hasta las 72 h con 40 °C/85 % de HR. El resultado anterior conduce a plantear que si bien ambas enterobacterias *C. freundii* y *E. cloacae* son capaces de producir AHLS, los IID de *E. cloacae* fueron menores a los alcanzados con *C. freundii*. Es decir en la interacción *C. freundii* y *E. cloacae* la producción de AHLS se debe principalmente a la presencia de *C. freundii* y en menor medida a *E. cloacae*. Lo que sugiere que bajo las condiciones de estudio y de acuerdo con la producción AHLS en esta interacción (*E. cloacae* y *C. freundii*) se está favoreciendo la comunicación intra y no inter especies. Lo anterior es de interés si se considera que ambas bacterias fueron consideradas como parte de la flora nativa del fruto de jitomate, debido a que se aislaron con mayor frecuencia en el primer muestreo realizado en frutos con diferentes grados de madurez y en distintos invernaderos de la región de estudio.

En general los IID obtenidos por *E. cloacae* presentaron diferencias significativas en función de la condición de almacenamiento siendo más altos a 22 °C en comparación con los obtenidos a 40 °C. Mientras que en las interacciones de *E. cloacae* con los patogrupos de *E. coli* se produjo mayor actividad del AI-1 en presencia de ETEC, con valores máximos de los IID en la condición de 22 °C/65 % de HR y con 168 h de incubación. En cambio en la interacción de *E. cloacae* con EHEC a 40 °C y 85 % de HR la actividad de inducción fue mínima o nula para ser detectada a partir de las 72 horas de incubación.

Existen varios reportes que sugieren que la producción de moléculas autoinducidas puede estar relacionada con la formación de biopelículas, permitiendo que los microorganismos puedan colonizar, internalizar o adherirse a la superficie de los vegetales o bien mantenerse en comunicación con la flora nativa. (Lynch *et al.*, 2002; Vance *et al.*, 2003). Esta relación entre producción de autoinductores y formación de biopelículas permite que los microorganismos puedan colonizar o adherirse a la superficie de vegetales o bien mantenerse en comunicación con la flora nativa. (Van Houdt, 2004). Con este antecedente se decidió evaluar la formación de biopelículas en frutos inoculados con los microorganismos productores de AHLS, *C. freundii* y *E. cloacae* con sus interacciones.

Las primeras microscopias de barrido evaluadas de frutos inoculados con *E. cloacae* y *C. freundii* almacenados a 22 °C y 60 % de HR, mostraron desde las 1.5 h un gran número de células bacterianas dispersas, las cuales iniciaban su adherencia sobre el

pericarpio del jitomate. Bajo esta misma condición de incubación y después de 72 h, las microfotografías de los frutos inoculados con interacciones microbianas como *C. freundii* y ETEC muestran el desarrollo de una estructura tipo biopelícula en la cual se encuentran embebidas numerosas bacterias.

En la condición de 40 °C y 85 % de HR, las imágenes correspondientes a frutos inoculados con *E. cloacae* son similares a las reportadas por Herson *et al.*; (1987), quienes evaluaron el efecto del tiempo de adherencia y formación de biopelículas en la sobrevivencia de *E. cloacae*. En este estudio se evidenció que después de 72 h de incubación es posible observar poblaciones de células bacterianas de *E. cloacae*, adheridas a un material extracelular con morfología amorfa y varias estructuras bacilares, y a las 162 h ya solo se detecta material extracelular y algunas células bacterianas embebidas.

Con estos resultados se demuestra que las bacterias pertenecientes a la flora nativa del fruto (*E. cloacae* y *C. freundii*) capaces de producir AHLs, también se adhieren y forman biopelículas sobre la superficie del jitomate, dependiendo de las condiciones ambientales a las que sean expuestas. Lo anterior es importante considerarlo si se pretenden implementar medidas relacionadas con la desinfección del fruto, ya que la microflora adherida y formadora de biopelículas es más difícil que pueda ser eliminada con los métodos tradicionales que suelen emplearse antes de su consumo (Michiels *et al.*, 1997; Du *et al.*, 2008).

A manera de resaltar los hallazgos más sobresalientes de las Interacciones bacteria-hospedero en la superficie del fruto de jitomate, en el Cuadro 11.3 se resumen los efectos de las condiciones ambientales temperatura y humedad relativa sobre: el comportamiento de inoculos simples y mixtos de bacterias nativas y patógenas inoculadas en el fruto, cambios presentados en las propiedades físicas de los frutos inoculados (firmeza y color) y producción del AI-I(AHLS) y su relación con la formación de biopelículas sobre el pericarpio del jitomate.

Variabilidad de la composición química del fruto considerando diferentes grados de madurez, cultivares, condiciones ambientales y tipos de invernaderos.

Actualmente se busca en los invernaderos un microclima que favorezca el crecimiento de las plantas donde las condiciones ambientales como la temperatura, intensidad de luz y humedad relativa puedan influir directamente sobre la composición nutricional y atributos de calidad de los cultivos (Kader, 2007; Dorais *et al.*, 2001).

Cuadro 11.3. Efectos de las condiciones ambientales sobre el comportamiento microbiano y fruto inoculado.

<u>Condiciones Ambientales</u>		
	<i>T22°C y 60% de HR</i>	<i>T40°C y 85% de HR</i>
<i>Efectos sobre el comportamiento microbiano</i>	Los recuentos más altos se obtuvieron entre 7 y 9 Log ₁₀ UFC/g en la microbiota nativa y patógena a las 24 y 72 h de crecimiento.	La mayoría de las enterobacterias inoculadas se inhibieron a excepción <i>C.freundii</i> , quien mantuvo un crecimiento de 7 Log ₁₀ UFC/g hasta las 168h
	ETEC presentó diferencias en su crecimiento de acuerdo con el grado de madurez, con recuentos más altos en M50% en sus interacciones con la flora nativa.	Se detectó mayor inhibición de EHEC al interaccionar con <i>E. cloacae</i> perteneciente a la flora nativa
	La interacción de <i>C. freundii</i> y <i>E. cloacae</i> mantuvieron su crecimiento hasta las 168 h con poblaciones mayores de 7 Log ₁₀ UFC/g	La interacción de <i>C. freundii</i> y <i>E. cloacae</i> inhibió su crecimiento a partir de las 72h en MF y MC.
	<i>E. cloacae</i> presentó los valores más altos de IDD a partir de las 120h en inóculos simples.	La mayor producción de AHLS y por tanto los valores más altos IID se presentaron en frutos inoculados con <i>C. freundii</i> , favoreciéndose la comunicación intra especies
	Los valores de IID más altos de las interacciones de <i>E. cloacae</i> se presentaron con <i>C. freundii</i> y EHEC	En la interacción de <i>C. freundii</i> y <i>E. coli</i> se produjeron valores más altos de IID con EHEC a las 120 y 168h
<i>Efectos sobre el fruto de jitomate</i>	Los frutos presentaron mayor firmeza principalmente los inoculados con <i>C. freundii</i> .	Se presentó reducción de la firmeza en presencia de <i>E. cloacae</i> y <i>C. freundii</i> en presencia de ETEC.
	En frutos inoculados con <i>C. freundii</i> en MF y MC se redujeron los valores de <i>a*</i> .	En frutos inoculados con <i>E. cloacae</i> se tuvieron los valores más altos de <i>a*</i> o frutos más rojizos.
	Se favoreció la adherencia y formación de biopelículas sobre el pericarpio en presencia de <i>C. freundii</i> y sus interacciones a las 72 h de crecimiento.	En las microfotografías en frutos con <i>E. cloacae</i> se observan células bacterianas adheridas a un material extracelular con morfología amorfa y varias estructuras bacilares.

MF: Madurez fisiológica, MC: Madurez de consumo, IID: Índice de inducción de la actividad de la β- galactosidasa. AHLS: Acil homoserina Lactonas.

Aunque se sabe que ciertos factores como: el estado de madurez, variedad botánica, cultivar y condiciones de manejo del cultivo pueden influir también sobre la composición química de frutos como el jitomate. (Abushita *et al.*, 2000; Giovanelli *et al.*, 1999; Juroszek *et al.*, 2009). De ahí que en esta parte de la investigación correspondiente al Capítulo VII se enfocó a estudiar la variabilidad de los parámetros de calidad y composición fitoquímica del jitomate; considerando diferentes grados de madurez, cultivares, condiciones ambientales y tipos invernaderos.

Para evaluar la influencia de las condiciones ambientales se consideró el monitoreo y registro de las variables climáticas como la temperatura (°C), radiación fotosintéticamente activa (RFA) y humedad relativa (% HR) recibidas en el interior de siete invernaderos hidropónicos y de fertirrigación pertenecientes a cuatro localidades (Aquixtla, Tlaltempa, La Loma y Cuautieco) del Municipio de Aquixtla, Puebla. Se relacionaron los valores medio, moda y máximo de cada condición ambiental con los resultados obtenidos en la composición química de los frutos: Para lo anterior sólo se eligieron los registros de las condiciones ambientales pertenecientes a los últimos 12 días *pre-cosecha* necesarios para alcanzar los tres grados de madurez en estudio madurez del 50% (M50%), madurez fisiológica (MF) y madurez de consumo (MC) en las diferentes variedades estudiadas (*Reserva, Charleston, 7705, La Joya y Aníbal*). Para facilitar el manejo de los datos obtenidos en las variables climáticas (temperaturas y humedad relativa) se calcularon los promedios de los valores mínimo, moda y máximo de las condiciones ambientales (TMin, HRMin, TMo, HRMo, TMax y HRMax).

Se tuvieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las condiciones ambientales siendo los invernaderos de fertirrigación los que mostraron temperaturas extremas (mínimas y máximas) en comparación con los hidropónicos. Algo notable fue que los valores de TMax alcanzados sobrepasaron las temperaturas óptimas siendo más altas en los invernaderos de fertirriego, estos incrementos de temperatura causaron reducciones significativas en los porcentajes de humedad relativa durante los grados de madurez del 50% y MF en algunos invernaderos. Sin embargo, las modas correspondientes a los porcentajes de HR estuvieron por encima del 78% incluso se presentaron en los grados de madurez del 50% en los invernaderos con variedad *Reserva* y *7705* humedades relativas del 100%.

Para evaluar la influencia de las condiciones ambientales se consideró el monitoreo y registro de las variables climáticas como la temperatura (°C), radiación fotosintéticamente activa (RFA) y humedad relativa (% HR) recibidas en el interior de siete invernaderos hidropónicos y de fertirrigación pertenecientes a cuatro localidades (Aquixtla, Tlaltempa, La Loma y Cuautieco) del Municipio de Aquixtla, Puebla.

Se relacionaron los valores medio, moda y máximo de cada condición ambiental con los resultados obtenidos en la composición química de los frutos, pero lo cual solo se eligieron los registros de las condiciones ambientales pertenecientes a los 12 últimos días *pre-cosecha*, necesarios para alcanzar los tres grados de madurez en estudio madurez del 50% (M50%), madurez fisiológica (MF) y madurez de consumo (MC) en las diferentes variedades estudiadas (*Reserva, Charleston, 7705, La Joya y Aníbal*). Para facilitar el manejo de los datos obtenidos en las variables climáticas (temperaturas y humedad relativa) se calcularon los promedios de los valores mínimo, moda y máximo de las condiciones ambientales (TMin, HRMin, TMo, HRMo, TMax y HRMax).

Se tuvieron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las condiciones ambientales siendo los invernaderos de fertirrigación, los que mostraron temperaturas extremas (mínimas y máximas) en comparación con los hidropónicos.

Algo notable fue que los valores de TMax alcanzados sobrepasaron las temperaturas óptimas siendo más altas en los invernaderos de fertirriego, estos incrementos de temperatura causaron reducciones significativas en los porcentajes de humedad relativa durante los grados de madurez del 50% y MF de los frutos en algunos invernaderos. Sin embargo, las modas correspondientes a los porcentajes de HR estuvieron por encima del 78% incluso se presentaron en los grados de madurez del 50% en los invernaderos con variedad *Reserva* y 7705 humedades relativas del 100%.

También se evaluó la radiación fotosintéticamente activa (RFA) registrando valores mínimos de $0.53 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ y máximos de $299 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, los cuales de forma coincidente tendieron a disminuir conforme se incrementó el grado de madurez de los frutos, debido a la reducción en el fotoperíodo de junio a julio en el cual los frutos llegaron al grado de madurez requerida para su colecta. El control de esta condición durante la producción de jitomate es de gran importancia ya que la RFA es responsable de procesos como la fotosíntesis, fotoperíodo y fotomorfogénesis los cuales rigen el crecimiento de la planta (Aderoye y Jolliffe, 1987).

A pesar de que se llevo un registro diario y a diferentes horas del día de las condiciones ambientales de los invernaderos y durante todas las etapas de cultivo, no mostraron una relación directa con los parámetros de calidad correspondientes a las características internas de los frutos como pH, sólidos solubles totales (°Brix) y acidez titulable (AT), pero si se vieron influidos directamente por el grado de madurez, variedad y tipo de invernadero. De manera general los valores de °Bx fueron mayores al 3% y los valores de AT fueron superiores a 0.32% considerando los tres grados de madurez, lo cual según Flores *et al.* (2009) estos rangos de las variables están relacionados con frutos de buena calidad y sabor. Por su parte los °Brix se relacionaron con los contenidos de azúcares totales presentes en los frutos, lo cual se debe a que el 60 % de los sólidos solubles del jitomate, corresponden a estos carbohidratos determinando el sabor del fruto. En los °Bx y contenido de azúcares totales, se presentó un efecto altamente significativo ($P < 0.01$) con respecto al grado de madurez, observándose una reducción en frutos más inmaduros y diferencias significativas de acuerdo con la variedad del fruto. Esta tendencia es natural de los frutos, ya que por lo general los niveles más bajos en sólidos solubles se registran en los estadios tempranos de desarrollo y tienden a incrementar conforme el fruto madura, lo cual coincide plenamente con lo reportado previamente por autores como Molyneux *et al.* (2004).

