



**UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE CATALUNYA
BARCELONATECH**

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

INFLUENCIA DE LA POBLACIÓN DE NEMATODOS EN LA COMPOSICIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN MELÓN CANTALOUP Y TOMATE DURINTA

Trabajo final de grado
Ingeniería Alimentaria

Autor: Constanza Guiñazú Fernández

Tutor: Montserrat Pujolà Cunill

María Isabel Achaerandio Puente

11/ diciembre/ 2018

Escola Superior d'Agricultura de Barcelona
UPC - BarcelonaTech



RESUMEN

En los últimos años los componentes bioactivos han ganado importancia en la valoración de la calidad de frutas y hortalizas debido a los estudios que han demostrado su beneficio en la salud humana. Patógenos como *Meloidogyne incognita*, pueden alterar su contenido y afectar a la producción. Para mitigar su efecto se emplean alternativas a los nematocidas como el injerto.

Este trabajo conforma el tercer y último año del proyecto AGL2013-49040-C2-1-R "Efecto de la resistencia de genes R y la inducida por hongos endófitos en la epidemiología de *Meloidogyne* y la producción y calidad de la cosecha en solanaceas-cucurbitaceas." el cual tiene como objetivo estudiar el efecto de la densidad de población del nematodo justo antes de transplantar el cultivo, la utilización del injerto y la combinación de ambos en el contenido de compuesto bioactivos (ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenoides) y la capacidad antioxidante del melón (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis*, cultivar Paloma) y del tomate (*Solanum lycopersicum* var. Durinta).

Los resultados obtenidos indican que, en el melón, el aumento de la población inicial de nematodos en el suelo incrementó significativamente ($p < 0,05$) el contenido de ácido ascórbico y de β -caroteno, independiente de si la planta estaba injertada o no, provocando a la vez, un descenso de la capacidad antioxidante de la fase lipídica (capacidad antioxidante de los carotenoides) y mayor capacidad antioxidante de la fase acuosa (capacidad antioxidante del ácido ascórbico y de los compuestos fenólicos) en los melones sin injertar. En el caso del tomate este incremento significativo ($p < 0,05$) se detectó solamente en los tomates injertados y en su capacidad antioxidante de la fase acuosa. Por otra parte, el incremento del índice de agallas en las raíces provocó un descenso significativo ($p < 0,05$) en la capacidad antioxidante en la fase acuosa en melones injertados y en la capacidad antioxidante en la fase lipídica de los tomates de plantas no injertadas. En conclusión, los cambios provocados por un incremento de la población de *Meloidogyne incognita*, no comportan cambios importantes en la composición de los compuestos bioactivos estudiados de ambas especies, pero, en el caso del melón, cabe destacar que un aumento de la infección provoca un descenso significativo de la capacidad antioxidante de la fase acuosa.

Palabras clave: agallamiento, injerto, ácido ascórbico, fenoles totales, β -caroteno, licopeno, capacidad antioxidante, CUPRAC, ORAC, ABTS⁺.



RESUM

En els últims anys els components bioactius han guanyat importància en la valoració de la qualitat de fruites i hortalisses a causa dels estudis que han demostrat el seu benefici en la salut humana. Patògens com *Meloidogyne incognita*, poden alterar el seu contingut i afectar a la producció. Per mitigar el seu efecte s'empren alternatives als nematocides com l'empelt.

Aquest treball conforma el tercer i últim any del projecte AGL2013-49040-C2-1-R "Efecte de la resistència de gens R i la induïda per fongs endòfits en l'epidemiologia de *Meloidogyne* i la producció i qualitat de la collita en solanàcies-cucurbitàcies." el qual té com a objectiu estudiar l'efecte densitat de poblacions del nematode just abans de trasplantar el cultiu, la utilització de l'empelt i la combinació de tots dos en el contingut de compost bioactius (àcid ascòrbic, compostos fenòlics i carotenoides) i la capacitat antioxidant del meló (*Cucumis Melo var. Cantalupensis*, conrear Coloma) i del tomàquet (*Solanum lycopersicum var. Durinta*).

Els resultats obtinguts indiquen que, en el meló, l'augment de la població inicial de nematodes va incrementar significativament ($p < 0,05$) el contingut d'àcid ascòrbic i de β -carotè, independent de si es troba empeltat o no, provocant alhora, un descens de la capacitat antioxidant de la fase lipídica (capacitat antioxidant dels carotenoides) i major capacitat antioxidant de la fase aquosa (capacitat antioxidant del àcid ascòrbic i dels compostos fenòlics) en els melons sense empeltar. En el cas del tomàquet es va detectar aquest increment significatiu ($p < 0,05$) solament en els tomàquets de plantes empeltades i en la seva capacitat antioxidant de la fase aquosa. D'altra banda, l'increment de l'agallament en les arrels va provocar un descens significatiu ($p < 0,05$) en la capacitat antioxidant en la fase aquosa en melons empeltats i en la capacitat antioxidant en la fase lipídica dels tomàquets no empeltats. En conclusió, els canvis provocats per un increment de la població de *Meloidogyne incognita*, no comporten canvis importants en la composició dels compostos bioactius estudiats d'ambdues espècies, però, en el cas del meló, cal destacar que un augment de la infecció provoca un descens significatiu de la capacitat antioxidant de la fase aquosa.

Paraules clau: agallament, empelt, àcid ascòrbic, fenols totals, β -carotè, licopè, capacitat antioxidant, CUPRAC, ORAC, ABTS⁺.

ABSTRACT

In recent years, bioactive compounds have gained importance in the assessment of the quality of fruit and vegetables due to studies that have demonstrated their benefit on human health. Pathogens such as *Meloidogyne incognita*, can change their content and the production rate. Alternatives to nematicides such as grafting are used to mitigate their effect.

This work is the third and last year of the AGL2013-49040-C2-1-R project "Effect of the resistance of R genes and the induced by endophytes fungi in the epidemiology of *Meloidogyne* and the production and quality of the harvest in solanaceas-cucurbitaceas." The aim of this project is to study the effect of nematode population density just before transplanting the crop, the use of graft and the combination of both in the content of bioactive compounds (ascorbic acid, phenolic compounds and carotenoids) and the antioxidant capacity of melon (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis*, cultivar Paloma) and tomato (*Solanum lycopersicum* var. *Durinta*).

The results obtained indicate that, in melon, the increase in the initial population of nematodes significantly increased ($p < 0.05$) the content of ascorbic acid and β -carotene, regardless of whether it is grafted or not, causing at the same time, a decrease in the antioxidant capacity of the lipid phase (antioxidant capacity of carotenoids) and greater antioxidant capacity of the aqueous phase (antioxidant capacity of ascorbic acid and phenolic compounds) in ungrafted melons. In the case of tomatoes, this significant increase ($p < 0.05$) was detected only in grafted tomatoes and in their antioxidant capacity of the aqueous phase. On the other hand, the increase in the galling caused a significant decrease ($p < 0.05$) in the antioxidant capacity in the aqueous phase in grafted melons and in the antioxidant capacity in the lipid phase of the non-grafted tomatoes. In conclusion, the changes caused by an increase in the population of *Meloidogyne incognita* do not entail important changes in the composition of the bioactive compounds studied in both species, but, in the case of melon, it should be noted that an increase in infection causes a significant decrease in the antioxidant capacity of the aqueous phase.

Key words: galling, grafting, ascorbic acid, total phenols and, β -carotene, lycopene, antioxidant capacity, CUPRAC, ORAC, ABTS⁺.



CONTENIDO

RESUMEN	2
RESUM	3
ABSTRACT	4
AGRADECIMIENTOS	10
1. INTRODUCCIÓN	11
1.1. El melón y tomate.....	15
1.2. Factores que influyen en la concentración de bioactivos en los alimentos	16
1.2.1. Fertilización	17
1.2.2. Condiciones climáticas	18
1.3. Nematodos <i>Meloidogyne incognita</i>	18
1.4. El uso de los injertos	20
1.5. Efectos de los nematodos y el injerto sobre los componentes bioactivos.....	21
2. OBJETIVOS	23
3. MATERIAL Y METODOS	24
3.1. Material vegetal.....	24
3.1.1. Melón.....	24
3.1.2. Tomate.....	24
3.2. Diseño experimental.....	24
3.3. Métodos analíticos.....	26
3.3.1. Determinación del Ácido Ascórbico	27
3.3.2. Determinación de los compuestos fenólicos	28
3.3.3. Determinación de los carotenos	30
3.3.4. Determinación de la capacidad antioxidante.....	32
3.4. Metodos Estadísticos	40
4. RESULTADOS	41
4.1. Efecto de los nematodos e injertos en los compuestos bioactivos del melón.....	41
4.1.1. Población inicial.....	42

4.1.2. Índice de agallas	45
4.1.3. Relación entre parámetros.....	46
4.1.4. Uso del injerto en el melón	47
4.1.5. Comparación con los años anteriores	47
4.2. Efecto de los nematodos e injerto en los componentes bioactivos en tomate	49
4.2.1. Población inicial.....	49
4.2.2. Índice de agallas	50
4.2.3. Relación entre parámetros.....	51
4.2.4. Uso del injerto en el tomate.....	52
4.2.5. Comparación con los años anteriores	52
5. CONCLUSIONES	53
6. BIBLIOGRAFIA	54



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Antioxidantes y su fuente de ingesta _____	11
Tabla 2 Composición nutricional de las diferentes variedades de melón _____	15
Tabla 3 Composición nutricional de las diferentes variedades de tomate _____	16
Tabla 4 Contenido de compuestos bioactivos según la maduración del tomate _____	16
Tabla 5 Resumen de las conclusiones de trabajos anteriores _____	22
Tabla 6 Coeficientes de absorción según caroteno y disolvente _____	32
Tabla 7 Correlaciones entre factor nematodo y parámetros estudiados del melón _____	41
Tabla 9 Resumen de los resultados del melón de todo el proyecto _____	48
Tabla 10 Correlaciones entre factor nematodo y parámetros estudiados del tomate _____	49
Tabla 11 Resumen de los resultados del tomate de todo el proyecto _____	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ácido ascórbico _____	12
Figura 2 Oxidación del ácido ascórbico _____	12
Figura 3 Clasificación compuestos fenólicos _____	13
Figura 4 Clasificación de carotenoides _____	14
Figura 5 β -caroteno _____	14
Figura 6 Cambio de color del tomate según su maduración _____	17
Figura 7 Esquema de nematodo en diferentes estados _____	18
Figura 8 Ciclo de la vida del nematodo _____	19
Figura 9 Esquema de la parcela _____	25
Figura 10 Esquema de Zeck (1971) para estimar el daño por <i>Meloidogyne</i> _____	26
Figura 11 Análisis realizados en el experimento 2017 _____	27
Figura 12 Determinación de los compuestos fenólicos mediante la colorimetría Folin-Ciocalteu _____	29
Figura 13 Recta de calibración ácido gálico _____	30
Figura 14 Filtrado al vacío _____	30
Figura 15 Decantado y separación de los carotenos _____	31
Figura 16 Extracto de carotenos _____	31
Figura 17 Distribución método CUPRAC _____	33
Figura 18 Determinación de la capacidad antioxidante por el método CUPRAC _____	34
Figura 19 Curva de absorbancias de diferentes concentraciones de TROLOX _____	35
Figura 20 Recta de calibración del método CUPRAC _____	35
Figura 21 Distribución método ABTS ⁺ _____	36
Figura 22 Determinación de la capacidad antioxidante por el método ABTS _____	37
Figura 23 Recta de calibración para el método ABTS _____	38
Figura 24 Distribución microplaca método ORAC _____	39
Figura 25 Recta de calibración del método ORAC _____	39
Figura 26 Población inicial vs. ácido ascórbico en el melón _____	42
Figura 27 Contenido de carotenos vs. Población inicial en melón _____	43
Figura 28 Capacidad antioxidante (CUPRAC) vs. población inicial en melón _____	44



Figura 29 Capacidad antioxidante (ABTS ⁺) vs. población inicial en melón _____	44
Figura 30 Contenido de carotenos vs. índice de agallas en melón _____	45
Figura 31 Capacidad antioxidante (CUPRAC) vs. índice de agallas en melón _____	46
Figura 32 Capacidad antioxidante (cuprac) vs. población inicial en tomate _____	50
Figura 33 capacidad antioxidante (ABTS ⁺) vs. índice de agallas en tomate _____	51

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecer a mis tutoras Montserrat Pujolà Cunill y María Isabel Achaerandio Puente por darme la oportunidad de realizar este trabajo y guiarme en todo el camino. También quiero agradecer a las técnicas del laboratorio por ayudarme y asesorarme.