Las reducciones de estos parámetros de calidad son explicadas por Kader (1987), quien considera que los frutos en los primeros grados de madurez demandan un mayor aporte energético para el desarrollo de sus procesos metabólicos como es la respiración, en el cual se consumen azúcares como la glucosa y fructosa como principales sustratos.

Una relación muy utilizada para la comparación de cultivares en jitomate es el índice de madurez (IM) en el cual interfieren los sólidos solubles con respecto a la acidez titulable, idealmente se espera un incremento en el nivel de azúcares y una concentración óptima de ácidos, mientras que un incremento de estos últimos puede

propiciar una disminución en la aceptabilidad del fruto (Malundo *et al.*, 1995). Los IM evaluados en frutos de MC provenientes de invernaderos tanto de hidroponía como de fertirrigación fueron mayores a 10, lo cual según Nielsen, (2003) pueden considerarse como frutos sensorialmente adecuados para su consumo.

La firmeza, otro factor relacionado con la calidad del jitomate, tuvo un efecto significativo ($P \leq 0.01$) no solo por el grado de madurez sino que además la firmeza también presentó diferencias significativas por las condiciones de manejo del cultivo, siendo los frutos cultivados en fertirrigación los que tuvieron 15% mayor firmeza en comparación con los de hidroponía. Lo anterior pudo evidenciarse en las variedades de los frutos *Reserva* y *La Joya* en el grado de madurez del 50% cultivados en fertirrigación, quienes presentaron valores más altos de firmeza, 11.35 ± 1.86 y 9.25 ± 1.7 Kg^f, respectivamente. El hallazgo anterior es importante debido que bajo este grado de madurez (M50%: inicio pintón), eventualmente los productores del municipio de Aquixtla cosechan sus frutos para su comercialización.

Respecto al color, el cual es decisivo en la determinación del punto de maduración y de la vida postcosecha del jitomate (Arias *et al.*, 2000), se evaluó indirectamente a través de los parámetros de la escala de HunterLab (L^* , a^* y b^*), los cuales tuvieron diferencias significativas con respecto a la variedad y estadio de maduración del fruto.

Específicamente los parámetros L^* y b^* mostraron una reducción importante de acuerdo con la maduración del fruto, lo anterior como consecuencia de la síntesis de los carotenoides y disminución de las tonalidades verdosas (Shewfelt *et al.*, 1988). Adicionalmente los valores de a^* se correlacionaron negativamente con los valores obtenidos de firmeza ($r = -0.79$), donde ambos parámetros dependen de los cambios de madurez del fruto.

También a partir de los parámetros de color se calcularon los índices *Hue*, *Chroma* y las razones a^*/b^* , y $(a^*/b^*)^2$, los cuales pueden relacionarse con los contenidos de pigmentos en los alimentos, específicamente en jitomate pueden referirse al contenido de licopeno en frutos maduros (Wold *et al.*, 2004 y Brandt *et al.*, 2006). Lo anterior es de gran utilidad a nivel práctico, ya que con la medición de estos parámetros de color se puede inferir sobre el contenido de licopeno en los jitomates sin necesidad de hacer la cuantificación directa de este pigmento.

Otra de las correlaciones que resultaron interesantes fueron las que se presentaron entre los contenidos de clorofila y licopeno en frutos con madurez de consumo con los índices de color a^*/b^* y $(a^*/b^*)^2$ con valores de $r = -0.56$ y 0.54 y $r = 0.81$ y 0.82 , respectivamente. Inclusive estos últimos coeficientes coinciden con los reportados por Arias *et al.* (2000) quienes afirman que la relación $(a^*/b^*)^2$ se considera como un índice de maduración de los frutos de jitomate. Lo anterior podría confirmarse también con otra correlación significativa que se presentó entre los índice de color y el contenido de carotenoides totales presentes en el fruto ($r = 0.70$). Los carotenoides incluyen al licopeno, xantofilas y caroteno, los cuales son los responsables de las coloraciones

rojiza, naranja y amarilla del jitomate, así como de la acción vitamínica del α y β caroteno y la criptoxantina precursores de vitamina A (Ortega *et al.*, 2004). En particular los contenidos de carotenoides totales presentaron un efecto significativo ($P < 0.05$) por el sistema de producción utilizado, donde los valores mayores se tuvieron en frutos cultivados en invernaderos de fertirrigación en comparación con los de hidroponía. Así mismo se observaron diferencias significativas entre variedades y grados de madurez, donde los frutos de las variedades *La Joya* y *Reserva*, presentaron los contenidos más altos.

Unos de los carotenoides que más estudiado es el licopeno, al cual se lo asocia con propiedades como antioxidante frente a padecimientos cancerígenos y coronarios. Además de contribuir a reducir la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y a disminuir los niveles de colesterol en la sangre (Weisburger, 1999; Leonardi *et al.*, 2000). En este trabajo los contenidos de licopeno dependieron significativamente ($P < 0.05$) del grado de madurez y variedad de los frutos, por ejemplo en M50% el rango en promedio fue de 1.39 a 6.29 $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$, en MF de 3.0 a 14.22 $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$ y en MC de 6.82 a 23.41 $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{PF}$. Las variedades que presentaron mayores contenidos de licopeno fueron *Reserva* y *Anibal* ambas cultivadas en hidroponía, tipo saladette y en grado de madurez de consumo.

Lo anterior puede incidir para la selección de variedades de cultivo, debido a que el jitomate se considera la fuente de licopeno más importante en la dieta (Willcox *et al.*, 2003), aunado a esta particularidad existe la opción de elegir variedades que lleguen a mantener contenidos altos de este primordial pigmento.

Las condiciones ambientales prevalecientes en los invernaderos también influyeron sobre los contenidos de licopeno, específicamente los valores promedio de T_{max} (mayores a 33°C) y HR_{min} (25%) alcanzados durante las etapas pre cosecha en el cultivo de las variedades *Charleston* y *La Joya* indujeron la reducción en los contenidos de este antioxidante. Lo cual puede deberse a que la síntesis del licopeno llega a afectarse con el incremento de la temperatura, específicamente los precursores se inhiben y la producción de licopeno se detiene en temperaturas por debajo de 12 °C y por encima de 32 °C, el intervalo más favorable se encuentra entre 22 y 25 °C (Abushita *et al.*, 1997).

Es importante resaltar que en la mayoría de los invernaderos estudiados se vio rebasado este rango óptimo de temperatura, a pesar de que en las épocas más calurosas los productores ventilan de forma continua los invernaderos. Otra de las condiciones ambientales que incidió sobre los invernaderos es la radiación fotosintéticamente activa (RFA), que en particular en este trabajo se presume que la RFA máxima ($269 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) registrada durante los periodos pre cosecha, afectó positivamente la biosíntesis del licopeno (Brandt *et al.*, 2006).

La tendencia anterior fue observada en el invernadero de hidroponia donde se cultivó la variedad *Anibal*, en la cual se tuvieron los valores más altos de este pigmento y la RFA se encontró dentro del intervalo óptimo para la producción de jitomate. Sin embargo, la RFA no fue constante en todos los invernaderos a pesar de estar localizados en un mismo municipio, lo cual se atribuye a que la orientación y los tipos de plástico de los invernaderos varían ampliamente entre sí, influyendo sobre la intensidad de la RFA que incide sobre las plantas.

El ácido ascórbico o vitamina “C” fue otro de los antioxidantes estudiado, cuyos contenidos se relacionaron con los grados de madurez, variedad y tipo de invernadero utilizado. Los valores medios obtenidos fueron disminuyendo conforme la maduración del fruto de 28.99, 18.95 y 10.95 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ PF en los grados madurez del 50%, MF y MC, respectivamente. La tendencia anterior permite justificar la correlación positiva que se presentó entre los contenidos de ácido ascórbico y la firmeza de los frutos con $r=0.54$, específicamente en las variedades *Reserva* y *Charleston* cultivados en fertirrigación e hidroponia, respectivamente. Lo cual sugiere que si existen correlaciones positivas del contenido de licopeno y ácido ascórbico con el color y la firmeza de los frutos, sería interesante estudiar con más detalle estas relaciones para manejarse como alternativas de evaluación en los antioxidantes a través de las determinaciones de los parámetros de calidad firmeza y el color de los frutos.

Finalmente en el Cuadro 11.4 se describen de forma resumida como se vieron afectados los parámetros de calidad incluyendo las características internas y externas y los componentes químicos de los frutos de jitomate, en relación con las condiciones ambientales de los diferentes tipos de invernaderos (fertirriego e hidroponía), grado de madurez y variedad de los frutos.

Cuadro 11.4. Factores relacionados con la variabilidad en los parámetros de calidad y composición química del jitomate.

<i>Factores que afectan los parámetros de calidad y composición química del jitomate</i>		
<i>Parámetros y Componentes</i>	<i>Efecto de las condiciones ambientales (T, HR y RFA) y tipo de invernadero</i>	<i>Efecto del grado de madurez y variedad del fruto</i>
<i>Parámetros internas:</i> <i>pH, acidez titulable (AT) y °Bx y azúcares totales</i>	Los frutos más ácidos correspondieron a jitomates cultivados en invernaderos hidropónicos en comparación con los de fertirrigación	Los valores más altos de AT se presentaron en frutos con madurez del 50% y MC. En los °Bx y contenido de azúcares totales, se presentó una reducción en frutos más inmaduros y diferencias significativas de acuerdo con la variedad del fruto. Los mayores contenidos de azúcares se tuvieron con la variedad <i>Reserva</i> .
<i>Parámetros externas:</i> <i>Color (parámetros L*, a y b*) y firmeza</i>	Los frutos en fertirrigación presentaron 15% mayor firmeza en comparación con los de hidroponía. Los valores de a* fueron mayores en frutos cultivados en fertirrigación y tendieron a reducirse de acuerdo con la Tmax de los invernaderos.	Los parámetros L* y b* mostraron reducción de acuerdo con la maduración del fruto.
<i>Componentes Químicos</i>		
<i>Clorofila y carotenoides totales</i>	Los contenidos de carotenoides totales fueron mayores en frutos cultivados en invernaderos de fertirrigación.	Los mayores contenidos de clorofila total se presentaron en frutos de M50%. Los carotenoides presentaron diferencias significativas entre variedades y grados de madurez con contenidos más altos en frutos de las variedades <i>La Joya</i> y <i>Reserva</i> .
<i>Licopeno</i>	Los incrementos en las condiciones ambientales Tmax y RFAMax influyeron reduciendo e incrementando los niveles de licopeno. Los valores más altos en el contenido se presentaron en frutos cultivados en hidroponía.	Se observaron diferencias entre grados de madurez y variedades siendo <i>Anibal</i> y <i>Reserva</i> las que presentaron los contenidos más altos, cultivados en hidroponía
<i>Ácido Ascórbico</i>	En los invernaderos donde se mantuvieron la Tmin y TMO de 9.8 y 11.8°C, respectivamente se favorecieron los contenidos altos de ácido ascórbico.	Los contenidos se redujeron conforme la maduración del fruto. Siendo los frutos con M50% de las variedades <i>Reserva</i> y <i>Charleston</i> las que presentaron las concentraciones más altas.

HR: Humedad Relativa, T: temperatura, Tmax: temperatura máxima, Tmin: temperatura mínima, TMO: temperatura moda, RFA: radiación fotosintéticamente activa. M50% madurez del 50%, MC: Madurez de consumo, AT: acidez titulable.

XII. CONCLUSIONES GENERALES Y ALCANCES DE LA INVESTIGACIÓN

12.1 CONCLUSIONES GENERALES

Con base a los resultados de la presente investigación se consideraron relevantes las siguientes conclusiones:

- De manera general se concluye que las condiciones ambientales prevalecientes en los sistemas de producción de jitomate en invernaderos de la región de Aquixtla, influyeron sobre la composición químico-funcional y parámetros de calidad del fruto. También se observó un efecto sobre el comportamiento de la microbiota nativa y patógena presente, lo cual se puede relacionar con la producción de moléculas autoinductoras y la formación de biopelículas sobre la superficie del jitomate.
- Con el Diagnóstico Sistémico realizado en el Municipio de estudio se identificaron dos tipos de sistemas de cultivo para la producción de jitomate: hidroponía y fertirrigación. Este último es el de mayor preferencia por parte de los productores de la región, con una contribución del 71 % del total de la superficie cultivada.
- Se identificaron dos tipos de problemáticas en la región de estudio unas relacionadas con el sistema de producción, incluyendo el manejo del cultivo y el control de las condiciones ambientales en los invernaderos, mismas que se ven reflejadas en la falta de uniformidad de las propiedades físico-químicas y composición nutrimental de los frutos analizados. Otra problemática se relaciona con las dificultades de comercialización del producto, demandando propuestas que consideren con el valor agregado del fruto, en función del cumplimiento de las especificaciones actuales de inocuidad, atributos de calidad de acuerdo con el tipo de variedad y sistema de cultivo utilizados en la región de estudio.
- En los invernaderos de fertirrigación analizados se presentaron variaciones dentro de un mismo sistema de producción en los parámetros de calidad (°Brix y acidez titulable) y composición química (azúcares totales, carotenoides, clorofila y licopeno) de los frutos con diferentes grados de madurez, lo cual sugiere la falta de homogeneidad en las condiciones de manejo del cultivo. Específicamente se detectó que ciertas prácticas como la aplicación de materia orgánica en el suelo, se asoció con contenidos altos de licopeno en los frutos.
- Se reconoció la diversidad de la microbiota presente en frutos con diferentes grados de madurez y suelo pertenecientes a los invernaderos de fertirrigación, identificándose con mayor frecuencia las especies: *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter brakii* y los patogrupos de *Escherichia coli* enteropatogénico y enterotoxigénico (ETEC y EPEC).

- Particularmente en fruto además de ETEC fueron aislados otros enteropatógenos como *Shigella boydii*, siendo relevante la presencia de estos microorganismos si se pretende cumplir con las especificaciones de inocuidad de los productos cultivados en la región de Aquixtla.
- En general los índices diversidad de Simpson (D) y Shannon-Wiener (H'), reflejaron comunidades microbianas más diversas presentes en suelo y los valores del estimador de $S_{(Chao1)}$ indicaron una mayor abundancia de ciertas especies colonizando los frutos. La especificidad de la microbiota en jitomate pudo relacionarse con su preferencia por determinados compuestos contenidos en el fruto, lo anterior se observó en jitomates con mayores contenidos de azúcares y la presencia de enterobacterias como *E. coli* y *S.boydii*.
- Se obtuvieron correlaciones significativas entre los contenidos de compuestos bioactivos (ácido ascórbico y licopeno) y los índices de diversidad microbiana (H' y D) evaluados en fruto, lo cual indica que si bien es importante la composición químico-funcional del jitomate es necesario considerar la heterogeneidad de su microbiota.
- Las condiciones ambientales de temperatura (T) y el porcentaje de humedad relativa (% HR), tuvieron un efecto significativo en la sobrevivencia de la microbiota nativa (*Enterobacter cloacae* y *Citrobacter freundii*) y patógena (patotipos de *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) y enterohemorrágica (EHEC), inoculadas en frutos con diferentes grados de madurez, obteniéndose recuentos más altos con 22 °C y 60 % de HR entre las 24 y 72 h de incubación. Las tendencias de crecimiento fueron mayores en los microorganismos nativos (9 y 10 Log₁₀ UFC/g) en comparación con los patógenos (6 y 8 Log₁₀ UFC/g), después de 164 h de incubación.
- En la condición de incubación con 40°C y 85% de HR reveló un efecto inhibitorio en la mayoría de las enterobacterias inoculadas, a excepción de *C. freundii* quien mantuvo su crecimiento de 7 Log₁₀ UFC/g hasta las 168 horas. Esta misma tendencia de inhibición por las condiciones de T y HR se tuvo con las interacciones de *C. freundii* y *E. cloacae* con los patogrupos ETEC y EHEC. Particularmente en la en la interacción de *E. cloacae* con EHEC se presentó un efecto antagónico sobre este patogrupos, situación que no fue observada con ETEC.
- Los frutos inoculados mostraron cambios significativos en sus propiedades físicas como incrementos en los valores del parámetro de color a^* y reducciones en la firmeza, principalmente por la presencia de la microbiota nativa (*E. cloacae* y *C. freundii*) incubados a 40 °C durante un periodo de 72 h.
- Los índices de inducción de la actividad de la β galactosidasa (IID) relacionados con la actividad de las moléculas autoinductoras (AI-1), dependieron de las condiciones de incubación y de la microbiota presente, siendo mayores los IID en frutos inoculados con *C. freundii* y sus interacciones, a 40 °C y 85% de HR.

- Se demostró que las bacterias pertenecientes a la flora nativa del fruto capaces de producir AHLs (*E. cloacae* y *C. freundii*), también se adhirieron y formaron biopelículas sobre la superficie del jitomate, dependiendo de las condiciones ambientales a las que fueron expuestas, siendo relevante este hecho para la implementación de técnicas de lavado y desinfección del fruto como parte de los programas de sanidad requeridos en la región de estudio.
- Se presentaron diferencias entre los valores mínimo, moda y máximo de las condiciones ambientales como temperatura, humedad relativa y radiación fotosintéticamente activa, monitoreadas en los diferentes invernaderos, afectando directamente los contenidos de compuestos bioactivos, como el licopeno.
- Los parámetros de calidad interna pH, sólidos solubles totales (°Brix) y acidez titulable y externa (color y firmeza) fueron más estables a las variaciones en las condiciones ambientales y se vieron influidos directamente por el grado de madurez, variedad y tipo de invernadero utilizado para el cultivo de los frutos.

12. 2 ALCANCES DE LA INVESTIGACIÓN

Si bien este documento proporciona información relevante sobre los aspectos de composición, calidad e inocuidad que presentan los frutos cultivados en las diferentes regiones del Municipio de Aquixtla, el ámbito de investigación relacionado con el cultivo de jitomate es muy amplio. De acuerdo con lo anterior se sugirieron algunas recomendaciones que pueden ser retomadas en trabajos posteriores a esta investigación.

- Como se plantea en el apartado XIII para el Punto Estratégico 4 se requiere de un Programa de Monitoreo Sistemático con la finalidad de mantener bajo control los requisitos de inocuidad y estándares de calidad. Este programa deberá contener los elementos necesarios para generar las condiciones de inocuidad desde el campo, empaque y traslado del producto, considerando los resultados obtenidos en los análisis bioquímicos y microbiológicos de esta investigación.
- Se requieren investigaciones encaminadas a la búsqueda de tipos de mercados en los que se incluya la comercialización de los productos evaluados en función del contenido químico-funcional y parámetros de calidad.
- De acuerdo con las correlaciones significativas halladas entre los contenidos de compuestos bioactivos y parámetros de calidad, resulta interesante estudiar con más detalle si se podrían proponer alternativas de evaluación a partir de los parámetros de calidad como indicadores de compuestos antioxidantes, mismas que tendrían que difundirse con los productores de jitomate.
- Se recomienda investigar acerca del uso de bioproductos (aceites esenciales y extractos) como alternativas de desinfección de los frutos durante la etapa postcosecha. Las dosis efectivas y tiempos de contacto de estos productos

tendrían que ser propuestos a partir de su eficacia con la microbiota hallada en este estudio.

- Las visitas frecuentes a la zona de estudio permitieron detectar la existencia de riesgos de contaminación ambiental por el uso indiscriminado de agroquímicos en los procesos de producción, para lo cual se requieren de investigaciones que estén relacionadas con el impacto que están sufriendo los recursos naturales como agua y suelo.

XIII. PROPUESTA DE ESTRATEGIA DE DESARROLLO.

Con base en los aspectos estudiados y los resultados obtenidos en esta investigación y considerando las necesidades e inquietudes de los productores de la región de estudio, se propone la siguiente Estrategia de Desarrollo. La cual gira en alrededor de tres ejes principales: producción, procesamiento y comercialización de jitomate cultivado en invernadero. Los Puntos Estratégicos (PE) comunes a los tres ejes son: Viabilidad Económica e Impacto Social (PE2), Sinergia (PE3) y Satisfacción de Requisitos: Inocuidad, Calidad y Normatividad (PE4). A su vez el Eje 1 contiene su propio Punto Estratégico (PE1: Producción). El funcionamiento de la Estrategia propuesta se realiza mediante un Sistema Operativo de Comunicación, el cual se detalla más adelante. (Figura 13.1).

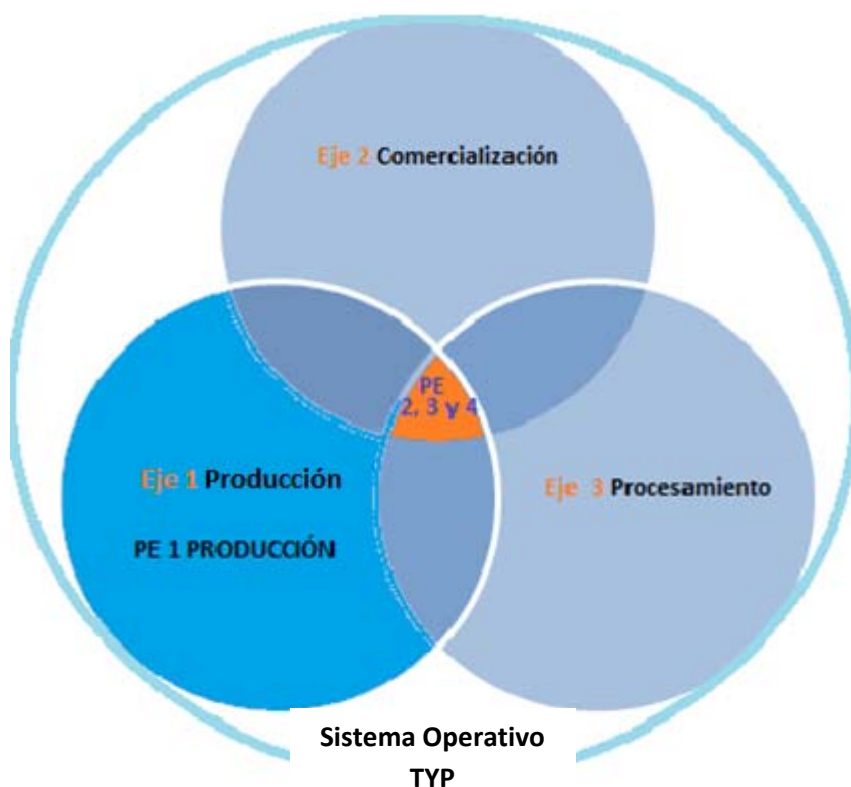


Figura 13.1. Diagrama General de la Estrategia de Desarrollo para la Producción, Procesamiento y Comercialización de jitomate cultivado en invernadero. *PE*: Punto Estratégico, PE2: Viabilidad Económica e Impacto Social, PE3: Sinergia y PE4: Satisfacción de Requisitos: Inocuidad, Calidad y Normatividad.

a) Punto Estratégico 1: Producción

De la información de obtenida durante entrevistas a productores, talleres participativos y recorridos de campo (CAPÍTULO III), se advirtió que las operaciones realizadas en las Unidades Productivas mostraron carencias de capacitación y asesoramiento técnico suficiente y oportunos. También se identificó la ausencia de monitoreo, registro y control adecuado de las condiciones ambientales (T, RFA y HR) en algunos de los invernaderos. Lo anterior está relacionado con la microbiota patógena identificada y la falta de uniformidad en las propiedades fisicoquímicas y composición químico-funcional de los frutos evaluados en esta investigación (CAPÍTULO IV y CAPÍTULO V).

Para revertir la situación citada se propone el siguiente el punto estratégico, en el cual se requieren Recursos Humanos Capacitados para la operación de Procesos Controlados en la transformación de los Recursos Naturales; dando cumplimiento a los requisitos de inocuidad, estándares de calidad y disposiciones de normatividad (Figura 13.2).

Figura 13.2. Componentes del Punto Estratégico1 (PE1): Producción y Distribución. Temperatura (T), humedad relativa (HR), radiación solar (RS) y Buenas Prácticas Agrícolas (BPA).

Asimismo los procesos controlados durante las etapas pre y cosecha, pueden requerir el uso de “bioproductos”, destinados al control y prevención de enfermedades y plagas. Lo anterior con la finalidad de no afectar la *sustentabilidad* del cultivo (Figura 13.2).

b) Punto Estratégico 2: Viabilidad Económica e Impacto Social.

La producción de jitomate en invernadero en el Municipio de Aquixtla es potencialmente viable por: su demanda *sostenida* en las culturas gastronómicas más importantes; su amplio consumo en forma fresca o procesada permite incluirlo en diversos nichos de mercado. Adicionalmente, en la actualidad existen nuevas oportunidades para la comercialización del fruto, las cuales se relacionan con sus atributos funcionales y nutricionales (CAPÍTULO II).

Durante los Talleres Participativos los productores de Aquixtla manifestaron que la factibilidad productiva se dificulta por la insuficiente disponibilidad de mano de obra generada por la emigración de sus habitantes (CAPÍTULO III). Ante ello, la Viabilidad Económica que se propone como PE, puede constituirse en una alternativa eficaz al posibilitar la producción y procesamiento debido a que ofrece empleos permanentes que desalienten el desarraigo (Figura 13.3).

Figura 13.3. Componentes del Punto Estratégico 2 (PE2): Viabilidad económica.

Sin embargo, la viabilidad económica puede estar expuesta a pérdidas y mermas provocadas por causas naturales o inestabilidad de la demanda. Ante estos riesgos se requieren alternativas que permitan el aprovechamiento del producto, entre ellas se encuentran los procesos de deshidratación y liofilización.

Ambos pueden cumplir con los requisitos de inocuidad, trazabilidad, normatividad y expectativas de los nichos de mercado (Figura 13.4).

Figura 13.4. Alternativas para reducir pérdidas y mermas por medio del procesado del fruto.

c) Punto Estratégico 3 (PE 3): Sinergia.

Este Punto Estratégico propone la coadyuvancia de acciones que realizan las Instituciones participantes para la formulación de la Estrategia de Desarrollo y considerando los tres ejes propuesto inicialmente (Figura 13.5).

Figura 13.5. Punto Estratégico 3 (PE3). Sinergia de las Instituciones participantes para la formulación de la Estrategia de Desarrollo.

d) Punto Estratégico 4: Satisfacción de requisitos de Inocuidad, Calidad y Normatividad vigentes.