Gracias a todos mis amigos y compañeros por animarme, sobre todo a Gianna Molina y Mónica Montaña por compartir todos esos momentos en el laboratorio llenos de risas y lágrimas, y a Sara Estévez por acompañarme en todos estos años de la carrera.

Por último y más importante, gracias a mi familia por todo su apoyo y amor durante todo el transcurso del trabajo.



1. INTRODUCCIÓN

Los compuestos bioactivos son componentes esenciales y no esenciales que se encuentran en la naturaleza formando parte de la cadena alimentaria, y que han demostrado tener un efecto beneficioso sobre la salud humana (Biesalski et al., 2009).

La dieta humana puede contener entre 60.000 y 100.000 componentes bioactivos diferentes, la mayoría de ellos localizados en alimentos de origen vegetal. En algunas ocasiones pueden encontrarse concretamente en un pequeño grupo de alimentos e incluso en una sola familia.

Los componentes más extensamente estudiados son los antioxidantes ya que una mayor ingesta puede disminuir el riesgo de enfermedades crónicas incluyendo el cáncer y enfermedades cardiovasculares (Biesalski et al., 2009). En nuestra dieta existen varios tipos de antioxidantes como podemos observar en la **Tabla 1**.

TABLA 1 ANTIOXIDANTES Y SU FUENTE DE INGESTA

Clase	Compuesto	Fuente dietética
Vitaminas		
	Vitamina C	Manzana, plátano, brócoli, ajo, pera, tomate, melón, fresa, menta, cítricos.
	Vitamina E	Té verde, olivas y aceite de oliva, aceite de palma, semillas de calabaza, semillas y aceite de girasol.
Carotenoides		
	β -Caroteno	Verduras de hoja verde oscura, melón, aceite de oliva, zanahorias, boniato, zanahoria, mango, melocotón, fruta de la pasión, ciruela, tomate.
	Licopeno	Albaricoques, pomelos, guayabas, sandías, papayas, zanahorias, tomates, pimiento rojo, pomelo rosado.
	Xantofilas	Espinacas, kale, zanahorias, acelgas, lechuga, apio), naranjas, patatas, tomates, pimientos rojos, maíz, aguacate, melón.
Compuestos fenólicos		
Ácidos simples		
	Ácido Gálico	Cítricos, aceitunas, aceite de oliva virgen, avena, soja, frutos secos, vino, cerveza, té, jengibre seco, cereales, granos verdes
	Ácido Cafeico	de café, hinojo, mostaza, zumo de naranja, pimienta de Sichuan, especias (tomillo, salvia, romero, orégano, albahaca).
	Compuestos Flavonoides	Granos, miel, hojas de <i>Stevia rebaudiana</i> , cebollas, puerros, lechuga, brécol, tomates, uvas, naranjas (pulpa), manzanas, cerezas, moras, frambuesas, arándanos, aceitunas, vino tinto, té, orégano y otras hierbas aromáticas.
Compuestos Poliméricos		
	Ligninas	Soja y derivados, otras legumbres, cereales integrales, frutos secos, frutos del bosque, brécol, ajo, zanahorias.
	Taninos	Semillas de frijol y canola, granos de café verde, vino, mango, granadas, fresas, nueces, whisky.

Fuente: (Oroian y Escriche, 2015)

ÁCIDO ASCÓRBICO O VITAMINA C

El ácido ascórbico es una molécula hidrosoluble esencial (**Figura 1**) para la biosíntesis de moléculas y sustancias que inhiben la peroxidación de los fosfolípidos de la membrana y actúan en el proceso de desintoxicación de radicales libres (Bastías M y Cepero B, 2016).

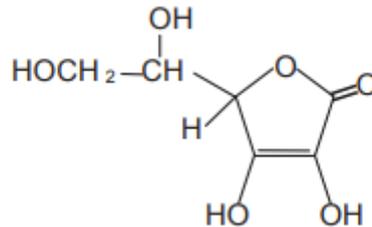


FIGURA 1 ÁCIDO ASCÓRBICO
Fuente : (García, 2014)

La molécula es capaz de ceder hidrógenos y oxidarse a L-dehidroascorbato reversiblemente en el organismo, pero al oxidarse a ácido 2,3 dicetogulónico es incapaz de invertir la oxidación (**Figura 2**) (Oro y Donnamaría, 2006). Es muy sensible a la luz, temperatura y al oxígeno, provocando su fácil degradación cuando es sometido a una manipulación, procesamiento o condiciones de almacenamiento adversas (Bastías y Cepero, 2016).

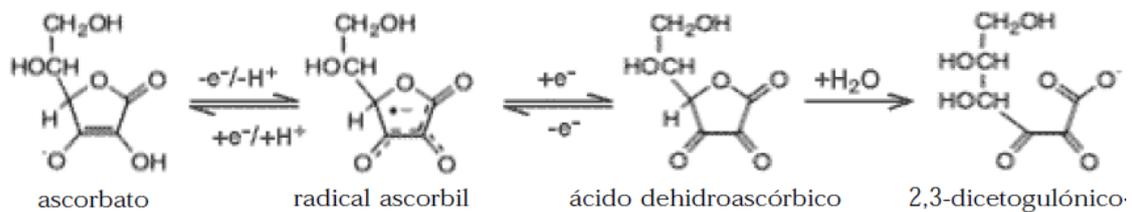


FIGURA 2 OXIDACIÓN DEL ÁCIDO ASCÓRBICO
Fuente: (García, 2014)

Para los seres humanos y unos pocos animales (mono, cobaya, etc.) esta molécula es un nutriente esencial ya que somos incapaces de sintetizarla debido a la ausencia de la enzima L-gulonolactona-oxidasa que participa en la vía del ácido urónico convirtiendo la L-gulonolactona en ácido L-ascórbico. Por ello se necesitan fuentes externas naturales para su obtención, como frutas y verduras, a diferencia de otros animales que son capaces de sintetizarla (Oro y Donnamaría, 2006).

Se ha comprobado que la vitamina C es necesaria para un buen funcionamiento del sistema inmune, funcionamiento hormonal y la absorción del hierro (Oroian y Escriche, 2015); también, participa en la metabolización de grasas, en el parado del sangrado y en de la síntesis del colágeno como coenzima (Oro y Donnamaría, 2006).

COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son compuestos químicos resultantes del metabolismo secundario de plantas a través de dos vías metabólicas fundamentales (Santhakumar et al., 2018). La síntesis de estos compuestos está muy influenciada por factores externos (Almonacid, 2016)

Estos compuestos juegan una serie de funciones metabólicas en las plantas y son responsables del color y las características sensoriales de las plantas y alimentos, como la astringencia de frutas y hortalizas (Peñarrieta et al., 2014).

Los polifenoles son sustancias orgánicas de naturaleza aromática, esto quiere decir que poseen uno o más anillos aromáticos de benceno con sustituyentes hidroxilos en su estructura química. Los principales polifenoles identificados en la dieta se clasifican según el número de átomos de carbono del esqueleto base, es decir, de la cadena alifática que se encuentra sustituyendo el núcleo bencénico (**Figura 3**) (Almonacid, 2016).

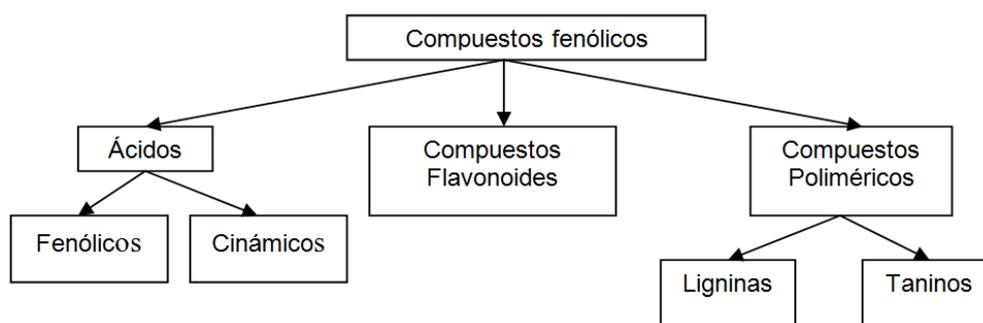


FIGURA 3 CLASIFICACIÓN COMPUESTOS FENÓLICOS

Fuente: (Almonacid, 2016)

Los compuestos fenólicos poseen una estructura química especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captadores de radicales libres neutralizando especies reactivas de oxígeno y iones metálicos quelantes. Además, debido a su reactividad, en la mayoría de los casos se encuentran combinados con un ácido orgánico, un azúcar o bien con ellas mismas para formar un polímero (Gracia, 2007).

Los humanos obtenemos estos compuestos consumiendo alimentos como frutas, vegetales, cereales, té, café y vino. La evidencia de los efectos promotores de la salud de los polifenoles ha sido fortalecida en los últimos años por diversos estudios (Santhakumar et al., 2018) que demuestran que poseen un poder antimicrobiano, antiviral, anticancerígeno, inmunomodulador antiinflamatorio y antihipertensivo (Oroian y Escriche, 2015).

CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos naturales metabolizados por plantas, algas y bacterias fotosintéticas, que son responsables del color amarillo, naranja y rojo de varias frutas y vegetales (Saini et al., 2015). También pueden encontrarse en menor cuantía y en proporciones muy

variables, en ciertos alimentos de origen animal como la leche o la yema de huevo, donde su contenido depende de la ingesta que realicen los animales productores de las fuentes originales de carotenoides (García, 2014).

Se ha demostrado que estos pigmentos favorecen el buen metabolismo óseo, el desarrollo embrionario y reproductivo, y la salud cutánea (Tanumihardjo, 2013). Además, se les considera componentes anticancerígenos, antioxidantes, inmunomoduladores y antiinflamatorios (Saini et al., 2015, Oroian y Escriche, 2015).

Los carotenoides se pueden clasificar en dos grupos según la base de grupos funcionales: xantofilas que contienen oxígeno como grupo funcional, que incluye luteína y zeaxantina, y los carotenos, que contienen solo la cadena de hidrocarburo primaria sin ningún grupo funcional, como α -caroteno, β -caroteno y licopeno (**Figura 4**) (Saini et al., 2015).