Para dar cumplimiento a la satisfacción de estándares de Calidad y requisitos de Inocuidad, se requieren efectuar análisis que determinen la composición química e identifiquen la microbiota presente en el fruto. Asimismo los resultados obtenidos tendrán que ser satisfactorios con los valores permisibles dispuestos en la normatividad nacional e internacional vigentes.

Figura 13.6. Punto Estratégico 4 (PE4). Satisfacción de requisitos de Inocuidad, Calidad y Normatividad vigentes.

En esta investigación los análisis bioquímicos se realizaron sobre diversas variedades de fruto con diferentes estadios de maduración y provenientes de distintos sistemas de cultivo (CAPÍTULO VII). Los resultados obtenidos satisfacen los estándares de composición químico-funcional y propiedades fisicoquímicas de acuerdo con lo reportado en varias investigaciones, con los atributos hallados en el fruto cultivado en Aquixtla permitiría acceder a mercados de Mayor Valor.

Sin embargo en los análisis microbiológicos realizados en suelo y fruto se identificaron diversos géneros de enteropatógenos que impiden dar cumplimiento con los requisitos de inocuidad y disposiciones normativas vigentes, relacionadas con el consumo de productos frescos (CAPÍTULO V y CAPÍTULO VI).

Por lo citado se propone un Programa de Monitoreo Sistemático como componente del PE4, a los fines de mantener bajo control los requisitos y estándares. Este programa está

constituido por: muestreos, análisis y resultados; a partir de los cuales se formulen las medidas correctivas necesarias (Figura 13.6).

Sistema Operativo de Comunicación (TYP)

Finalmente para la eficacia funcional de la Estrategia de Desarrollo se considera un sistema de comunicación que proporcione la información pertinente a cada interesado: Instituciones, productores, trabajadores, compradores y proveedores. Se propone que este sistema operativo se encuentre coordinado desde la Dirección de Desarrollo y Fomento Municipal y se difunda a través de diferentes medios informativos (Figura 13.7).

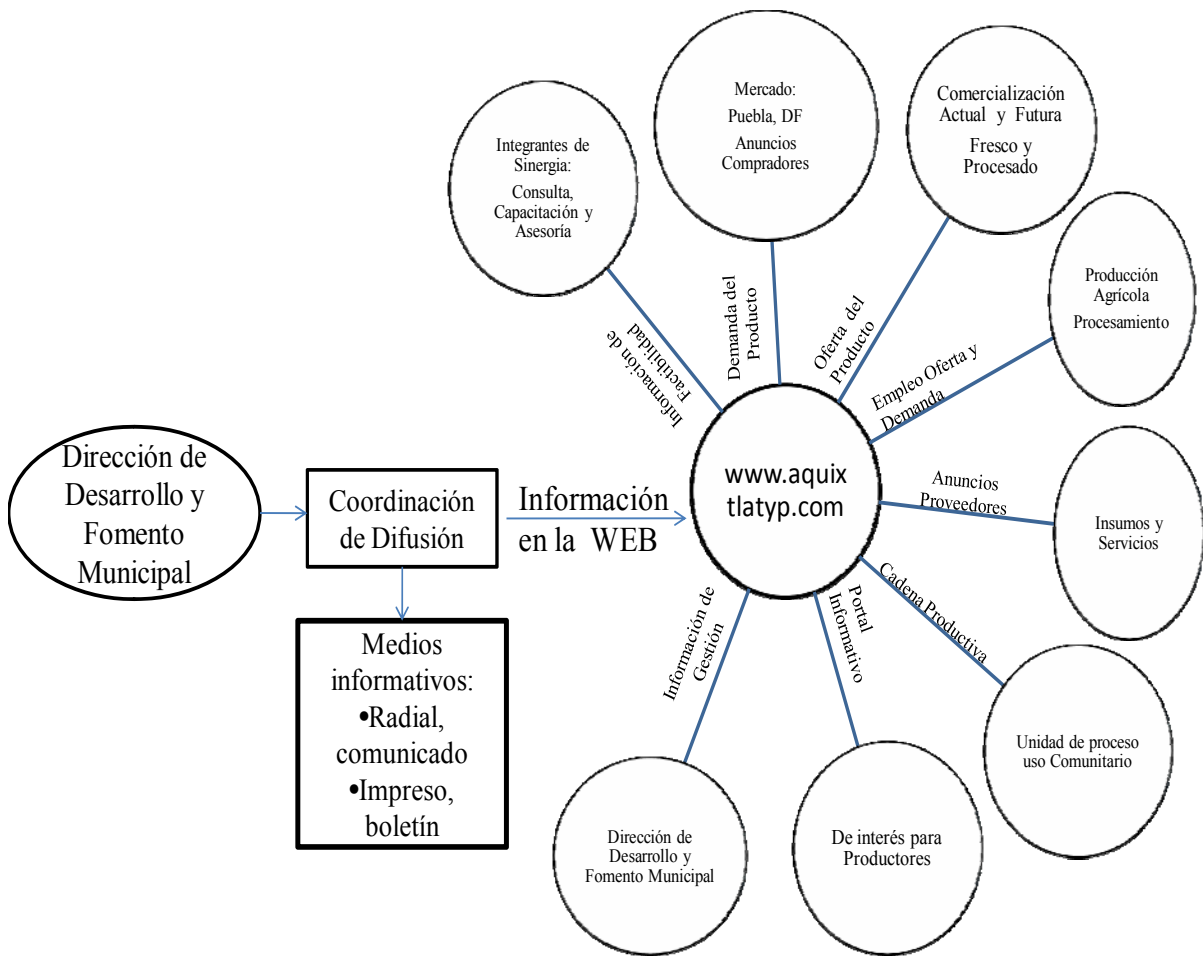


Figura 13.7. Componentes y funciones del Sistema Operativo de Comunicación (TYP).

XIV. LITERATURA CITADA

- Abadias M., Usall J., Anguera M., Solsona C., Viñas I., 2008, International Journal of Food Microbiology. 123:121-129.
- Abbott D. W., Boraston A. B., 2008, Structural Biology of Pectin Degradation by *Enterobacteriaceae*, Microbiology and Molecular Biology Reviews. 72: 301-316.
- Abushita A. A., Hebshi E. A., Daood H. G., Biacs P. A., 1997, Determination of antioxidant vitamins in tomatoes, Food Chemistry. 2: 207-212.
- Abushita A. A., Daood H. G., Biacs P. A., 2000, Change in Carotenoids and Antioxidant Vitamins in Tomato as a Function of Varietal and Technological Factor, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48: 2075-2081.
- Adegoroye A. S., Jolliffe P. A., 1987, Some inhibitory effects of radiation stress on tomato fruit ripening, Journal of the Science of Food and Agriculture. 39: 297-302.
- Ahmer B. M., 2004, Cell-to-cell signalling in *Escherichia coli* and *Salmonella enteric*, Molecular Microbiology. 52: 933-945.
- Al-Wandawi H., Abdul-Rahman M., Al-Shaikhly K., 1985, Tomato processing wastes as essential raw material sources, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 33. 804–807.
- Alzamora S. M., 1997, Preservación I: Alimentos conservados por factores combinados: *In*: Temas en tecnología de alimentos. Aguilera J. M., (eds). CYTED (Programa Iberoamericano de ciencia y tecnología para el desarrollo), Instituto Politécnico Nacional, D. F., México.
- Apollin F., Eberhart C. E., Análisis y diagnóstico de los sistemas de producción en el medio rural: *In*: Guía Metodológica, Sistema de Capacitación para el manejo de los recursos naturales renovables, Ecuador, pp: 7-11.
- Archer D. L., 1996, Preservation microbiology and safety: evidence that stress enhances virulence and triggers adaptive mutation, Trends Food Science Technology. 7:91-95.
- Arias R., Lee T. C., Logendra L., Janes H., 2000, Correlation of lycopene measured by HPLC with the L^* , a^* , b^* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content, Journal of Agricultural and Food Chemistry. 48:1697–1702.
- Balaban N., Koyfman N., 2001, Peptides: bacteria's point of view, Peptides. 22:1517-1518.
- Barajas E. M., 2003, Análisis en la acumulación de azúcares en pericarpios de dos genotipos silvestres de jitomate (*Lycopersicum esculentum*), Revista Agrociencia 37: 363-370.

- Baurer W., Mathesius U., 2004, Plant responses to bacterial quorum sensing signals, *Current Opinion in Plant Biology*.7: 429-433.
- Baynes J.W., 2007, Bioquímica Médica: *In: Bioquímica Médica*, Elsevier Mosby, Madrid, España, pp: 505-515.
- Begon M., Harper J., Townsend C. R., 1990, *Ecology Individuals, Populations and Communities*, Blackwell Scientific Publications, Londres, Inglaterra, pp: 886-929.
- Bell C. R., Dickie G. A., Harvey W. L. G., Chan J.W.Y., 1995, Endophytic bacteria in grapevine, *Canadian Journal Microbiology*. 41:46-53.
- Berger C. N., Sodha S. V., Shaw R. K., Griffin P.M., Pink D., Hand P., Frankel G., 2010, Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens, *Environmental Microbiology*. 12: 2385–2397.
- Beuchat L. R., Brackett R. E., 1991, Behavior of *Listeria monocytogenes* inoculated into raw tomatoes and processed tomato products, *Applied Environmental Microbiology*. 57:1367-1371.
- Beuchat L. R., Doyle M. P., 1995, Survival and growth of *Listeria monocytogenes* in foods treated or supplemented with carrot juice, *Food Microbiology*. 12:73-80.
- Beuchat L. R., 1996, Pathogenic microorganisms associated with fresh produce, *Journal of Food Protection*. 59:204–216.
- Beuchat L. R., Ryu J. H., 1997, Produce handling and processing practices, *Emerging Infectious Diseases*. 3:459-465.
- Beuchat L. R., 2002, Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables, *Microbes and Infection*.4:413-423.
- Binoy G. K., Charanjit D. S., Khurdiya D. S., Kapoor H. C., 2004, Antioxidants in tomato (*Lycopersicum esculentum*) as a function of genotype, *Food Chemistry*. 84: 45-51.
- Böhn V., 2004, Effects of Agronomic practices and processing conditions on tomato ingredients, Kluwer Academic Publishers, Preharvest Practice, pp:37-46.
- Bovy A., Kemper M., Schijlen E., Pertejo M. A., Muir S., 2002, High-flavonol tomatoes resulting from the heterologous expression of the maize transcription factor genes *lc* and *c1*, *The Plant Cell*. 14:2509-2526.
- Braeken K., Maxime R. D., Vanderleyden J., Michiels J., 2008, Quorum Sensing in Bacteria-Plant Interactions, *In: Molecular Mechanisms of Plant and Microbe Coexistence*, Springer-Verlag, Berlin Germany, pp:265-289.
- Bramley P. M., 2002, Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development, *Journal of Experimental of Botany*. 53: 2107-2113.

- Brandt S., Pék Z., Barna É., Lugasi A., Helyes L., 2006, Lycopene content and colour of ripening tomatoes as affected by environmental conditions, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 86: 568-572.
- Branley G. E., Scolnik P.A., 1995, Plant carotenoids: pigments for photoprotection, visual attraction, and human health, *The Plant Cell*.7:1027-1038.
- Brecht J. K., Saltveit M. E., Talcott S. T., Schneider K. R., Felkey K., Bartz, J. A., 2004, Fresh-cut vegetables and fruits, *Horticultural Reviews*. 30:185-230.
- Brown M. V., Bwman J. P., 2001, A molecular phylogenetic survey of sea-ice microbial communities (SIMCO), *FEMS Microbiology Ecology*. 35: 267-275.
- Bruulsema T., Zhang T., Chin C., Fertigation Boosts Optimum Nitrogen for Tomatoes and Peppers, *Better Crops*. 90: 8-10.
- Bugarin M. R., Galvis S. A., Sánchez G. P., García P. D., 2002, Acumulación diaria de materia seca y de potasio en la biomasa aérea total de tomate, *Terra Latinoamericana*, 20: 401-409.
- Burnett S. L., Beuchat L. R., 2001, Human pathogens associated with raw produce and unpasteurized juices, and difficulties in contamination, *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. 27:104-110.
- Burns J., Paul D., Fraser P., Bramley M., 2003, Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables, *Phytochemistry*. 62: 939–947.
- Cadahia L. C., 2001, Fertilización: *In: El Cultivo del Tomate*, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp:167-187.
- Carpentier B., Cerf O., 1993, A review Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry, *Journal of Applied Bacteriology*. 75: 499–511.
- Carrillo L. A., Yahia E. M., Ramirez P. G., 2010, Bioconversion of Carotenoids in Five Fruits and Vegetables to Vitamin A Measured by Retinol Accumulation in Rat Livers, *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*. 5: 215-221.
- Castilla N. P., 2001, Manejo del cultivo intensivo con suelo: *In: El Cultivo del Tomate*, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp:191-225.
- Castillo A., Escartin E. F., 1994, Survival of *Campylobacter jejuni* on sliced watermelon and papaya, *Journal of Food Protection*. 57:166-168.
- Chang C., Liu Y., 2005, Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes, *Journal of Food Engineering*. 77: 478–485.
- Chao A., 1984, Non-parametric estimation of the number of classes in a population, *Scandinavian Journal of Statistic*.11: 265-270.
- Chao A., Lee S. M., 1992, Estimating the number of classes via sample coverage, *Journal of the American Statistical Association*. 87: 210-217.