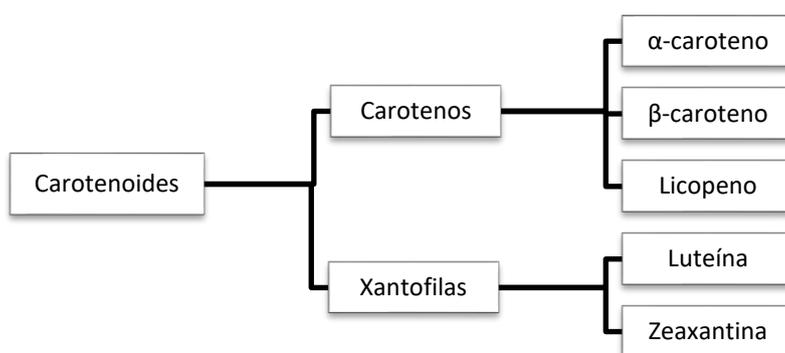


FIGURA 4 CLASIFICACIÓN DE CAROTENOIDES

El β -caroteno es una molécula liposoluble compuesta de dos grupos retinoles y que realiza la función de provitamina A (**Figura 5.A**). Esta molécula se puede romper en la mucosa del intestino delgado a retinal, del cual se forma la vitamina A (Oroian y Escriche, 2015). Es uno de los antioxidantes más potentes siendo capaz de suprimir la presencia de oxígenos enérgicamente excitados y la inhibición de la oxidación de los lípidos (Oroian y Escriche, 2015).

El licopeno es una molécula compuesta de once enlaces conjugados y dos dobles enlaces no conjugados como podemos ver en la **Figura 5.B**. Esta molécula es más supresora de oxígenos singletes que el β -caroteno (Oroian y Escriche, 2015). Los dobles enlaces conjugados de licopeno hacen que sea un potente antioxidante. La actividad antioxidante del licopeno se destaca por su capacidad de atrapar radicales peróxidos (Oroian y Escriche, 2015).

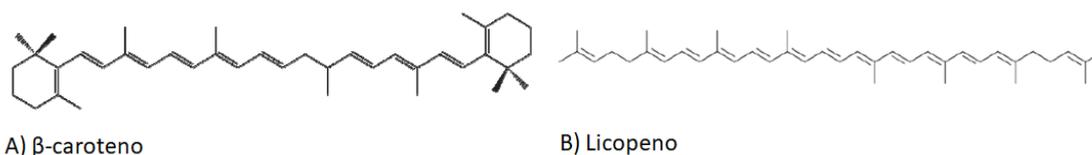


FIGURA 5 B-CAROTENO
Fuente: (García, 2014)

1.1. EL MELÓN Y TOMATE.

España es el principal productor de hortalizas y frutas de la UE que exporta a gran parte de los países que la conforman. Se posiciona el tercer puesto de los principales exportadores de producto vegetal en el mundo después de China y los Estados Unidos de América (EEUU).

El melón es una fruta que se produce mayoritariamente en el hemisferio norte. En los últimos cinco años la producción mundial ha ascendido de 28.500.000 toneladas a casi 32.000.000 toneladas, al igual que las hectáreas destinadas a su cultivo. De esta producción mundial España se sitúa en el quinto productor de melón con 747.920 toneladas (FAO, 2017).

El tomate es una hortaliza consumida en todo el mundo, no solo la hortaliza en sí, sino que se consume en diferentes formas de procesado e incluso en recetas de platos de todo el planeta. Al igual que el melón, tanto la producción como las hectáreas cultivadas se han incrementado hasta llegar a valores de 182.301.395 toneladas y 4.88.384 ha. Dentro de los diez principales productores mundiales, España ocupa el séptimo lugar (FAO, 2017).

El melón y el tomate son dos alimentos de origen vegetal que contienen ciertos compuestos bioactivos de interés para la salud humana. La composición de estos frutos no es igual en todas las variedades de la misma especie, sino que varían dependiendo de las características propias de cada variedad (**Tabla 2** y **Tabla 3**).

TABLA 2 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS DIFERENTES VARIEDADES DE MELÓN

	Unidades por 100 g	 Cantaloup	 Piel de Sapo	 Casaba	 Honeydew
Nutrientes					
Agua	g	90,15	92,4	91,85	89,82
Energía	kcal	34	27	28	36
Proteína	g	0,84	0,6	1,11	0,54
Lípidos totales	g	0,19	Traza	0,10	0,14
Ácidos grasos saturados	g	0,05	0	0,03	0,04
Hidratos de carbono	g	8,16	6	6,58	9,09
Azúcares	g	7,86	-	5,69	8,12
Fibra alimentaria	g	0,9	1	0,9	0,8
Sodio	mg	16	14	9	18
Bioactivos					
Ácido ascórbico total	mg	36,7	25	21,8	18
β-caroteno	μg	2020	-	0	30
Vitamina A, RAE	μg	169	3	0	3

Fuente 1: National Nutrient Data Base (USDA), 2016. Fuente 2: Base de datos Española de Composición de alimentos (BEDCA), 2016)

TABLA 3 COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE LAS DIFERENTES VARIEDADES DE TOMATE

	Unidades por 100 g	Racimo	Tomate Cherry	Pera
				
Nutrientes				
Agua	g	93,3	95,2	96,0
Proteína	g	0,91	0,78	0,56
Lípidos totales	g	0,2	0,49	0,26
Azúcares totales	g	1,91	1,27	1,16
Glucosa	g	0,91	0,78	0,56
Sodio	mg	4,0	4,0	5,9
Bioactivos				
Ácido ascórbico total	mg	11,66	3,94	6,56
Licopeno	µg	2660	1680	936
β-caroteno	µg	101	350	16

Fuente 1: Guil-Guerrero y Reboloso-Fuentes, 2009. Fuente 2: Pinela et al., 2012.

1.2. Factores que influyen en la concentración de bioactivos en los alimentos

Se ha demostrado que existen varios factores, sean de la propia planta o factores externos, que influyen en la composición de los compuestos bioactivos y otras características del fruto final.

Por ejemplo, un factor que tenemos que tener en cuenta aparte de la variedad, es el grado de maduración del fruto ya que durante este proceso tienen lugar una serie de eventos bioquímicos y estructurales que causan cambios en sus constituyentes (Romojaro et al., 2003). En resumen, según en que estado fisiológico se encuentre, el fruto tendrá una composición de compuestos bioactivos diferentes.

En el caso del tomate (**Tabla 5**), observamos como el contenido de componentes bioactivos cambia según su estado de madurez, sobre todo el contenido de pigmentos.

TABLA 4 CONTENIDO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS SEGÚN LA MADURACIÓN DEL TOMATE

	Unidades por 100 g	Tomate rojo, maduro	Tomate naranja	Tomate amarillo	Tomate verde
Bioactivos					
Ácido ascórbico	mg	13,7	16	9	23,4
β-caroteno	µg	449	-	-	346
Licopeno	µg	2573	-	-	0
Vitamina A, IU	IU	833	1496	0	642

Fuente: National Nutrient Data Base (USDA), 2016.

Los cambios de color durante la maduración se caracterizan por la desaparición de las clorofilas y la síntesis de pigmentos coloreados, fundamentalmente carotenoides y antocianos (Figura 6).

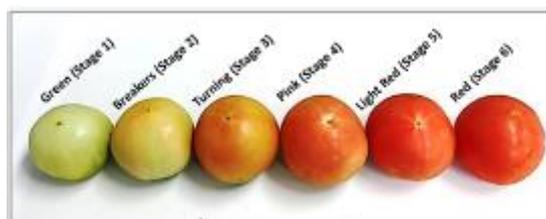


FIGURA 6 CAMBIO DE COLOR DEL TOMATE SEGÚN SU MADURACIÓN

Fuente: (Saini et al., 2017)

Además, existen varios estudios donde se ha comprobado la relación directa entre estado de maduración y el contenido de vitamina C, compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante (Ghasemnezhad et al., 2011).

Pero también se contemplan otros factores, concretamente los factores externos, como la fertilización del suelo, las condiciones climáticas, el uso de injertos (Kyriacou et al., 2018) y las infecciones de nematodos.

1.2.1. FERTILIZACIÓN

La fertilización es un factor que tiene una relación directa con el desarrollo de la planta y del fruto.

El contenido de nitrógeno está directamente relacionado con la síntesis de proteínas y carotenoides afectando a la coloración tanto de la piel como de la pulpa del fruto.

En general, se considera que un contenido excesivo de nitrógeno se traduce en mayor producción foliar a costa de una menor calidad del fruto. Esto afecta no solo a parámetros nutricionales como vitamina C y aminoácidos esenciales, sino también a la textura en pos-recolección, al tamaño e incluso provoca retrasos en la maduración en los frutos de hueso (Romojaro et al., 2003).

Parámetros de la calidad nutricional del melón, como la materia seca y los sólidos solubles, se ven negativamente afectados por el incremento del nitrógeno, especialmente en contenidos superiores a 120 kg por hectárea. Pero existen estudios que reflejan efectos nulos en el contenido de azúcares en el melón tipo Galia y Piel de Sapo, cuando hay incrementos de 80 a 240 mg por litro y de 11 a 393 kg por hectárea, respectivamente (Kyriacou et al., 2018).

Otro punto es la forma del componente fertilizante. Ciertos autores reportaron que la pulverización semanal de las formas complejo glicina-potasio y K_2SO_4 durante el desarrollo del fruto incrementa la calidad sensorial y el contenido de bioactivos (ácido ascórbico y β -caroteno) más que otras formas de potasio (KCl y KNO_3) (Kyriacou et al., 2018).

1.2.2. CONDICIONES CLIMÁTICAS

Las condiciones climáticas tienen una gran influencia en la calidad y valor nutricional de numerosos productos agrarios.

Uno de los factores climáticos que más afectan a la calidad del fruto son las altas temperaturas en el periodo precosecha pudiendo favorecer a la calidad u originar un amplio abanico de alteraciones (Romojaro et al., 2003). En el caso del melón, mantener una temperatura alta durante los primeros estados de desarrollo de la fruta puede comportar un incremento en el contenido neto de sacarosa (Kyriacou et al., 2018).

Los efectos directos de las altas temperaturas también inducen a daños en las membranas celulares, proteínas y ácidos nucleicos, mientras que los efectos indirectos provocan la inhibición de la síntesis de pigmentos o la degradación de los ya existentes, produciéndose una amplia gama de síntomas de escaldado y quemaduras (Romojaro et al., 2003).

La calidad nutricional también puede sufrir modificaciones, como el contenido vitamínico. En las naranjas, temperaturas inferiores a 20 °C favorecen el aumento de la vitamina C y las del grupo B, mientras que en tomate la acumulación de vitamina C máxima tiene lugar entre 27 y 30 °C (Romojaro et al., 2003). En el caso del melón, la temperatura idónea para la síntesis de β -caroteno se encuentra alrededor de los 30°C (Kyriacou et al., 2018).

1.3. NEMATODOS *MELOIDOGYNE INCOGNITA*

Los nematodos son organismos pluricelulares que miden generalmente menos de 2 mm de largo. A pesar de su pequeño tamaño, su organización es bastante compleja, poseen todos los órganos y sistemas de órganos encontrados en los animales superiores, excepto sistema circulatorio y respiratorio, los cuales no están definidos (Gómez y Montes, 2005) (**Figura 7**).

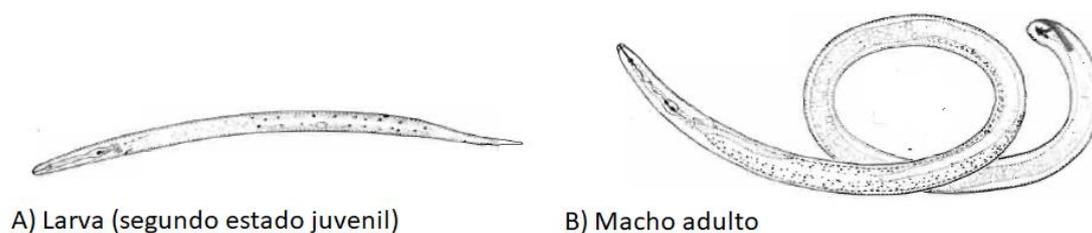


FIGURA 7 ESQUEMA DE NEMATODO EN DIFERENTES ESTADOS

Fuente: (Parrilla, 1984)

El ciclo de vida es simple y directo, y se divide en seis estadios: huevo, cuatro estados larvarios y el adulto (Gómez y Montes, 2005). La duración del ciclo varía según el hospedador, especie de nematodo y condiciones ambientales, por ejemplo, en hospedadores favorables y suelos calidos (25-30 °C) el ciclo de vida dura 3-4 semanas (Parrilla, 1984).

El ciclo de vida (**Figura 8**) se inicia con la eclosión de los huevos y seguidamente de la invasión de la raíz por los estadios infectivos. Estos estadios son larvas de vida libre que habitan en la micela de agua presente en los suelos y que necesitan penetrar en la raíz para completar su ciclo reproductivo (Gómez y Montes, 2005).

Los estados juveniles penetran en las raíces por la zona de elongación. Rompen las células epidérmicas y se mueven a través de la corteza hasta la zona de diferenciación del xilema. Casi inmediatamente después de su entrada, los nematodos estimulan la formación de agallas (nódulos) por agrandamiento y multiplicación de las células que componen los tejidos de la corteza y el periciclo de la raíz (Parrilla, 1984).

Poco después de iniciada la alimentación los nematodos comienzan a inmovilizarse. En el interior de los tejidos sufren tres mudas, hasta alcanzar su madurez sexual. Los machos abandonan la raíz y las hembras comienzan a engrosar su cuerpo. Como resultado de este engrosamiento provocan la ruptura de los tejidos quedando conectados con sus estilete al sitio de alimentación y el resto del cuerpo expuesto en la superficie de la raíz. Los huevos quedan en el exterior de los tejidos hasta su eclosión (Gómez y Montes, 2005).

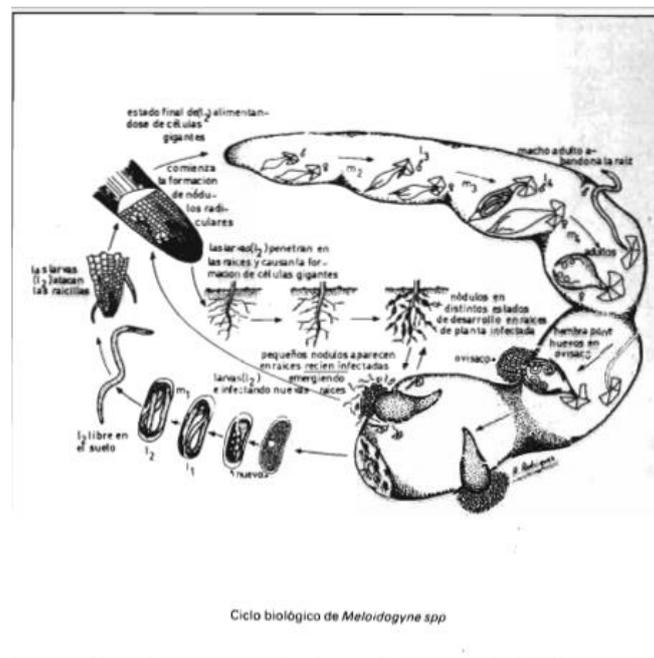


FIGURA 8 CICLO DE LA VIDA DEL NEMATODO

Fuente: (Parrilla, 1984)

Los nematodos endoparásitos, como indica su nombre, penetran el tejido vegetal (total o parcialmente). Se plantea que este grupo pasa al menos una etapa de su vida en el interior de los tejidos donde se alimenta y como consecuencia produce serias lesiones: nódulos, agallas, deformaciones entre otras (Gómez y Montes, 2005).

Las especies de *Meloidogyne* son endoparásitos sedentarios causantes de agallas prominentes en la raíz (Parrilla, 1984) por lo que son fácilmente diagnosticadas por los agricultores. Las agallas

se forman como consecuencia de alteraciones fisiológicas en los tejidos de la raíz causadas por las interacciones tróficas de los nematodos hembras. (Collange et al., 2011).

Las raíces infectadas se vuelven más cortas, con menos raíces secundarias y filamentos radiculares. Debido a los nódulos formados que provocan deformaciones, el flujo de agua y nutrientes es irregular e interrumpido. El crecimiento de la planta se ve afectado por deficiencias de aguas y minerales (Taylor y Sasser, 1978).

El parasitismo de nemátodos produce cambios a nivel nutricional en verduras y frutas. Cultivos de zanahoria con una infección severa presentaron disminuciones en el contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante total (Borghese, 2016) mientras que en el tomate, las restricciones en la transferencia de sustancia provoca marchites y deficiencias nutricionales. En cambio, con densidades bajas de nematodos, causa daños limitados y puede incluso estimular el desarrollo vegetal si la infección ocurre durante las etapas iniciales de la estación de cultivo (Jones et al., 2001). Hortalizas y frutas de la familia de las Cucurbitáceas presentan un tamaño y calidad inferior a los comerciales, y la producción de números de frutos se ve perjudicada al estar infectadas (Zitter et al., 2004).

1.4. EL USO DE LOS INJERTOS

El cultivo de ciertas hortalizas y frutas presentan algunas dificultades como el estrés del suelo, plagas y otras condiciones adversas. Para poder superar estos obstáculos e incluso mejorar aspectos de la planta se emplean injertos de otras variedades.

La combinación entre el injerto y la planta principal tiene que estudiarse a fondo debido a que ciertas combinaciones aumentan la resistencia a patógenos y plagas, y puede llegar a mejorar la absorción de minerales a costa de perder calidad del fruto (Gisbert et al., 2017).

Por ejemplo, estudios sobre el tomate demostraron que utilizando tres soluciones de nutrientes diferentes (0, 30 y 60 mM NaCl) y diferentes combinaciones de injertos (cvs de tomate 'Fanny' y 'Goldmar' injertados en el híbrido de portainjerto 'AR-9704') el ácido ascórbico era significativamente afectado por injerto. La concentración de ácido ascórbico en el jugo de fruta se mantuvo sin cambios con injertos a 0 mM de NaCl. Sin embargo, cuando la concentración del NaCl se incrementó a 30 y 60 mM, se observó un aumento significativo de vitamina C para las plantas injertadas "Fanny". Por el contrario, otros estudios informaron que el contenido de vitamina C disminuyó entre un 14-20% en el fruto de tomate de plantas injertadas en "Beaufort F1" y "Maxifort F1" en comparación con el tratamiento sin injerto (Rouphael et al., 2010).

Además, de su uso como alternativa a pesticidas, el injerto también es utilizado para incrementar la producción de los cultivos. Algunos estudios observaron que injertos en el cultivo de tomate incrementaban el número de frutos comerciales por planta hasta un 30% pero este incremento era a costa de provocar una disminución significativa del contenido de vitamina C, de compuestos fenólicos y de la capacidad antioxidante (Fallik y Ilic, 2014).



1.5. EFECTOS DE LOS NEMATODOS Y EL INJERTO SOBRE LOS COMPONENTES BIOACTIVOS

En estudios previos realizados en la Universidad Politécnica de Cataluña a través del proyecto AGL2013-49040-C2-1-R "Efecto de la resistencia de genes R y la inducida por hongos endoparásitos en la epidemiología de *Meloidogyne* y la producción y calidad de la cosecha en solanaceas-cucurbitaceas." se obtuvieron los siguientes resultados y conclusiones (**Tabla 5**):

- En el caso del melón Cantaloup, el primer año de cultivo parece indicar que la presencia de nematodos en plantas no injertadas, podría aumentar el contenido de compuestos fenólicos y ácido ascórbico, así como la capacidad antioxidante lipofílica y los carotenos. Por el contrario, la presencia de nematodos podría disminuir la capacidad antioxidante hidrofílica. La utilización del injerto *Cucumis metuliferus* se observó, que en general, el injerto implicaba un mayor contenido de los compuestos bioactivos, aumentando ligeramente la síntesis de carotenos, ácido ascórbico y la capacidad antioxidante, y disminuyendo el contenido de compuestos fenólicos totales (Nogales, 2016).

En cambio, en el segundo año del estudio, se observó que en general, la presencia de nematodos en plantas no injertadas no tiene repercusión en la calidad del fruto, pero poblaciones elevadas comportaron un descenso en compuestos fenólico y en carotenos. En plantas injertadas no se observaron estos efectos. (Cambras, 2017).

- En el primer año de cultivo de tomate variedad Durinta sin injertar se vio que la presencia de *Meloidogyne*, aumentaba la capacidad antioxidante de los carotenos mientras que el uso del injerto Aligator (híbrido entre *Solanum Lycopersicum* y *Solanum habrochaites*) en el cultivo del tomate de la variedad Durinta, no tuvo efecto sobre el contenido de vitamina C, pero sin embargo incremento el contenido de licopeno (Márquez, 2016).

En el segundo año al aumentar la presencia de nematodos en plantas no injertadas el contenido de compuestos fenólicos disminuía; confirmándose una baja incidencia en el contenido general de los componentes bioactivos estudiados (ácido ascórbico, compuestos fenólicos y carotenos). El uso de este injerto no afectó al contenido de compuestos bioactivos del tomate (Cambras, 2017).

TABLA 5 RESUMEN DE LAS CONCLUSIONES DE TRABAJOS ANTERIORES

Cultivo	Año	Conclusiones	Referencia
	1r	Se puede sugerir que melón Cantaloup (<i>Cucumis melo</i> var. <i>cantalupensis</i>) con el portainjerto <i>Cucumis metuliferus</i> es una buena técnica de sustitución del nematocida bromuro de metilo. En general, la presencia del injerto implica mayor contenido de compuestos nutraceuticos.	(Nogales, 2016)
Melón	2n	En general, la presencia de nematodos no tiene una repercusión sobre la calidad nutricional del melón Cantaloup. El uso del injerto es una buena técnica contra <i>Meloidogyne incognita</i> teniendo en cuenta todos los aspectos agronomicos, pero tendría que complementarse con otros métodos para minimizar el efecto de los nematodos y obtener un mayor contenido de bioactivos.	(Cambras, 2017)
	1r	El tratamiento de injerto-nematodos fue el que dio una mejor calidad del tomate dando una producción, tamaño del fruto y características nutricionales dentro de los valores promedio.	(Márquez, 2016)
Tomate	2n	La presencia de nematodos no ha repercutido en el contenido de compuestos bioactivos. El uso del injerto es una buena técnica contra <i>Meloidogyne incognita</i> teniendo en cuenta todos los aspectos agronomicos, pero tendría que complementarse con otros métodos para minimizar el efecto de los nematodos y obtener un mayor contenido de bioactivos.	(Cambras, 2017)

2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo y del tercer año del proyecto AGL2013-49040-C2-1-R "Efecto de la resistencia de genes R y la inducida por hongos endoparásitos en la epidemiología de *Meloidogyne* y la producción y calidad de la cosecha en solanaceas-cucurbitaceas." ha sido estudiar y evaluar el efecto de la población de nematodos y el uso de injerto en el contenido de compuestos bioactivos en los cultivos del tomate de la variedad Durinta y del melón Cantaloup cultivar Paloma.

Los objetivos específicos son:

- Determinar la concentración de compuestos bioactivos de los cultivos con diferente densidad de población de nematodos (población inicial en el suelo) e índice de agallamiento en plantas injertadas o no injertadas.
- Estudiar las relaciones entre la densidad de nematodos, el índice de agallamiento y el uso del injerto con el contenido de los diferentes compuestos bioactivos.
- Comparar los resultados obtenidos este año de cultivo con los de los dos años anteriores.