- Chia-Min, Lin, Cheng-I W., 1997, Transfer of *Salmonella montevideo* onto the Interior Surfaces of Tomatoes by Cutting, *Journal Food Protection*. 60: 858-863.
- Chmielewski R. A., Frank J. F., 2003, Biofilm Formation and Control in Food Processing Facilities, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 3: 22-32.
- Clarke M. B., Sperandio V., 2005, Events at the Host-Microbial Interface of the Gastrointestinal Tract III Cell-to-cell signaling among microbial flora, host, and pathogens: there is a whole lot of talking going on, *American Journal of Physiology Gastrointestinal and liver Physiology*. 288:1105–1109.
- Clinton S. K., 1998, Lycopene: chemistry, biology and implications for human health and disease, *Nutrition Reviews*. 56: 35-51.
- Cloak O. M., Solow B.T., Briggs C. E., Chen C., Fratamico P. M., 2002, Quorum Sensing and Production of Autoinducer-2 in *Campylobacter spp.*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Salmonella enteric* Serovar Typhimurium in food, *Applied and Environmental Microbiology*. 68:4666-4671.
- Cook R., Calvin L., 2005, Greenhouse tomatoes change the dynamics of the North American fresh tomato industry. Economic Research Report-2, U.S. Department of Agriculture Economic Research Service: www.ers.usda.gov/publications/err2/, consultada enero de 2010.
- Cooley M. B., Chao D., Mandrell R. E., 2006, *Escherichia coli* O157:H7 survival and growth on lettuce is altered by the presence of epiphytic bacteria, *Journal of Food Protection* 69: 2329–2335.
- Corrales G. J., 2008, Manejo Postcosecha de jitomate de invernadero, *In: Jitomate Tecnología para su producción en invernadero*, Bautista M. N., Chavarín P. C., Valenzuela E., (ed), Colegio de Postgraduados, México, pp:169-190.
- Cortés O. I., Rodríguez M. E., Tenorio L. B., 2002, Brote causado en Chalco, México, *Revista de Salud Pública de México*. 44: 297-302.
- Cortés G. V., Saavedra del Real G., 2007, Algunos efectos de la Salinidad en el cultivo del tomate y prácticas agronómicas de su manejo, *Idesia*. 25:47-58.
- Costerton J. W., 1995, Overview of microbial biofilm, *Journal of Industrial Microbiology*.15:137-140.
- Czajkowski R., Jafra S., 2009, Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules, *Acta Biochimica Polonica*. 56:1-16.
- Dadomo M., Leoni S., Rodríguez A., Koutos T., Macua J. I., Taborda M. L., Portas C M., Gandolfi G., 1994, Main results of the EEC Research Programme action C. Variability in relation with cultivar and country, *Acta Horticulturae*. 376: 43–50.

- Davies J. N., Hobson G. E., 1981, The constituents of tomato fruit- the influence of environment, nutrition, and genotype, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 15: 205–280.
- Davies D. G., Parsek M. R., Pearson J. P., Iglewski B.H., Costerton J. W., Greenberg P. E., 1998. The involvement of cell-to cell signals in the development of bacterial biofilm, *Science*. 280: 295–298.
- Debe F., 2005, Género y sistemas de producción campesina, FAO, <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/008/y4936s/y4936s00>, consultada agosto 2010.
- Deibel V., 2003, Biofilms, *Internet Journal of Food Safety*. 1:6-7.
- Dewanto V., Wu X. Z., Adom K. K., Liu R. H., 2002, Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 3010-3014.
- Diagnóstico Participativo del Municipio de Aquixtla, Puebla, 2006, Programa de Fortalecimiento de Empresas y de Organización Rural (PROFEMOR), Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Dickinson C. H., 1986, Adaptations of micro-organisms to climatic conditions affecting aerial plant surfaces, *In: Microbiology of the phyllosphere*, Fokkema N.J, Van den Heuvel J., (ed). Cambridge University, New York, USA, pp:77-100.
- Diagnóstico Participativo del Municipio de Aquixtla, Puebla, 2006, Programa de Fortalecimiento de Empresas y de Organización Rural (PROFEMOR), Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Diez J., 2001, Tipos de varietales: *In: El Cultivo del Tomate*, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp: 95-119.
- Dong Y. H., Wang L. H., Xu J. L., Zhang H. B., Zhang X. F., Zhang L. H., 2001, Quenching quorum-sensing-dependent bacterial infection by an *N*-acyl homoserine lactonase, *Nature*. 411: 813-817.
- Donlan R. M., 2002, Biofilms: microbial life on surfaces, *Emerging Infectious Diseases*. 8:881-890.
- Dorais M., Papadopoulos A. P., Gosselin A., 2001, Greenhouse tomato fruit quality, *Horticultural Reviews*. 26: 239-319.
- Dorais M., Ehret D., Papadopoulos A., 2008, Tomato (*Solanum lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer, *Phytochemistry Reviews*. 7:231-250.
- Du W. X., Olsen C. W., Avena B. R. J., Mchugh T. H., Levin C. E, Friedman A., 2008, Antibacterial Activity against *E. coli* O157:H7, Physical Properties, and Storage Stability of Novel Carvacrol-Containing Edible Tomato Films, *Journal of Food Science*. 73:378-383.

- Dumas Y., Dadomo M., Di Lucca G., Grolier P., 2003, Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes, *Journal of The Science of Food and Agriculture*. 83: 369-382.
- Else T., Curtis R., Pante R., Amy S., 2003, Boundaries for Biofilm Formation: Humidity and Temperature, *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 5006–5010.
- Eribo B., Ashenafi M., 2003, Behavior of *Escherichia coli* O157H7 in tomato and processed tomato products. *Food Research International*. 36: 823-830.
- Escalante T. E., 2003, ¿Cuántas especies hay? Los estimadores no paramétricos de Chao, *Elementos Ciencia y Cultura*. 52: 53-56.
- Escartín F. E., 2000, Microbiología e Inocuidad de los Alimentos, Universidad Autónoma de Querétaro, México, pp: 520-527.
- Escartín F., E., 2002, Perfil de contaminación de una planta productora de jitomate hidropónico evaluación de práctica de operación diseñadas para eliminar riesgos microbianos. *Cuaderno de Trabajo*. 1-13.
- FAOSTAT, 2006, Estadísticas datos agrícolas, <http://apps.fao.org/page/collections?subset=agriculture>, consultada agosto de 2010.
- Federle M. J., Bassler B. L., 2003, Interspecies communication in bacteria, *The Journal of Clinical Investigation*. 112:1291-1299.
- Fennema O. R., 2000, Pigmentos genuinos de los alimentos: *In: Química de los Alimentos*, Acirbia, Zaragoza, España, pp: 616-647.
- Fernandez D. S. S., Flores T. F. R., Suarez H. M. A., Garza G. M. T., 2003, The effect of pH and some nutritional factors, on the ability of a native strain of *Enterobacter cloacae* to accumulate exopolysaccharides in vitro. *Biofilms 2003 (Abstracts)*.
- Fernández R., Cámara M., Quintela J., 2007, Ingredientes bioactivos de jitomate: el licopeno, *Revista Nutrición Clínica Dietética Hospitalaria*, 27: 36-40.
- Fett W., 2000, Naturally occurring biofilms on alfalfa and other types of sprouts, *Journal of Food Protection*. 63:625–632.
- Fish W., Perkins-Veazie P., Collins J., 2002, A Quantitative assay for lycopene that utilizes reduced volumes of organic solvents, *Journal of Food Composition and Analysis*. 15:309-317.
- Flores S. M. T., Perez D. M., Guerrero J. E., Garrido V. A., 2009, Feasibility in NIRS Instrument for predicting internal quality in intact tomato, *Journal of Engineering*. 91: 311-318.

- Foyer C. H., Rowell J., Walker D., 1983, Measurements of the ascorbate content of spinach leaf protoplasts and chloroplasts during illumination, *Planta* 157: 239-244.
- Fraser P. D., Truesdale M. R., Colin B. R., Schuch W., Bramley P. M., 1994, *Journal of Plant Physiology*.105:405-413.
- Fuqua C., Winans S. C., 1996, Conserved *cis*-acting promoter elements are required for density-dependent transcription of *Agrobacterium tumefaciens* conjugal transfer genes, *The Journal of Bacteriology*. 178: 435–440.
- Galpaz N., 2006, A chromoplast-specific carotenoid biosynthesis pathway is revealed by cloning of the tomato White-flower locus, *The Plant Cell*. 18:1947-1960.
- Galpaz N., Wan Q., Menda N., Zamir D., Hirschberg J., 2008, Abscisic acid deficiency in the tomato mutant high-pigment 3 (hp3) leading to increased plastid number and higher fruit lycopene content, *The Plant Journal*. 56:717-730.
- Gandhi M., Golding S., Yaron S., Matthews K. R., 2001, Use of green fluorescent protein expressing *Salmonella* Stanley to investigate survival, spatial location, and control on alfalfa sprouts, *Journal of Food Protection*, 64: 1891-1898.
- Garcia V. R. B., Espinar A. C., Carmona M. J. B., 1987, A comparative study of strains of *Salmonella* isolated from irrigation water, vegetables and human infections. *Epidemiology and Infection*. 98:271-276.
- Garcia E., Barrett D. M., 2006, Evaluation of processing tomatoes from two consecutive growing seasons: quality attributes, peelability and yield, *Journal of Food Processing and Preservation*. 30: 20-36.
- Geilfus F., 1998, 80 herramientas para el desarrollo participativo, diagnóstico, planificación, monitoreo y evaluación, IICA-Holanda.
- Gerster H., 1997, The potential role of lycopene for human health, *Journal of the American College of Nutrition*. 16:109-126.
- Ghebbi Si-Mail K., Bellal M., Halladj F., 2007, Effect of potassium supply on the behavior of two processing tomato cultivars and on the changes of fruit technological characteristics, *Acta Horticulturae*.758: 269-274.
- Giovanelli G., Lavelli V., Peri C., Nobili S., 1999, Variation in antioxidant compounds of tomato during vine and post-harvest ripening, *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 79:1583-1588.
- Giovannoni J. J., 2004, Genetic regulation of fruit development and ripening, *The Plant Cell*. 16: S170-S180.
- Giuliano G., Tavazza R., Diretto G., Beyer P., Taylor M., 2008, Metabolic engineering of carotenoid biosynthesis in plants, *Trends in Biotechnology*. 26: 139-145.

- Gobbeti M., De Angelis M., Di Cagno R., Minervini F., Limitone A., 2007, Cell-cell communication in food related bacteria, *International Journal of Food Microbiology*. 120:34-45.
- Gordon M., Young A., 2001, Antioxidant and Prooxidant Properties of Carotenoids, *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 385: 20-27.
- Gould W., 1974, Colour and colour measurement: *In: Tomato Production Processing and Quality Evaluation*, Avi Publishing Westport, pp: 228–244.
- Gould G. W., 1989, Heat induced injury and inactivation, *In: Mechanisms of action food preservation procedures*, Gould G. M (*ed*), Elsevier Applied Science, London U K, pp:11-14.
- Greenberg P. E., 1997. Quorum sensing in Gram-negative bacteria, *ASM News* .63: 371–377.
- Guadarrama A., 1983, Algunos cambios químicos durante la maduración de frutos de semeruco, (*Malpighia punicifolia L.*), *Revista Facultad de Agronomía*. 12: 111-128.
- Guil G. J., Reboloso F. M., 2009, Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties, *Journal of Food Composition and Analysis*. 22:123-129.
- Guo X., Chen J., Brackett R., Beuchat L., 2001, Survival of *Salmonella* on and in Tomato Plants from the Time of Inoculation at Flowering and Early Stages of Fruit Development through Fruit Ripening, *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 4760-4764.
- Guo X., Chen J., Brackett R., Beuchat L., 2002, Survival of *Salmonella* on Tomatoes Stored at High Relative Humidity, in Soil, and on Tomatoes in contact with soil, *Journal of Food Protection*. 65: 274-279.
- Hadley C.W., Clinton S. K., Schwartz S. J., 2002, The Consumption of Processed Tomato Products Enhances Plasma Lycopene Concentrations in Association with a Reduced Lipoprotein Sensitivity to Oxidative Damage, *Human Nutrition and Metabolism*. 133:727-732.
- Hamazu Y., Chachin K., Ueda Y., 1998, Effect of postharvest storage temperature on the conversion of C-mevalonic acid to carotenes in tomato fruit, *Journal of The Japanese society for Horticultural Science*. 67:549-555.
- Harris L. J., Farber J. M., Beuchat L. R., Parish M. E., Suslow T. V., Garrett E. H., Busta F. F., 2003, Outbreaks associated with fresh produce: incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2:78-141.
- Haukioja E., Ossipov V., Koricheva V, Honkanen T., Larsson S., Lempa K., 1998, Biosynthetic origin of carbon based secondary compounds cause of variable

- responses of woody plants to fertilization, *Journal of Chemical Oncology*. 8:133-139.
- Havsteen B., 1983, Flavanoids, a class of natural products of high pharmacological potency, *Biochemical Pharmacology*. 32:1141-1148.
- Heaton S., 2001, *Organic Farming, Food Quality and Human Health, A Review of the evidence*, Soil Association, USA, pp: 80-87.
- Heredia A., Barrera C., Andre A., 2007, Drying of cherry tomato by a combination of different dehydration techniques. Comparison of kinetics and other related properties, *Journal of Food Engineering*. 80:111-118.
- Hernandez S. M., Rodriguez R. E., Diaz R. C., 2007, Analysis of organic acid content in cultivars of tomato harvested in Tenerife, *European Food Research and Technology*. 226: 423-435.
- Hernandez S. M., Rodriguez R. E., Diaz R. C., 2008, Chemical composition of tomato (*Lycopersicon esculentum*) from Tenerife, the Canary Islands, *Food Chemistry*. 106: 1046–1056.
- Herson D. S., McGonigle B., Paye M. A., Baker K.H., 1987, Attachment as a factor in the protection of *Enterobacter cloacae* from Chlorination, *Applied and Environmental Microbiology*. 53:1178-1180.
- Hobson G. E., Bedford L., 1989, The composition of cherry tomatoes and its relation to consumer acceptability, *The Journal of Horticultural Science*. 64: 321-329
- Huang J. J., Petersen A., Zuang L. H., Leadbetrer J. R., 2006, Identification of QuiP, the product of gene PA1032, as the second acyl-homoserine lactone acylase of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, *Applied Environmental Microbiology*.72:1190-1197.
- Hughes J. B., Hellman J., Ricketts T. H., Bohannan B. J., 2001, Counting the Uncountable: Statistical Approaches to Estimating Microbial Diversity, *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 4399- 4406.
- Hurek T., Reinhold H. B., Van Montagu M., Kellenberger E., 1994, Root colonization and systemic spreading of *Azoarcus sp.* strain BH72 in grasses. *The Journal of Bacteriology*. 176:1913-1923.
- Ibarra C., Ruiz C. D., Flores G. J. A., González J. G., Eguiarte D. R., 2007, Distribución espacial del contenido de materia orgánica de los suelos agrícolas de Zapopan, Jalisco, *Terra Latinoamericana*.25: 187-194.
- INAFED: Instituto Nacional para el Federalismo y Desarrollo Municipal: *In: Enciclopedia de los municipios de México*, Puebla, México, 2007, <http://www.inafed.gob.mx>, consultada, febrero de 2007.