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. MATERIAL VEGETAL

3.1.1. MELÓN

El melón elegido para la realización de este experimento fue el melón Cantaloup, el cual pertenece a la familia de las Cucurbitáceas, y conocido científicamente como *Cucumis melo* var. *Cantalupensis*, *cultivar* Paloma de la casa comercial Semillas Fitó.

Esta fruta presenta una forma esférica ligeramente ovalada de 10 a 14 cm de diámetro y un peso entre 700 y 1200 gramos. Se caracteriza por su carne de consistencia blanda y jugosa de color entre anaranjado y salmón; su piel fina y rugosa de un color amarillo, y de un aroma dulce característico (Zapata Nicolas et al., 1989).

El injerto seleccionado fue el *Cucumis metuliferus* con el código BGV11135 que pertenece a la familia de las Cucurbitáceas y procede de la Universidad Politécnica de Valencia.

3.1.2. TOMATE

El tomate seleccionado para este estudio fue *Solanum lycopersicum* var. *Durinta* de la casa Seminis.

Esta variedad forma racimos de seis u ocho frutos redondos con un fuerte pedúnculo. Los frutos son de color rojo intenso, y tienen un peso entre 70 y 100 gramos y un diámetro entre 4,7 y 6,7 cm aproximadamente (Heuvelink, 2005).

El injerto que se seleccionó fue el portainjerto cv. Alligator. Es un híbrido entre *Solanum lycopersicum* y *Solanum spp.* de la casa comercial Semillas Gautier caracterizado por su fuerte sistema de raíces y el buen comportamiento frente a nematodos y Verticillium.

3.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento se llevó a cabo en una parcela de 700 m² del invernadero sobre suelo de Agropolis de la Universidad Politécnica de Cataluña situado en Viladecans (Baix Llobregat, Barcelona). La parcela se dividió en cuatro zonas; y cada una de ellas se subdividió en 5 subparcelas de 3,75 m² en la cual se dispusieron 8 plantas separada en dos, izquierda y derecha. Las subparcelas de la 1 a 5 no fueron injertadas mientras que las parcelas de la 6 a la 10 si (**Figura 9**).



		Tomate				Melon				
		B		C		D		E		
		Izquierda	Derecha	Izquierda	Derecha	Izquierda	Derecha	Izquierda	Derecha	
Patrón (injertado)	10	4	5	4	5	4	5	4	5	
		3	6	3	6	3	6	3	6	
		2	7	2	7	2	7	2	7	
	9	1	8	1	8	1	8	1	8	
		4	5	4	5	4	5	4	5	
		3	6	3	6	3	6	3	6	
	8	2	7	2	7	2	7	2	7	
		1	8	1	8	1	8	1	8	
		4	5	4	5	4	5	4	5	
	7	3	6	3	6	3	6	3	6	
		2	7	2	7	2	7	2	7	
		1	8	1	8	1	8	1	8	
	6	4	5	4	5	4	5	4	5	
		3	6	3	6	3	6	3	6	
		2	7	2	7	2	7	2	7	
	Variedad (sin injerto)	5	1	8	1	8	1	8	1	8
			4	5	4	5	4	5	4	5
			3	6	3	6	3	6	3	6
		4	2	7	2	7	2	7	2	7
			1	8	1	8	1	8	1	8
			4	5	4	5	4	5	4	5
		3	3	6	3	6	3	6	3	6
			2	7	2	7	2	7	2	7
			1	8	1	8	1	8	1	8
2		4	5	4	5	4	5	4	5	
		3	6	3	6	3	6	3	6	
		2	7	2	7	2	7	2	7	
1		1	8	1	8	1	8	1	8	
		4	5	4	5	4	5	4	5	
		3	6	3	6	3	6	3	6	

FIGURA 9 ESQUEMA DE LA PARCELA

Durante los tres años que ha durado el proyecto se llevó a cabo una rotación de los cultivos, alternando los cultivos de melón y tomate en verano y primavera. En el caso del 2017, las muestras analizadas corresponden al cultivo de primavera.

Los métodos de riego y fertilización del experimento fueron los mismos que se emplearon en los años anteriores (Nogales, 2016).

En cada parcela se tuvo en cuenta tanto la población inicial de nematodos como la población final debido a que a lo largo del proyecto la población ha ido cambiando. No obstante, los valores de poblaciones no son suficientes para explicar la afectación de los nematodos en las plantas, por ello se tuvo en cuenta el índice de agallamiento de cada planta para profundizar en la afectación.

Este índice de agallamiento se contabilizó mediante una escala descriptiva de niveles del 0 al 10 de Zeck, (1971) (**Figura 10**). Solo se contabilizó el índice de agallamiento de aquellas plantas que no habían muerto antes de la descripción del grado de infestación.

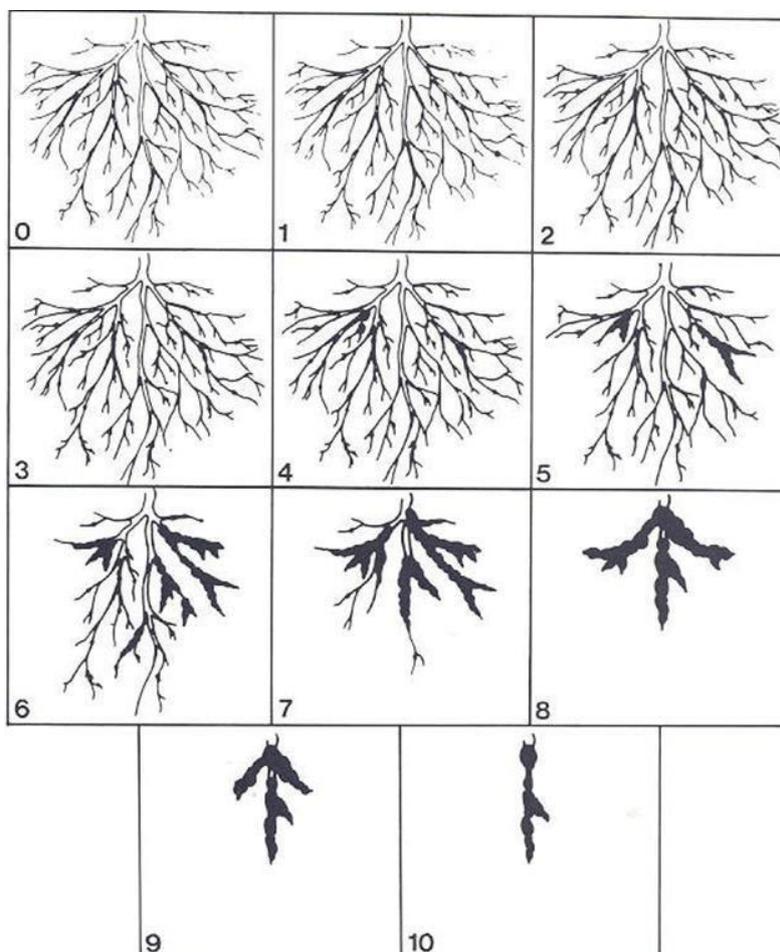


FIGURA 10 ESQUEMA DE ZECK (1971) PARA ESTIMAR EL DAÑO POR *MELOIDOGYNE*
Fuente: (Bíró-Stingli y Tóth, 2011)

3.3. MÉTODOS ANALÍTICOS

El procedimiento utilizado en la selección de las muestras a analizar y los análisis realizados se describe en la **Figura 11**.

Aunque en este trabajo se haya analizado solamente los componentes bioactivos, también se tuvo en cuenta otros parámetros como el color y la materia seca obtenidos en el trabajo de Guerra, (2018) para realizar el tratamiento estadístico.

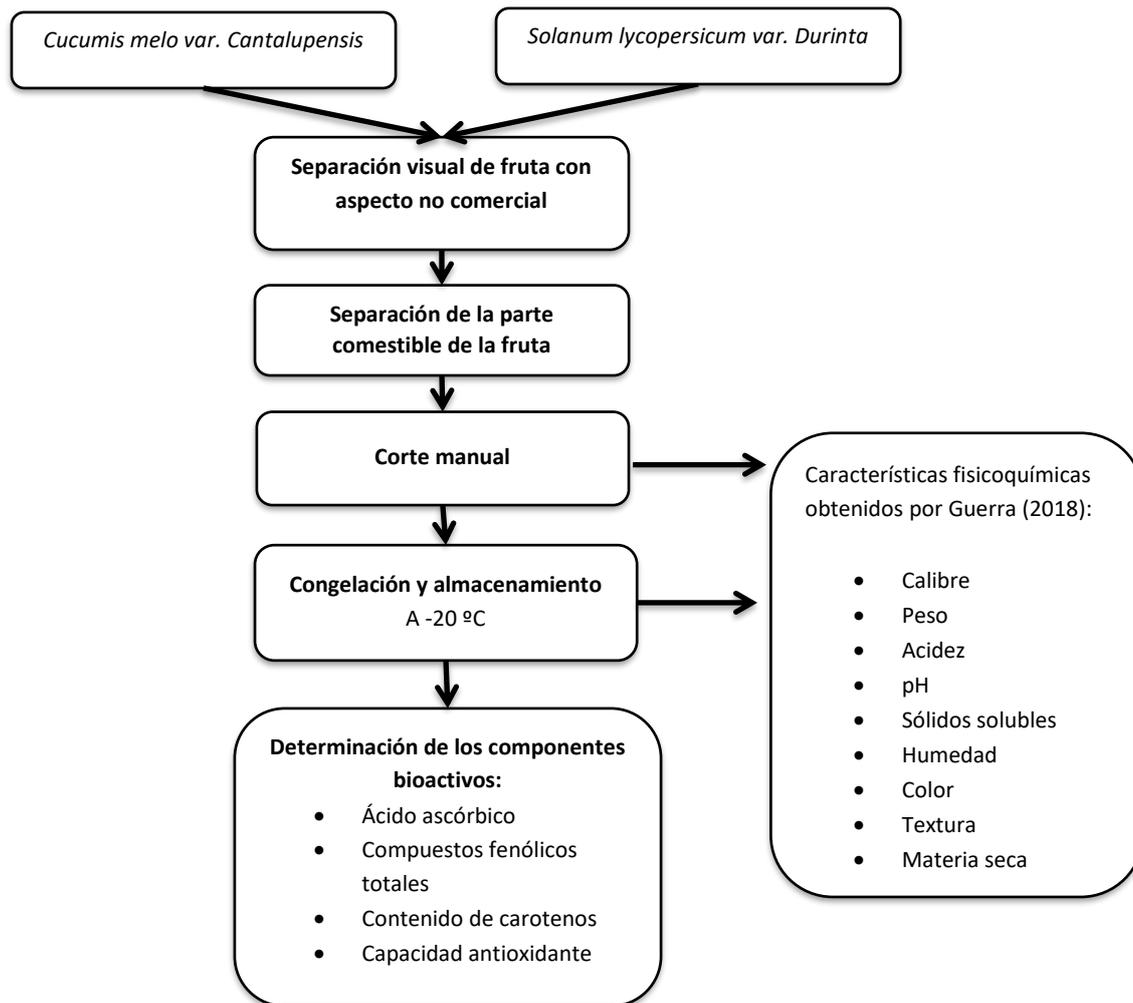


FIGURA 11 ANÁLISIS REALIZADOS EN EL EXPERIMENTO 2017

3.3.1 DETERMINACIÓN DEL ÁCIDO ASCÓRBICO

Para la cuantificación del ácido ascórbico y los otros análisis realizados, se requirió preparar previamente un extracto acuoso:

Se pesó 25 gramos de muestra (melón o tomate) y se trituró con la ayuda de una minipimer durante unos dos minutos, a la vez que se añadían unos 65 mL de ácido oxálico 1%. A continuación, se centrifugó a 4600rpm durante 10 minutos a 4°C y se filtró en un matraz aforado. Finalizada la filtración, se enrasó el extracto hasta los 100 mL con ácido oxálico 1%. Una parte del extracto se utilizaron directamente para la cuantificación de ácido ascórbico y el resto se almacenó en una cámara de congelación a -20°C.