- INEGI Puebla, 2008, Superficie sembradas y cosechadas por tipo de cultivo, principales cultivos y municipios según disponibilidad de agua: *In: Anuario Estadístico del Estado de Puebla*, pp: 1384-1395.
- INEGI, 2008, Características seleccionadas de los ejidos y comunidades agrarias por entidad federativa: *In: Anuario Estadístico por Entidad Federativa*, pp: 316-321.
- Iturriaga M., Escartín F., Beuchat L., 2003, Effect of Inoculum Size, Relative Humidity, Storage Temperature, and Ripening Stage on the Attachment of *Salmonella* Montevideo to Tomatoes and Tomatillos, *Journal of Food Protection*. 66:1756-1761.
- Iturriaga M., Tamplin M., Escartín F., 2007, Colonization of Tomatoes by *Salmonella* Montevideo is affected by relative and storage temperature, *Journal of Food Protection*. 70: 30-34.
- Jagger J., 1981, Near-UV radiation effects on microorganisms, *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 34:761-768.
- Janisiewicz W. J., Conway W. S., Brown M. W., Sapers G. M., Fratamico P., Buchanan R. L., 1999, Fate of *Escherichia coli* O157:H7 on fresh-cut apple tissue and its potential for transmission by fruit flies, *Applied Environmental Microbiology*. 65:1-5.
- Johnston C. S., 2001, Vitamin C: *In: Present Knowledge of Nutrition*, Bowman B. A., Russell R. M., Washington, USA, pp: 175-183.
- Jones R. A., Scott S. J., 1984, Genetic potential to improve tomato flavor in commercial F1 hybrids, *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 109: 318-321
- Jouve P., 1993, El diagnóstico agronómico previo a las operaciones de investigación y desarrollo, *Revista Investigación y Desarrollo para América Latina*. 2: 5-20.
- Juroszek P., Lumpkin H. M., Yang R. Y., Ledesma D. R., Ma C.H., 2009, Fruit quality and bioactive compounds with antioxidant activity of tomatoes grown on-farm: comparison of organic and conventional management systems, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57: 1188-1194.
- Kader A. A., Morris L. L., 1977, Composition and flavor quality of fresh market tomatoes as influenced by some postharvest handling procedures, *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 103: 6-13.
- Kader A. A., 1987, Respiration and gas exchange of vegetables: *In: Postharvest physiology of vegetables*, Weichmann J., (ed), Marcel Dekker Inc., New York, USA, pp: 25-43.
- Kader A. A., 2007 Biología y tecnología postcosecha: Un panorama: *In: Tecnología Postcosecha de Productos Hortofrutícolas*, Kader A., (ed), University of

- California, Division of Agriculture and Natural Resources, Oakland, California, USA, pp:43-54.
- Kalia A., Gupta R. P., 2006, Fruit Microbiology *In: Handbook of fruits and fruits processing*, Hui Y. H., (ed), Blackwell Publising, Australia, pp:3-28.
- Kampfenkel K., Van Montagu M., Inzé D., 1995, Extraction and determination of ascorbate and dehydroascorbate from plant tissue, *Analytical Biochemistry*. 225: 165–167.
- Kawaguchi T., Chen Y. P., Norman R. S., Decho A. W., 2008, Rapid Screening of Quorum-Sensing Signal *N*-Acyl Homoserine Lactones by an In Vitro Cell-Free Assay, *Applied and Environmental Microbiology*. 74: 3667-3671
- Ketsa S., Wongveerakhan A., 1987, Ascorbic acid content at maturity stages in tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill) cultivars, *Thai Journal Agricultural Science*, 20: 257-261.
- Kirwan J. P., Gould T. A., Schweizer H. P., Bearden S.W., Murphy R. C., Churchill M. E. A., 2006, Quorum-sensing signal synthesis by the *Yersinia pestis* acyl-homoserine lactone synthase YspI, *The Journal of Bacteriology*. 188:784–788.
- Kolenbrander P. E., Andersen R. N., 1989, Inhibition of coaggregation between *Fusobacterium nucleatum* and *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis* by lactose and related sugars, *Infection and Immunity*. 57: 3204-3209.
- Lactatus V. C., Boetex M., Chelu R., Mirghis R., Voican V., 1994, The influence of organic and mineral fertilizers on tomato quality for processing, *Acta Horticulturae*. 276: 329-332.
- Leon R., Couso I., Fernández E., 2007, Metabolic engineering of ketocarotenoids biosynthesis in the unicellular microalgae *Chlamydomonas reinhardtii*, *Journal of Biotechnology*.130: 143-152.
- Leonardi C., Ambrosino P., Esposito F., Fogliano V., 2000, Antioxidant activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 4723 - 4727.
- Lewis K., 2001, Riddle of biofilm resistance, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45: 999-1007.
- Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R., 1985, Determinations of total carotenoids and chlorophylls A and B of leaf extracts in different solvents, *Biochemical Society Transactions*. 603: 591-592.
- Lippert F., 1993, Amounts of organic constituents in tomato cultivated in open and closed hydroponic system, *Acta Horticulturae*. 339:113-123.
- Liu L. H., Zabarás D., Bennett L. E., Aguas P., Woonton B. W., 2009, Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage, *Food Chemistry*.115: 495–500.

- Liu R. H., 2003, Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals, *The American Journal Clinical Nutrition*. 78:517-520.
- Loannidi E., Kalamaki M., Engineer C., Pateraki I., Alexandrou D., Mellidou I., Giovannonni J., Kanellis A., 2009, Expression profiling of ascorbic acid-related genes during tomato fruit development and ripening and in response to stress conditions, *Journal of Experimental Botany*. 60:663–678.
- Loiudice R. M., Impembo B. L., Villari G., Lo Voi A., Siviero P., Castaldo D., 1995, Composition of San Marzano tomato varieties, *Food Chemistry*. 5: 81-89.
- Lopez J., Tremblay N., Voogt W., Dube S., Gosselin A., 1996, Effects of varying sulphate concentrations on growth, physiology and yield of the greenhouse tomato, *Horticultural Science*. 67: 207–217.
- Lopez C. G., Matas A. J., Cuartero J., Heredia A., Romero A. R., 2003, Mancha solar en el fruto de tomate: análisis de carotenoides y estudio histológico, X Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas, *Actas de Horticultura*. 3: 401-403.
- Lu L., Hume M. E., Pillai S. D., 2005, Autoinducer-2-Like Activity on Vegetable Produce and Its Involvement in Bacterial Biofilm Formation on Tomatoes, *Foodborne Pathogens and Disease*. 2:242-249.
- Lynch M. J., Swift S., Kirke D. F., Keevil C. W., Dodd C. E., Williams P., 2002, The regulation of biofilm development by quorum sensing in *Aeromonas hydrophila*, *Environmental Microbiology*. 4:18–28.
- Macfarlane S., Macfarlane G. T., 2006, Composition and Metabolic Activities of Bacterial Biofilms colonizing food residues in human gut, *Applied and Environmental Microbiology*. 72:6204-6211.
- Mäder P., Fliessbach A., Dubois D., Gunst L., Fried P., Niggli U., 2002, Soil fertility and biodiversity in organic farming, *Science*. 296: 1694-1697.
- Mahajan R., Chandana A, Choudhary J, Mann N, Mann R, 2009, Lycopene, *Pharma Times*. 41: 17-19.
- Malundo T. M., Shewfelt R. L., Scott J. W., 1995, Flavor quality of fresh tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill) as affected by sugar and acid levels, *Postharvest Biology and Technology*. 6: 103-110.
- Mancera M. A., López H. D., Tenorio G. V. R., Vázquez N. J., Ontiveros C. M. L., Durán Valencia S., 2005, Identificación de *S. Enteritidis* en huevo para consume en la ciudad de México, *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 43:229-237.
- Mangels A. R., Holden J. M., Beecher G. R., Forman M. R., Lanza E., 1993, Carotenoid contents of fruits and vegetables: an evaluation of analytical data, *Journal of the American Dietetic Association*. 93: 284–96.

- Marfil P. H. M., Santos E. M., Telis V. R. N., 2008, Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions, *Journal of Food Science and Technology*. 41:1642-1647.
- Martínez A., Diaz R. V., Tapia M. S., 2000, Microbial Ecology of Spoilage and Pathogenic Flora Associated to Fruits and Vegetables, *In: Minimally Processed Fruits and Vegetables*, Alzamora S. M., Tapia M. S., López-Malo A., (eds), Aspen Publication, USA, pp: 43-62.
- Mathesius U., Mulders S., Gao M., Teplitski M., Anolle G. C., Rolfe B. G., Bauer W. D., 2003, Extensive and specific responses of a eukaryote to bacterial quorum-sensing signals, *Journal of Plant Biology*. 3:1444-1449.
- Matkowski A., Tasarz P., Szypula E., 2008, Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from *Lamiaceae*, subfamily *Lamioideae*, *Journal of Medicinal Plants Research*. 2: 321-330.
- Mencarelli F., Salveit M. E., 1988, Ripening of mature-green tomato fruits slices, *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 113: 742-745.
- Merson M. H., Morris G. K., Sack D. A., Wells J. E., Feeley J. C., Sack R. B., Creech W. B., Kapikian A. Z., Gangarosa E. J., 1976, Travelers diarrhea in Mexico, *The New England Journal of Medicine*. 294:1299-1305.
- Merzlyak M. N., Solovchenko A. E., 2002, Photostability of pigments in ripening apple fruit: a possible photoprotective role of carotenoids during plant senescence, *Journal Plant Science*. 163: 881–888.
- Michiels C. W., Schellekens M., Soontjens C. C. F., Hauben K. J. A., 1997, Molecular and metabolic typing of resident and transient fluorescent pseudomonad flora from a meat mincer, *Journal of Food Protection*. 60: 1515–1519.
- Mikkelsen R. L., 2005, Sabor del tomate y la nutrición de la planta, *Revista Informaciones Agronómicas*. 59: 12-14.
- Miller M. B., Bassler B. L., 2001, Quorum sensing in bacteria, *Annual Review of Microbiology*. 55:165-199.
- Mittelman M. W., 1998, Structure and functional characteristics of bacterial biofilms in fluid processing operations, *Journal of Dairy Science*. 81:2760-2764.
- Montreuil J., Spik G., Fournet B., Toillier T., 1997, Nonenzymatic determinations of carbohydrates *In: Analysis of Food Constituents*, Multon J. L. (ed), Wiley-VCH Inc. New York, USA. pp: 112-114.
- Morris C. E., Monier J. M., 2003, The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria, *Annual Review Phytopathology*. 41:429-453.
- Mukherjee A., Speh D., Jones A.T., Buesing K. M., Diez-Gonzalez F., 2006, Longitudinal microbiological survey of fresh produce grown by farmers in the upper Midwest, *Journal of Food Protection*. 69: 1928–1936.
- Nguyen M. L., Schwartz S. J., 1999, Lycopene: chemical and biological properties, *Food Technolgy*. 53: 38-45.