Para la cuantificación del ácido ascórbico o vitamina C se utilizó directamente el extracto acuoso de las muestras y se realizó el método adaptado de Tillmans Keller ,1988.

Al acabar de obtener el extracto acuoso, se hizo una dilución 1:10. De esta dilución, se pipetearon 5 mL en un Erlenmeyer y se valoró con DCPI hasta que el extracto pasaba a un color rosado, que indicaba el final de la reacción.



Previamente, se realizó una estandarización del DCPI, se pesaron 50 mg de ácido ascórbico y se enrasaron hasta los 100 mL con ácido oxálico 1%. Después, se hizo una dilución 1:10 de la cual se pipetearon 5 mL y se valoraron con DCPI hasta el cambio de color a rosa (E.1). Esta estandarización se realizó cada día de cuantificación de ácido ascórbico.

$$\frac{0,25}{X \text{ ml DCPI}} = X \frac{\text{mg ás. ascórbico}}{\text{ml DCPI}} \quad (\text{E.1})$$

El resultado se expresó en mg ácido ascórbico/ 100 g de materia fresca y seca.

3.3.2 DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

En la determinación de los compuestos fenólicos se realizó una colorimetría Folin-Ciocalteu (Waterhouse, 2002), que consiste en la aparición de azul color debido a la oxidación de los compuestos fenólicos a causa del reactivo Folin-Ciocalteu (FC).

Para la determinación de los compuestos fenólicos se preparó una serie de patrones:

Primero se preparó una solución madre de ácido gálico de $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Para ello se pesó 0,505 gramos de ácido gálico y se enrasó en un matraz de 100 ml con agua destilada.

A partir de la solución madre se realizaron una serie de diluciones de concentraciones 25, 50, 100, 250 y 500 ppm mediante la dilución de 0,5, 1, 2, 5 i 10 ml en 100 mL de agua destilada. Estos patrones se mantuvieron refrigerados y se descartaron al cabo de los 15 días y se realizó una nueva tanda de patrones de las mismas características.

Se introdujeron 20 μl de patón, blanco o muestras dependiendo de la cubeta en cuestión, se añadió 1,58 mL de agua destilada y 100 μL de reactivo Follin-Ciocalteu y se mezcló. A continuación, se introdujo 300 μL de carbonato sódico 20% y se mezcló bien (entre la adición de reactivo Follin-Ciocalteu y el carbonato sódico 20 % no puede transcurrir más de 8 minutos).

Una vez mezclado todo, se tapó la placa y se dejó a temperatura ambiente durante 2 horas. Trascorrida la incubación de procedió a hacer la lectura de la absorbancia a través de un espectrofotómetro, a una longitud de onda de 765 nm (**Figura 12**).



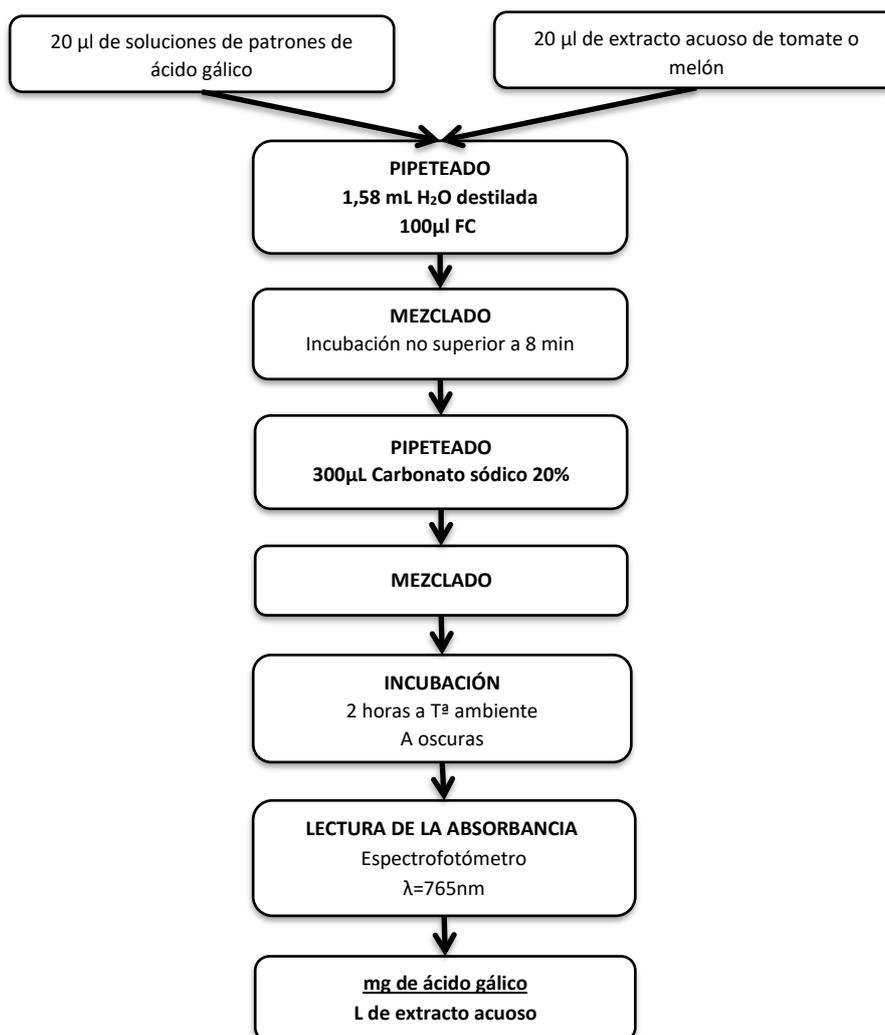


FIGURA 12 DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS MEDIANTE LA COLORIMETRÍA FOLIN-CIOCALTEU

Para la cuantificación de los compuestos fenólicos totales, se realizó una recta de calibración (Figura 13). Los puntos de la recta corresponden a los resultados obtenidos de los patrones. El resultado se expresó en mg de ácido gálico / 100 g de materia fresca y seca.

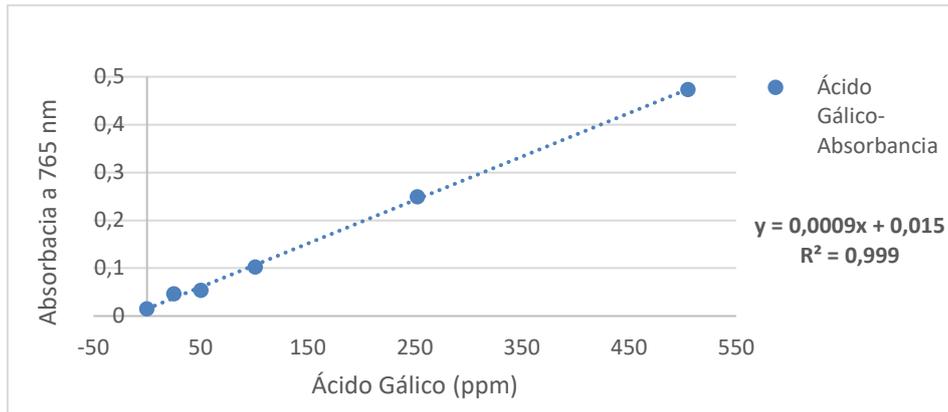


FIGURA 13 RECTA DE CALIBRACIÓN ÁCIDO GÁLICO

3.3.3. DETERMINACIÓN DE LOS CAROTENOS

Para la cuantificación de los carotenos se realizó una extracción separando la parte lipídica de la acuosa.

Se cogieron 5 gramos de muestra y se trituraron con la ayuda de una minipimer durante un minuto mientras se añadía una disolución 1:1 de metanoles tetrahidrofurano. A continuación, se centrifugó a 4600 rpm y 4°C durante 10 minutos. Luego se filtró al vacío mediante un Kitasato y un embudo Buchner (**Figura 14**).



FIGURA 14 FILTRADO AL VACÍO

El extracto filtrado se introdujo en un embudo de decantación, donde se había añadido 20 mL de éter de petróleo y 150 mL de agua destilada (muy cuidadosamente para no formar gránulos), y se mezcló todo muy bien hasta la homogeneidad. Se dejó decantar hasta que la fase lipídica se separó de la acuosa. Una vez separadas las fases, se eliminó la parte acuosa (**Figura 15**) y se

limpió añadiendo 100 mL de agua destilada, mezclándolo y dejándolo decantar (este procedimiento se realizó 3 veces).

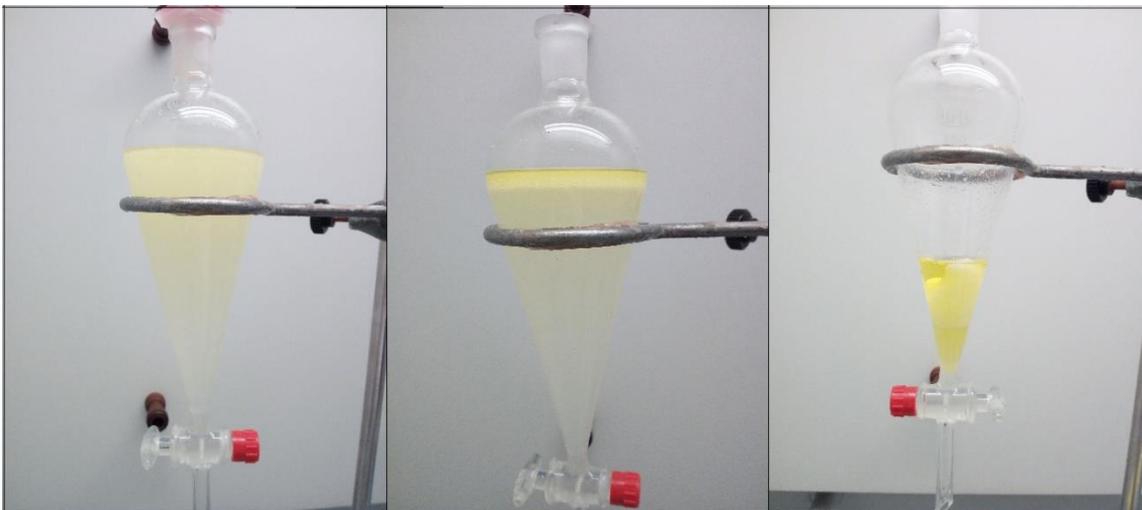


FIGURA 15 DECANTADO Y SEPARACIÓN DE LOS CAROTENOS

Al obtener la parte lipídica se filtró en un matraz de 25 mL mediante un embudo que contenía una capa de lana de vidrio y 7 gramos de sulfato sódico anhidro. Después se enrasó con éter de petróleo (**Figura 16**).



FIGURA 16 EXTRACTO DE CAROTENOS

Este extracto de carotenos se llevó al espectrofotómetro y se leyó la absorbancia de este a una longitud de onda que dependerá del caroteno estudiado de cada muestra:

- $\lambda = 450 \text{ nm}$, si se trataba de melón (β -caroteno)
- $\lambda = 470 \text{ nm}$, si se trataba de tomate (licopeno)

La lectura obtenida debe oscilar entre 0,2 y 0,8.

CUANTIFICACIÓN DE LOS CAROTENOS

Con la absorbancia obtenida y la fórmula E.2 se cuantificó el contenido de carotenos de cada muestra, expresándolo en mg de caroteno/100g de muestra fresca.

$$\frac{A \times \text{Volumen} \times 10^4}{A_{1\text{ cm}}^{1\%} \times \text{Peso}} \times \text{Dilución} \quad (\text{E.2})$$

- A: Absorbancia de la lectura
- Volumen: volumen del total del extracto de carotenos, 25 ml
- $A_{1\text{ cm}}^{1\%}$: Coeficiente de absorción en función del caroteno estudiado y del disolvente:

TABLA 6 COEFICIENTES DE ABSORCIÓN SEGÚN CAROTENO Y DISOLVENTE

Caroteno	Disolvente	$\lambda_{\text{m}\ddot{a}\text{x}}$	$A_{1\text{ cm}}^{1\%}$
β -caroteno	Éter de petróleo	450	2592
Licopeno	Éter de petróleo	470	3450

Fuente: (Rodríguez-Amaya & Kimura, 2004)

3.3.4 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

En este experimento se realizaron 3 métodos diferentes para la determinación de la capacidad antioxidante: el método de CUPRAC, el método del ORAC y el método del ABTS⁺.

El CUPRAC presenta ciertas ventajas para analizar la capacidad antioxidante del ácido ascórbico y del ácido gálico ya que el desarrollo de la coloración durante la colorimetría es rápido y beneficioso para compuestos fácilmente degradables como en el caso del ácido ascórbico. También, analiza matrices heterogéneas con ausencia de desviaciones (el resultado que proporciona es la suma de las capacidades individuales de los compuestos antioxidantes) ni interacciones químicas y al realizarse a pH cercano al de los fluidos fisiológicos proporciona una estimación realista de los antioxidantes en una muestra. También, el reactivo CUPRAC es selectivo (menor potencial redox), estable y de fácil acceso que otros reactivos radicales (Apak et al., 2008).

En cuanto a los carotenoides, el uso del método ABTS⁺ presenta menos errores durante el proceso debido a que no hay la posibilidad que las muestras lipídicas se separen de los reactivos ya que presenta una base alcohólica. Además, ensayos comparando diferentes métodos, demostraron que el ABTS⁺ era más eficiente para cuantificar la capacidad antioxidante de licopeno, α - y β -caroteno que otros métodos (Müller et al., 2011).

Por otra parte, el ORAC se basa en una reacción de transferencia de átomos H (Zulueta et al., 2009). Se demostró que este método era capaz de hacer predicciones más precisas de la capacidad antioxidante de las muestras de alimentos ya que analiza la actividad antioxidante de otros compuestos, como de los compuestos fenólicos, lo que no se observó en analíticas con el



ABTS⁺. Sin embargo, se enfatizó que sólo midieron la capacidad antioxidante frente a los radicales peróxido e hidroxilo y no todas las demás especies de oxígeno como los superóxidos y el oxígeno singlete (Cömert y Gökmen, 2018). Además de no ser adecuado para cuantificar los antioxidantes no enzimáticos (Zulueta et al., 2009).

3.3.4.1. MÉTODO DEL CUPRAC

En la determinación de la capacidad antioxidante del extracto acuoso (capacidad antioxidante del ácido ascórbico y de los compuestos fenólicos) se realizó el método CUPRAC, basado en una reducción del cobre (II)-neocuproína (Apak, Güçlü, Özyürek, Bektaşoğlu, y Bener, 2008)

Para la realización de este método se prepararon una serie de reactivos previos:

- Patrones de TROLOX: A partir de una solución madre de 7mM de TROLOX se realizó diferentes diluciones con agua destilada de las siguientes concentraciones: 25, 50, 100, 250, 500µM.
- Neocuprina: Se mezcló 0,039g de neocuprina en 25 mL de etanol (96%). Esta dilución de 7,5 mM se tuvo que preparar cada día y se descartada al final de la jornada.

Se distribuyó en las cubetas y se fue añadiendo 0,5 mL de cobre (II), 0,5 mL de neocuprina 7,5 mM, 0,5 mL de NH₄Ac 1 M y 1,05 mL de patrón, blanco o muestras (**Figura 17**).

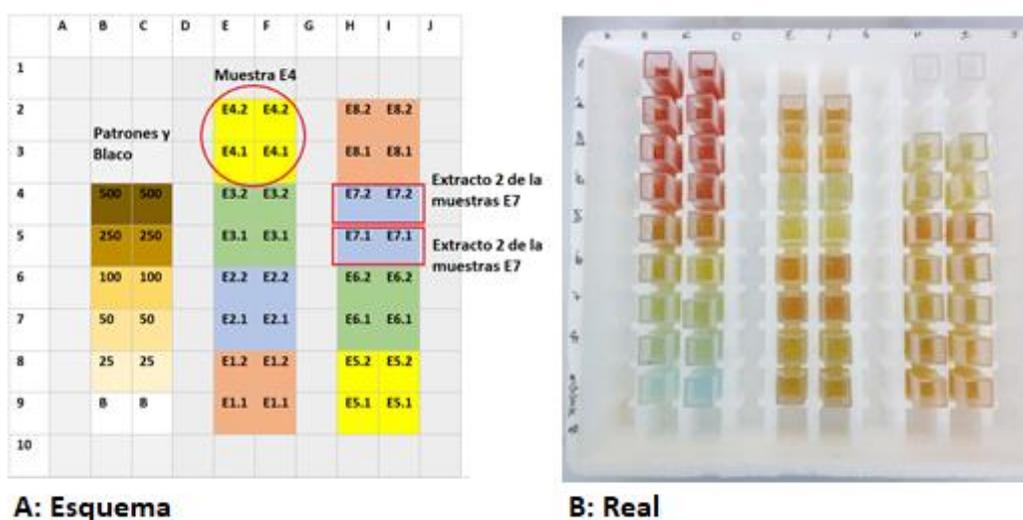


FIGURA 17 DISTRIBUCIÓN MÉTODO CUPRAC

A continuación, se mezcló bien y se dejó a oscuras durante una hora. Acabada la incubación se hizo una lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 450 nm (**Figura 18**).

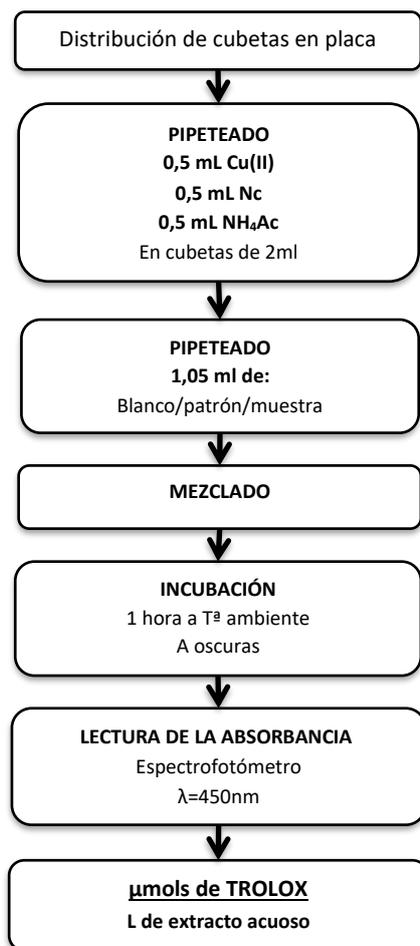


FIGURA 18 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO CUPRAC

VALIDACIÓN DEL MÉTODO CUPRAC

En las primeras lecturas, se observó que la recta de calibración elaborada tenía una zona donde no era lineal, dando una R^2 inferior 0,99 que era el valor buscado. Por ello, se decidió hacer más patrones para determinar el intervalo de linealidad de la reacción.

Al añadir los patrones y ampliar el rango de detención obtuvimos una curva en la cual podemos apreciar la linealidad de la relación hasta el punto en que esta se pierde y pasa a ser constante (**Figura 19**). Como resultado se observó que la recta se tendría que elaborar con los patrones de 25 μM hasta un máximo de 500 μM . Se debe considerar que el valor de absorbancia obtenido a 500 μM es elevado, por lo que se verificó su reproductibilidad al largo de los ensayos realizados.

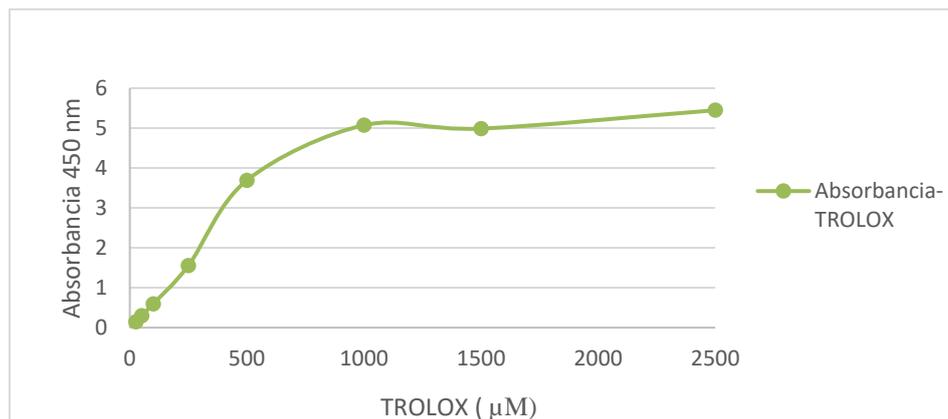


FIGURA 19 CURVA DE ABSORBANCIAS DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE TROLOX

CUANTIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO CUPRAC

Con la recta obtenida a partir de las absorbancias de los patrones con concentración conocida, se obtuvo la recta de calibración (**Figura 20**), y a partir de la ecuación de esta y los posteriores cálculos se obtuvo la cantidad de equivalentes de TROLOX expresado en μM Eq TROLOX /100 g de muestra fresca.

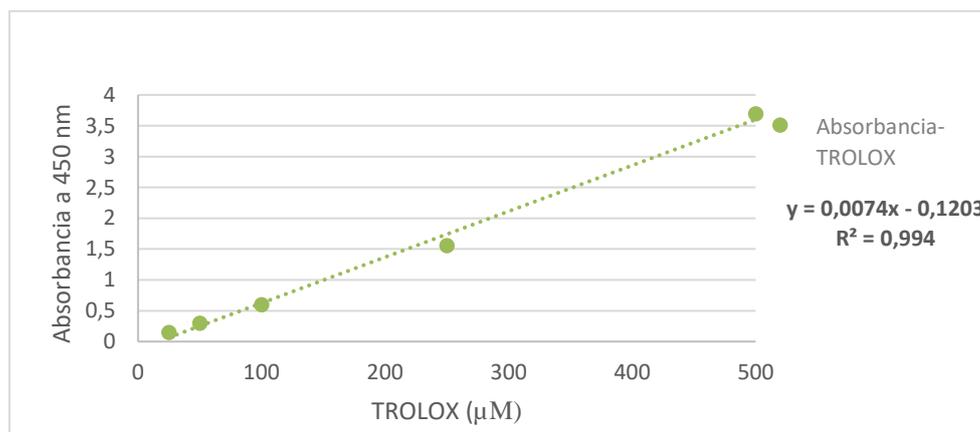


FIGURA 20 RECTA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO CUPRAC

3.3.4.2. MÉTODO DEL ABTS+

Para la determinación de la capacidad antioxidante en los extractos lipídicos (capacidad antioxidante de los carotenoides) se seleccionó el método de ABTS⁺ (Thaipong et al., 2006), el cual se basa en la generación del azul-verde ABTS⁺, mediante la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio, que se reducirá en presencia de antioxidantes (Re et al., 1999).