- Nielsen S., 2003, Food analysis, Kluwer Academic-Plenum Publishers, New York, USA.
- Noel J. T., Arrach N., Alagely A., Mc Clelland M., Teplitski M., 2010, Specific Responses of *Salmonella enterica* to Tomato Varieties and Fruit Ripeness Identified by In Vivo Expression Technology, Plos One. 5:1-11.
- Noeldner P. K. M., Coleman M. J., Faulks R., Oliver R. P., 1994, Purification and characterization of mannitol dehydrogenase from the fungal tomato pathogen *Cladosporium fulvum* (syn. *Fulvia fulva*), Physiological and Molecular Plant Pathology. 45: 281-289.
- NOM-021-SEMARNAT 2000, Norma Oficial Mexicana NOM-021-SEMARNAT 2000, Especificaciones de Fertilidad, Salinidad y Clasificación de Suelos, Estudio, Muestreo y Análisis. Disponible en: <http://www.semarnat.gob.mx/leyesy normas/Normas%20Oficiales%20Mexicanas%20vigentes/NOM-021-RECNAT-2000.pdf>, consultada octubre de 2010.
- Norwood D. E., Gilmour A., 2000, The growth and resistance to sodium hypochlorite of *Listeria monocytogenes* in a steady-state multispecies biofilm, Applied Microbiology. 88:512-520.
- Nuez F., 2001, El Cultivo del Tomate, Nuez F., (ed), Mundi Prensa, Madrid, España, pp: 190-219.
- Ocampo F. I., Escobedo C. J. F., 2006, Conocimiento tradicional y estrategias campesinas para el manejo y conservación del agua de riego, Revista Ra Ximhai. 2: 343-371.
- Olsen S. J., MacKinnon L. C. J., Goulding S., Slutsker L., 2000, Surveillance for food borne disease outbreaks United States, 1993–1997, Morbidity and Mortality Weekly Report.49:1–51.
- Orozco L., Rico R. L., Escartin E. F., 2008, Microbiological profile of greenhouses in a farm producing hydroponic tomatoes, Journal of Food Protection. 71: 60–65.
- Ortega A., Basabe T., Sobaler L., 2004, Frutas, Hortalizas y Verduras: *In: Frutas y verduras y salud*, Elviesier, España, pp: 1-18.
- Osorio V. N. W., 2007, A review on beneficial effects of rhizosphere bacteria on soil nutrient availability and plant nutrient uptake, Revista Facultad Nacional de Agronomía. 60:3621-3643.
- Pacheco A. P., 2005, Tecnologías adecuadas a las regiones de México, Colegio de Posgraduados, pp 3-30.
- Paul R. E., Gross K., Qui Y., 1999, Changes in papaya cell walls during fruit ripening, Postharvest Biology and Technology. 16:79-89.

- Peiris K., Dull G., Leffler R., Kays S., Near infrared spectrometric technique for nondestructive determination of soluble solids content in processing tomatoes, *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123:1089-1093.
- Pereira A. L., Silva T. N., Gomes A., Araujo A. C. G., Giugliano L. G., 2010, Diarrhea-associated biofilm formed by enteroaggregative *Escherichia coli* and aggregative *Citrobacter freundii*: a consortium mediated by putative F pili, *The Journal of Microbiology*. 10: 3-18.
- Periago M. J., Alonso J. G., Jacob K., Olivares A. B., Bernal M. J., Iniesta M. D., Martinez C., Ros G., 2009, Bioactive compounds, folates and antioxidant properties of tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) during vine ripening, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 60: 694–708.
- Petro-Turza M., 1987, Flavor of tomato and tomato products, *Food Review International*. 2: 309-351.
- Picha D., 1986, Effect of harvest maturity on the final fruit composition of cherry and large-fruited tomato cultivars, *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 111:723-727.
- Plan de Desarrollo Municipal de Aquixtla 2008-2011, Gobierno del Estado, <http://search.conduit.com/Results.aspx?q=Plan+de+Desarrollo+Municipal+de+Aquixtla+20082011%2C&meta=all&hl=es&gl=mx&SelfSearch=1&SearchSourceOrigin=10&ctid=CT2431232>, consultada agosto de 2010.
- Productores de hortalizas, 2002, Producción de Jitomate en México, Meister Media, D.F., México.
- Raffo A., Leonardi C., Fogliano V., Ambrosino P., Salucci M., Gennaro L., Burgianesi R., Quaglia G., 2002, Nutritional value of Cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* C.v. Naomi F1) harvested at different ripening stages, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50: 6550-6556.
- Raffo A., La Malfa G., Fogliano V., Maiani G., Quaglia G., 2006, Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1), *Journal Food Composition and Analysis*. 19: 11-19.
- Ramandeep, K. T., Geoffrey P. S., 2005, Antioxidant activity in different fraction of tomatoes, *Food Research International*. 38:487-494.
- Rash M., Andersern J. B., Nielsen F. K., Ravn F. L., Christensen H., Givskov M., Gram L., 2005, Involvement of Bacterial Quorum Sensing Signals in Spoilage of Bean Sprouts, *Applied Environmental Microbiology*. 71: 3321–3330.
- Rathinasabapathi B., 2004, Survival of *Salmonella* Montevideo on tomato leaves and mature green tomatoes, *Journal of Food Protection*. 67: 2277–2279.
- Ravn L., Christensen A. B., Molin S., Givskov M., Gram L., 2001, Methods for detecting acylated homoserine lactones produced by Gram-negative bacteria and

- their application in studies of AHL-production kinetics, *Journal of Microbiological Methods*. 44: 239-251.
- Riso P., Visioli F., Erba D., Testolin G., Porrini M., 2004, Lycopene and vitamin C concentrations increase in plasma and lymphocytes after tomato intake. Effects on cellular antioxidant protection, *European Journal of Clinical Nutrition*. 58: 1350-1358.
- Rodríguez D. N., Cano R. P., Figueroa V. U., Palomo G. A., Favela C., Álvarez R. V. P., Márquez H. C., Moreno R. A., 2008, Producción de tomate en invernadero con humus de lombriz como sustrato. *Revista Fitotecnia Mexicana*. 31: 265-272.
- Rolle R. S., Chism G., 1987, Physiological consequences of minimally processed fruits and vegetables, *Journal of Food Quality*. 10: 157-177.
- Romero F., Martínez M., 2007, Factores pre cosecha determinantes de la calidad y conservación en pos cosecha de productos agrarios, <http://www.horticom.com/pd/imagenes/65/906/65906.pdf>, consultada junio de 2010.
- Sadler G., Davis J., Dezman D., 1990, Rapid Extraction of Lycopene and β -carotene from reconstituted Tomato Paste and Pink Grape-fruit Homogenates, *Journal of Food Science*. 55: 1460-1461.
- SAGARPA, 2008 Inventarios de Invernaderos Estado de Puebla. <http://www.oeidrus-puebla.gob.mx/RID.pdf>, consultada enero de 2010.
- SAGARPA, 2010, Resumen Nacional de Producción Agrícola, http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=258, consultada agosto de 2010.
- Salazar S. I., 2008, Elección de variedades para invernadero: *In: Jitomate Tecnología para su producción en invernadero*, Colegio de Postgraduados, México, pp: 95-113.
- Samaniego G. J. A., Chew M. Y., 2007, Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferente condición agrícola en la laguna, México, *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 78: 383-390.
- Sandoval V. M., 2008, Cultivo de Jitomate en invernadero en México, con énfasis en nutrición: *In: Jitomate Tecnología para su producción en invernadero*, Colegio de Postgraduados, México, pp: 11-33.
- Schnitzler W. H., Gruda N., 2003, Quality issues of greenhouse production, *Acta Horticulturae*. 614:663-674.
- Schuhegger R., Gantner V., Bahnweg G., Knappe C., Vogg G., Hutzler P., Schmid M., Eberl L., Hartmann A., Langebartels C., 2006, Induction of systemic resistance in tomato by *N*-acyl-L-homoserine lactone-producing rhizosphere bacteria, *Plant Cell and Environment*. 29:909-918.

- Scott R. A., Weil J., Le P. T., Williams P., Fray R. G., Bodman S. B., Savka M. A., 2006, Long- and Short-Chain Plant-Produced Bacterial *N*-Acyl-Homoserine Lactones Become Components of Phyllosphere, Rhizosphere, and Soil, *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 19:227-239.
- Sela S., Fallik E., 2009, Microbial Quality and Safety of Fresh Produce *In: Postharvest Handling*, Florkowski W., Prussia S., Shewfelt R., Brueckner B., (ed), Elsevier Academic Press, Amsterdam, Boston, London, pp: 351-398.
- Selma M. V., Fernández P. S., Valero M., 2003, Control of *Enterobacter aerogenes* by high-intensity, pulsed electric fields in horchata a Spanish low acid vegetable, *Food Microbiology*. 20: 105-110.
- Shannon C. E., Weaver W., 1949, *The Mathematical Theory of Communication*, University Illinois Press, Urbana IL, USA.
- Shewfelt R., Thai C., Davis J., 1988, Prediction of changes in color tomatoes during ripening at different constant temperatures, *Journal of Food Science*. 53:1433-1437.
- Shi J., Marc Le M., 2000, Lycopene in Tomatoes: Chemical and Physical Properties Affected by Food Processing, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 40:1-42.
- Shi X., Wu Z., Namvar A, Kostrzynska M., Dunfield K., Warriner K., 2009, Microbial population profiles of the microflora associated with pre- and postharvest tomatoes contaminated with *Salmonella typhimurium* or *Salmonella* Montevideo, *Applied Environmental Microbiology*. 107: 329–338.
- Sima R., M., Măniuțiu D. N., Cenariu D., Lazăr V., Sima N. F., 2010, The impact of culture system and fertilization type on yield and fruit quality of greenhouse tomatoes, *Journal of the Bioflux Society*. 2:49-54.
- Simkin A. J., 2007, Fibrillin influence on plastid ultrastructure and pigment content in tomato fruit, *Phytochemistry*. 68:1545-1556.
- Smith J. L., Fratamico P. M., Novak J. S., 2004, Quorum sensing: A Primer for food Microbiologists, *Journal of Food Protection*. 67:1053-1070.
- Smith J. L., Fratamico P. M., 2005, Diarrhea-inducing *Escherichia coli*, *In: Food borne pathogens-microbiology and molecular biology*. Fratamico PM, Bhunia AK, Smith JL, (ed), Caister Academic Press, Norfolk, U.K, pp: 357–382.
- Solomon E., B., Yaron S., Matthews K. R., 2002, Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization, *Applied and Environmental Microbiology*. 68:397-400.

- Solomon E. B., Niemira B. A., Sapers G. M., Annous B. A., 2005, Biofilm formation, cellulose production, and curli biosynthesis by *Salmonella* originating from produce, animal and clinical sources, *Journal of Food Protection*. 68: 906–912.
- Solovchenko A. E., Chivkunova O. B., Merzlyak M. N., Gudkovsky V. A., 2005, Relationships between chlorophyll and carotenoid pigments during on- and off-tree ripening of apple fruit as revealed non-destructively with reflectance spectroscopy, *Postharvest Biology and Technology*. 38: 9-17.
- Steward A. J., Bozonnet S., Mullen W., Jenkins G. I., 2000, Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 2663-2669.
- Sundin G. W., Kidambi S. P., Ullrich M., Bender C. L., 1996, Resistance to ultraviolet light in *Pseudomonas syringae*: sequence and functional analysis of the plasmid-encoded *ruAB* genes. *Gene*.177:77-81.
- Sundin G. W., Jacobs J. L., 1999, Ultraviolet radiation (UVR) sensitivity analysis and UVR survival strategies of a bacterial community from the phyllosphere of field grown peanut (*Arachis hypogaea* L.), *Microbiology Ecology*. 38:27-38.
- Suslow T., 2002, Production practices affecting the potential for persistent contamination of plants by microbial food borne pathogens, Ed: *Phyllosphere microbiology*. APS Press, St. Paul USA, pp:241–256.
- Takahama U., 1985, Inhibition of lipoxygenase-dependent lipid peroxidation by quercetin: Mechanism of antioxidative function, *Phytochemistry*. 24:1443-1446.
- Takahashi Y., Takahashi K., Sato M., Watanabe K., Kawano T., 1997, Bacterial Leaf Rot of Odontioda Orchids Caused by *Enterobacter cloacae*, *Annals of the Phytopathological Society of Japan*. 63:164-169.
- Tauxe R., Kruse H., Hedberg C., Potter M., Madden J., Wachsmuth K., 1997, Microbial hazards and emerging issues associated with produce. A preliminary report to the national advisory committee on microbiological criteria for foods, *Journal of Food Protection*. 60:1400-1408.
- Teplitski M., Robinson J. B., Bauer W. D., 2000, Plants secret substances that mimic bacterial N-acyl homoserine lactone signal activities and affect population density-dependent behaviours in associated bacteria, *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 13:637-648.
- Thompson K. A., Marshall M. R., Sims C. A., Wei C. I., Sargent S. A., Scott J. W., 2000, Cultivar, Maturity, and Heat Treatment on Lycopene Content in Tomatoes, *Journal of Food Science*. 65:791-795.
- Thompson L. J., Gray V., D., Holy L. A., 2006, Carbon: nitrogen: phosphorus ratios influence biofilm formation by *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii*, *Journal of Applied Microbiology*. 101: 1105–1113.

- Toor R. K., Savage G. P., 2005, Antioxidant activity in different fractions of tomatoes, *Food Research International*. 38: 487–494.
- Torres A. G., Jeter C., Langley W., Matthysse A. G., 2005, Differential Binding of *Escherichia coli* O157:H7 to Alfafa, Human Epithelial Cells, and Plastic is mediated by a Variety of Surface Structures, *Applied and Environmental Microbiology*.71:8808-88015.
- Torres T., A., 2009, Intestinal Pathogenic *Escherichia coli*, *In: vaccines for biodefense and emerging and neglected diseases*, Barret T. A. D., Stanberry L. R., (ed), Elsevier, California, USA, pp:1013-1028.
- Tschape H., Prager R., Streckel W., Fruth, A., Tietze E., Bohme G., 1995, Verotoxinogenic *Citrobacter freundii* associated with severe gastroenteritis and cases of hemolytic uremic syndrome in a nursery school: green butter as the infection source. *Epidemiology and Infection*.114: 441–450.
- Tucker G., Robertson N., Grierson D., 1980, Changes in polygalacturonase isoenzymes during the ripening of normal and mutant tomato fruit, *European Journal of Biochemistry*. 112:119-124.
- Turrent F. A., Laird R. J., Cortés F. J. I., Volke H. V., 2005, Un Reencuentro con la Productividad de Agrosistemas: Fundamentos y Herramientas, *Revista Agrociencias*. 39:29-39.
- Ucan I. C., Sánchez C. F., Contreras M. E., Corona S. T., 2005, Efecto de la densidad de población y raleo de frutos sobre el rendimiento y tamaño del fruto en tomate, *Revista Fitotecnia Mexicana*. 28: 33-38.
- Uroz S., D'Angelo-Picard C., Carlier A., Elasri M., Sicot C., Petit A., Oger P., Faure D., 2003, Dessaux Y: Novel bacteria degrading N-acylhomoserine lactones and their use as quenchers of quorum-sensing-regulated functions of plant-pathogenic bacteria, *The Journal of Microbiology*.149:1981-1989.
- USDA, 1991, United States Standards for Grades of Fresh Tomatoes. Disponible en <http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/standards>, consultada enero de 2011.
- Valero U. C., Ruiz A. M., 2002, Técnicas de medida de la calidad de frutas Ensayos estándar para la medida de firmeza, azúcares, ácidos y color, junto con un ejemplo de valores obtenidos en distintas muestras de mercado de manzana, melocotón, kiwi, melón y tomate, *Revista Vida Rural*. 1: 1-8.
- Vance R. E., Zhu J., Mekalanos J. J., 2003, A constitutively active variant of the quorum-sensing regulator LuxO affects protease production and biofilm formation in *Vibrio cholera*, *Infection and Immunity*. 71: 2571–2576.
- Van Houdt R., Aertsen A., Moons P., Vanoirbeek K., Michiels C. W., 2006, N-acyl-L-homoserine lactone signal interception by *Escherichia coli*, *FEMS Microbiology Letters*. 256: 83-89.

- Van Houdt R., Aertsen A., Jansen A., Quintana A. L., Michiels C.W., 2004, Biofilm formation and cell-to-cell signalling in Gram-negative bacteria isolated from a food processing environment, *Journal of Applied Microbiology*. 96: 177–184.
- Voutilainen S., Nurmi T., Mursu J., Rissanen T. H., 2006, Carotenoids and cardiovascular health, *American Journal of Clinical Nutrition*. 83:1265-1271.
- Wang H., Cao G., Prior R. L., 1996, Total Antioxidant Capacity of Fruits, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44: 701-705.
- Wang H., Cai T., Weng M., Zhou J., Cao H., Zhong Z., Zhu J., 2006, Conditional production of acyl-homoserine lactone-type quorum-sensing signals in clinical isolates of enterobacterias, *Journal of Medical Microbiology*. 55: 1751-1753.
- Warriner K. F., Ibrahim M., Dickinson C., Wright W. M., 2003, Internalization of human pathogens within growing salad vegetables, *Biotechnology Genetic Engineering Reviews*. 20:117–134.
- Waters C. M., Bassler B. L., 2005, Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria, *Annual Review of Cell Developmental Biology*. 21:319–346.
- Webb R. B., 1976, Lethal and mutagenic effects of near-ultraviolet radiation, *In: Smith K. C., (ed), Photochemical and Photobiological Reviews*. New York USA. pp:169-261.
- Weibel F. P., Bickel R., Leuthold S., Alföldi T., 2000, Are organically grown apples tastier and healthier? A comparative field study using conventional and alternative methods to measure fruit quality, *Acta Horticulturae*. 517: 417-426.
- Weisburger J. H., 1999, Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables tomatoes and tea, *Food and Chemical Toxicology*. 37: 943–948.
- Willcox J. K., Catignani G. L., Lazarus S., 2003, Tomatoes and cardiovascular health, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 43:1-8.
- Winans C. S., 2002, Bacterial Esperanto, *Nature Structural Biology*. 9:83-84.
- Winfield M. D., Groisman E. A., 2003, Role of Nonhost Environments in the Lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*, *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 3687-3694.
- Wold B. A. H., Rosenfeld J., Holte K., Baugerød H., Rune B., Haffne K., 2004, Colour of post-harvest ripened and vine ripened tomatoes (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as related to total antioxidant capacity and chemical composition, *International Journal of Food Science and Technology*. 39: 295–302
- Yanishlieva M. N.V., 2001, Inhibición de la oxidación: *In: Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas*, Acribia, Zaragoza, España, pp:23-68.
- Yilmaz E., Tandon K. S., Scott J. W., Baldwin E. A., Shewfelt R. L., 2001, Absence of a clear relationship between lipid pathway enzymes and volatile compounds in fresh tomatoes, *Journal of Plant Physiology*. 158: 1111–1116.

- Yuan X., Xu Chai J. H., Lin H., Yang Y., Woand X., Shi J., 2010, Differences of rhizobacterial diversity and the content of peimine and peiminine of *Fritillaria thunbergii* among different habits, *Journal of Medicinal Plants Research*. 4: 465-470.
- Zambrano J., Moyeja J., Pacheco L., 1995, Efecto del estado de madurez en la composición y calidad de frutos de tomate, *Revista Agronomía Tropical*. 46:61-72.
- Zhang L., Dong Y., 2004, Quorum sensing and signal interference: diverse implications, *Molecular Microbiology*. 53:1563-1571.
- Zogaj X., Bokranz W., Nimtz M., Romling U., 2003, Production of cellulose and curli fimbriae by members of the family *Enterobacteriaceae* isolated from the human gastrointestinal tract, *Infection Immunity*. 71:4151-4158.

XV. ANEXOS

ANEXO A



Figura 15.1A Instrumentos utilizados durante la Segunda Fase del Diagnóstico con la finalidad de identificar y seleccionar los sistemas de cultivo. A) Encuestas y entrevistas con productores, B) recorridos de campo en invernaderos, C) y D) Talleres participativos.

ANEXO B

TALLER PARTICIPATIVO

TÉCNICA: LLUVIAS DE IDEAS

Objetivo: Identificar los principales problemas de los sistemas de producción en hidroponía y fertirrigación de jitomate, cultivado en el Municipio Aquixtla.

Durante los Talleres Participativos se estableció el diálogo con los productores y se expusieron las problemáticas y su relación con los componentes de los sistemas de producción, considerando el siguiente cuadro:

Cuadro 15.1 A. Relación de problemáticas y componentes de los sistemas de producción de jitomate en los invernaderos, del Municipio de Aquixtla.

Sistema de Producción	Componentes	Problemáticas
Hidroponía	Variedad de mayor demanda Sustrato Plántula Solución Nutritiva Temporadas de siembra y cosecha	
Fertirrigación	Asesoramiento Características del Suelo Tipo y frecuencia de riego Aplicación de fertilizantes (orgánicos e inorgánicos) Rendimiento	

Así mismo se expusieron los siguientes aspectos como factores limitantes de la producción por sistema:

- Presencia de plagas y enfermedades
- Maleza
- Falta de variedades
- Rendimiento
- Condiciones de almacenamiento
- Comercialización

ANEXO III

CUESTIONARIO APLICADO A PRODUCTORES DE JITOMATE EN INVERNADERO DEL MUNICIPIO DE AQUIXTLA

Objetivo: Identificar los sistemas de producción utilizados por los agricultores de jitomate en invernadero del municipio de Aquixtla, Puebla.

Nombre: _____

Comunidad: _____

Edad: _____ Fecha: _____

I.- COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN

1.- ¿Cuántos invernaderos tiene? _____

2.- ¿Cuál es la superficie de cada uno ellos?

a) _____

b) _____

c) _____

3.- ¿Cuántas personas laboran en cada invernadero? _____

Mujeres: _____

Hombres: _____

4.- ¿Cuál es la superficie total cultivada que usted tiene? _____

II.- MANEJO DE CULTIVOS:

1.- ¿En sus invernaderos qué tipo de tecnología de producción agrícola utiliza?

a) Hidroponía _____

b) Suelo _____

c) Ambos _____

d) Otro (especifique) _____

2.- ¿En caso de utilizar ambos tipos en qué porcentaje utiliza hidroponía y en qué porcentaje utiliza suelo?

a) Hidroponía _____

b) Suelo _____

3.- ¿Cuáles son las razones por las que prefiere cultivar en hidroponía? (Seleccione una o más respuestas)

a) Mayor rendimiento

b) Menos enfermedades y plagas

c) Mejor precio de compra

d) Menores costos en el manejo de producción

e) Mayor calidad del fruto

3.1- ¿Cuáles son las razones por las que prefiere cultivar en suelo? (Seleccione una o más respuestas)

- a) Mayor rendimiento
- b) Menos enfermedades y plagas
- c) Mejor precio de compra
- d) Menores costos en el manejo de producción
- e) Mayor calidad del fruto

4.- ¿Cuánto tiempo lleva cultivando con ese tipo de sistema?

a) Hidroponía _____

b) Suelo _____

5.- ¿Cual otro tipo de tecnología de producción ha utilizado? _____

6.- ¿Utiliza trasplante o semilla? _____

7.- ¿De dónde proviene la semilla que utiliza? _____

8.- ¿Trata la plántula con alguna sustancia antes del trasplante? Si () No ()

9.- ¿Qué tipo de sustancia utiliza? _____

10.- ¿Cuales son las temporadas de siembra durante el año? _____

11.- ¿Cuales son los principales tipo de fruto que cultiva?

Bola _____

Saladette _____

12.- ¿Cuál es el sistema de riego que utiliza? _____

12.1 ¿Cada cuanto riega? _____

13.- ¿Cuál es la distancia entre plántula en el invernadero? _____

14.- ¿Utiliza abono orgánico? Si () No ()

15.- ¿Qué tipo de abono utiliza?

Bovino () Equino () Lombricomposta ()

Otros _____

16.- ¿Fertiliza sus cultivos? Si () No ()

17.- ¿Qué tipo de fertilizante utiliza? _____

17.1.-¿Cuál es la fórmula de fertilización que aplica? _____

18.- ¿En qué época de año se aplica el fertilizante? _____

19.- ¿Presenta plagas su cultivo? Si () No ()

20.-¿Qué tipo de plaga es la más frecuente? _____

21.- ¿Qué tipo de plaguicida utiliza? _____

- 22.-¿En qué etapa del cultivo se presenta la plaga?_____
- 23.-¿ Presenta algún tipo de enfermedad su cultivo? Si () No ()
- 24.- ¿Qué tipo de producto utiliza para combatir las enfermedades?_____
- 25.- ¿Tiene problemas de maleza? Si () No ()
- 26.- ¿Cómo controla la maleza? _____
- 27.- ¿Cuál es la temporada de cosecha?_____
- 28.- ¿Cuál es el rendimiento aproximado de sus cosechas (Kg/has) para cada uno de sus invernaderos?
- a)_____
- b)_____
- c)_____
- 29.- ¿Cuál es la época del año de mayor producción?_____
- 30.- ¿Cuántos cortes realiza?_____
- 31.- ¿Cuáles son los requisitos que toma en cuenta para la cosecha de los frutos?
- a) Tamaño del fruto b) Coloración c) Grado de madurez d) Otro
- (Especifique)_____
- 32.- ¿Estos requisitos varían de acuerdo a las exigencias del mercado? SI () No ()
- Condiciones:_____
- 33.-¿Controla las condiciones ambientales (Temperatura, Humedad) de sus cultivos?
- Si () No ()
- 34.-¿Cómo controla las condiciones ambientales?
- a) Ventilación Manual b) Ventiladores c) Aire acondicionado d) Calefacción
- 35.- ¿Registra sus condiciones ambientales? Si () No ()
- 36.- ¿Cada cuando registra sus condiciones ambientales?
- Registro de T: Mensual() Semanal () Diario () Continuamente ()
- Registro de H: Mensual() Semanal () Diario () Continuamente ()
- 37.- ¿Como almacena la cosecha?_____
- 38.- ¿Controla las condiciones de almacenamiento?_____
- 39.-¿Tiene problemas de plagas durante el almacenamiento?_____
- 40.-¿ Tiene problemas de enfermedades durante el almacenamiento?_____
- 41.- ¿Como combate las enfermedades y plagas durante el almacenamiento?

III.- COMERCIALIZACIÓN:

1.- ¿Cuánto de su producción se destina para autoconsumo y venta?

2.- ¿Cuál es el precio de venta del jitomate?

Variedad 1: _____ Precio _____

Variedad 2: _____ Precio _____

Variedad 3: _____ Precio _____

3.- ¿A quién se lo vende? _____

4.- ¿Qué ventajas tiene su producto con los de otros productores? _____

IV.- ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE INSUMOS Y FRUTO

1.- ¿Le han realizado algún tipo de análisis al agua utilizada para riego? Si () No ()

2.- ¿Qué tipo de análisis le han realizado? _____

3.- ¿Le han realizado algún tipo de análisis al suelo? Si () No ()

4.- ¿Qué tipo de análisis le han realizado? _____

5.- ¿Le han realizado algún tipo de análisis al jitomate? Si () No ()

6.- ¿Qué tipo de análisis le han realizado?

a) Microbiológicos

b) Contenido Nutricional

¡Muchísimas gracias por su información!