Antes de proceder al análisis se requirió la preparación previa de reactivos y patrones:

- Patrones de TROLOX: A partir de una solución madre de 7mM de TROLOX se realizó diferentes diluciones con agua destilada de las siguientes concentraciones: 25, 50, 100, 250, 300, 400, 500 y 600 μ M.
- ABTS⁺: Para la preparación del reactivo se mezcló 1 mL de ABTS 7,4 mM (dilución de 0,1015 gramos de ABTS en 25 mL de agua destilada) y 1 mL de persulfato de potasio 2,6 mM (dilución de 0,0175 gramos de persulfato en 25 mL de agua destilada). Esta dilución 1:1 se dejó a oscuras y en refrigeración entre 12 y 16 horas. Una vez transcurrido el tiempo se hizo una dilución 1:30 de ABTS⁺ en metanol.

Se hizo una distribución de cubetas (**Figura 21**), y se añadió 150 μ L de patrón, blanco o muestras en las cubetas.

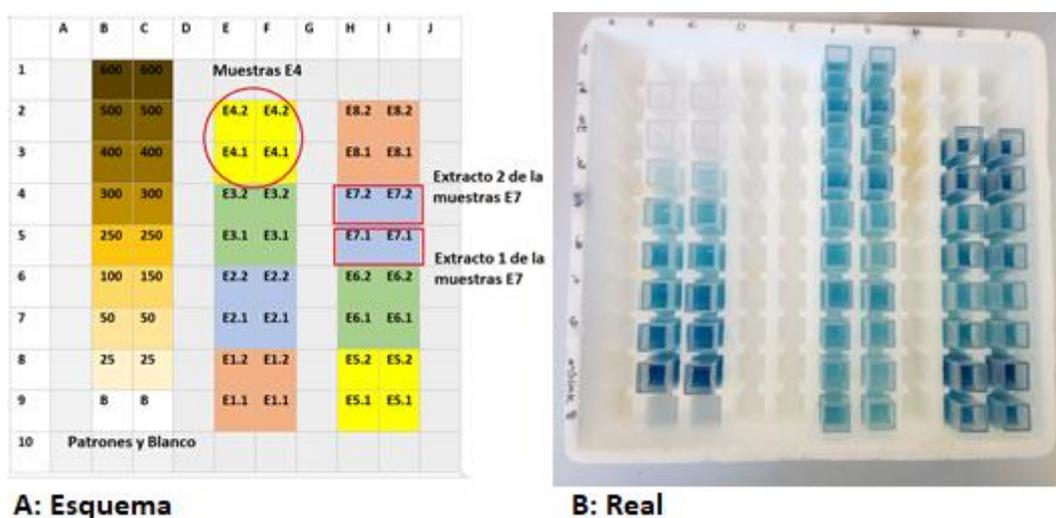


FIGURA 21 DISTRIBUCIÓN MÉTODO ABTS⁺

Antes de la adición del ABTS⁺ se hizo una lectura de este a una longitud de onda de 734 nm para comprobar que la absorbancia obtenida fuera de $1,1 \pm 0,02$. En caso contrario se ajustó la dilución hasta alcanzar la absorbancia buscada.

Al obtener la absorbancia optima, en el mismo momento, se añadió 2,85 mL de ABTS⁺ a las cubetas, se mezcló bien, y se tapó rápidamente para que el ABTS⁺ no se viera afectado por la luz. Se mantuvo la placa a oscuras durante 2 horas.

Después de la incubación, se leyó la absorbancia de las cubetas en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 734 nm (**Figura 22**).

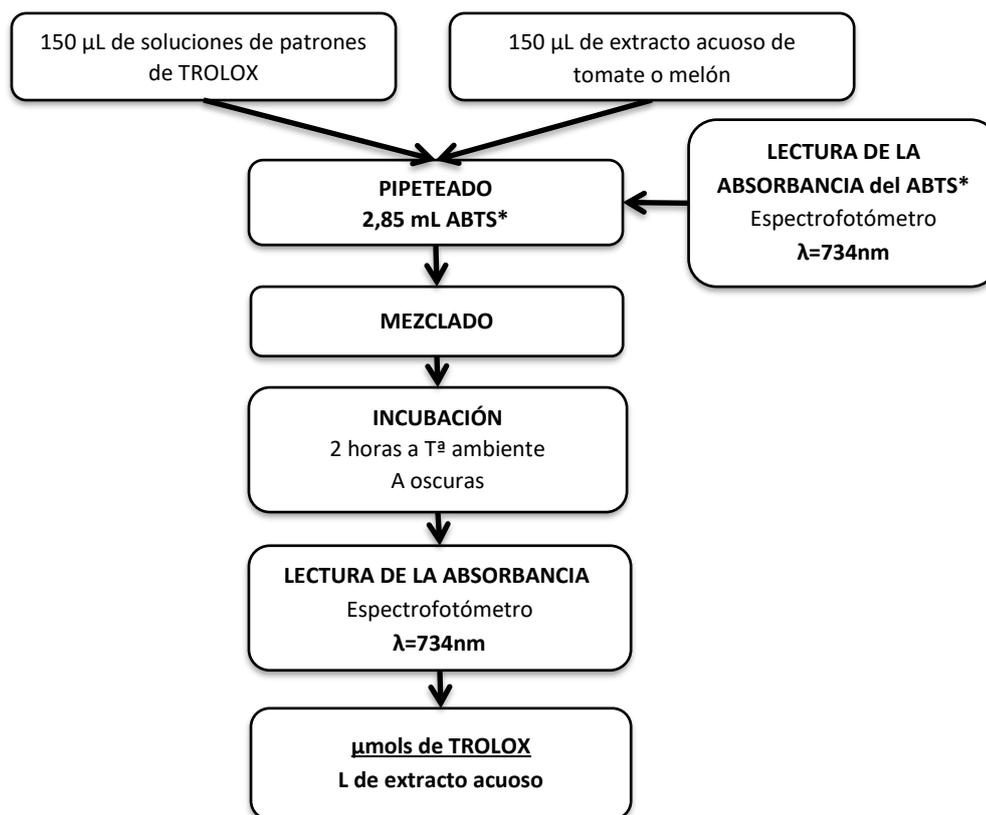


FIGURA 22 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO ABTS

VALIDACIÓN DEL MÉTODO ABTS⁺

Según el método de ABTS elegido, la dilución añadida debía ser 1:60 pero al comprobar varias veces que la absorbancia de esta dilución se encontraba en el orden de $0,491 \pm 0,02$ se replanteó la relación de la dilución de ABTS⁺.

Se leyó las absorbancias de diferentes disoluciones de ABTS⁺ y se descubrió que con la dilución 1:30 se obtenía la absorbancia buscada.

CUANTIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO ABTS⁺

A través de la recta obtenida a partir de las absorbancias de los patrones con concentración conocida (**Figura 23**), se obtuvo la cantidad de μM equivalentes de TROLOX a partir de la ecuación de esta. El resultado se expresó en μM Eq TROLOX /100 g de materia fresca y seca.

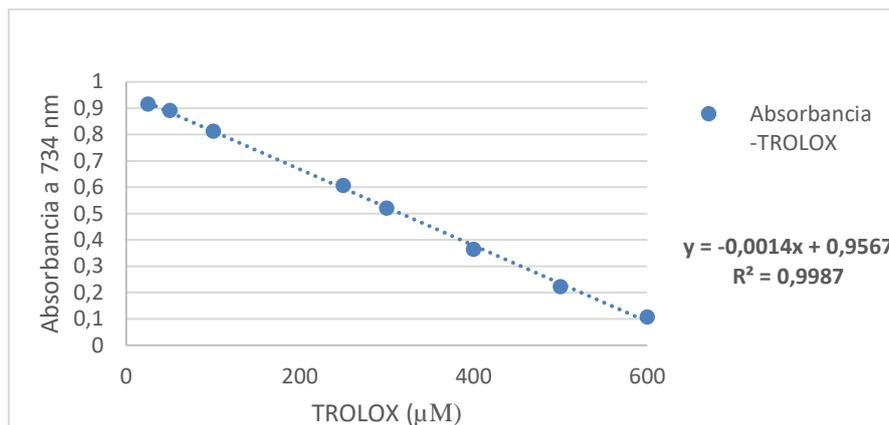


FIGURA 23 RECTA DE CALIBRACIÓN PARA EL MÉTODO ABTS

3.3.4.3. MÉTODO DEL ORAC

El método del ORAC, método usado en los anteriores trabajos, se realizó solo con los extractos acuosos (capacidad antioxidante del ácido ascórbico y de los compuestos fenólicos). Este método se basa en cuantificar la inhibición de la reacción de oxidación de la fluoresceína en presencia de indicadores de radicales libres (AAPH).

Previamente al análisis se requirió la preparación de reactivos y patrones:

- Patrones de TROLOX: A partir de una solución madre de 7mM de TROLOX se realizó diferentes diluciones con agua destilada de las siguientes concentraciones: 25, 50, 100, 250, 300, 400 y 500μM.
- APPH: Se preparó una solución de AAPH de 7,79mM pesando 0,216 gramos en 10 ml de solución fosfato 75 mM a pH 7,4. Hasta su utilización se mantuvo a oscuras.

Primero se introdujo 15 μl de patrones, blanco y las diluciones 1:10 de cada muestra en la microplaca (**Figura 24**). Luego se añadió 135 μl de fluoresceína y se introdujo la microplaca en el fluorímetro a 37 °C durante 1-2 minutos.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B	E4.2	E8.2	E12.2	E16.2	E20.2	E24.2	E28.2	E32.2	E36.2	E40.2	B
B	25	E4.1	E8.1	E12.1	E16.1	E20.1	E24.1	E28.1	E32.1	E36.1	E40.1	25
C	50	E3.2	E7.2	E11.2	E15.2	E19.2	E23.2	E27.2	E31.2	E35.2	E39.2	50
D	100	E3.1	E7.1	E11.1	E15.1	E19.1	E23.1	E27.1	E31.1	E35.1	E39.1	150
E	250	E2.2	E6.2	E10.2	E14.2	E18.2	E22.2	E26.2	E30.2	E34.2	E38.2	250
F	300	E2.1	E6.1	E10.1	E14.1	E18.1	E22.1	E26.1	E30.1	E34.1	E38.1	300
G	400	E1.2	E5.2	E9.2	E13.2	E17.2	E21.2	E25.2	E29.2	E33.2	E37.2	400
H	500	E1.1	E5.1	E9.1	E13.1	E17.1	E21.1	E25.1	E29.1	E33.1	E37.1	500

FIGURA 24 DISTRIBUCIÓN MICROPLACA MÉTODO ORAC

Pasado el tiempo, se retiró la microplaca, se añadió 50 µl de AAPH y se volvió a introducir en el fluorímetro. A partir de este momento se empezó a leer la intensidad de la fluoresceína cada dos minutos durante dos horas a una longitud de onda de excitación 485 nm y una longitud de onda de emisión de 520 nm.

CUANTIFICACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO ORAC

Para la cuantificación de la capacidad antioxidante a través del método del ORAC se calculó el área de la fluoresceína sobre la curva (AUC) para los patrones, el blanco y las muestras.

Se creó la recta de calibración (**Figura 25**) a partir de la resta de la AUC de los patrones y del blanco para así, con la AUC de las muestras a las que también se le resta el blanco, calcular cantidad de micromoles equivalentes de TROLOX y expresarlo en µM equivalentes TROLOX/100 g de materia fresca y seca.

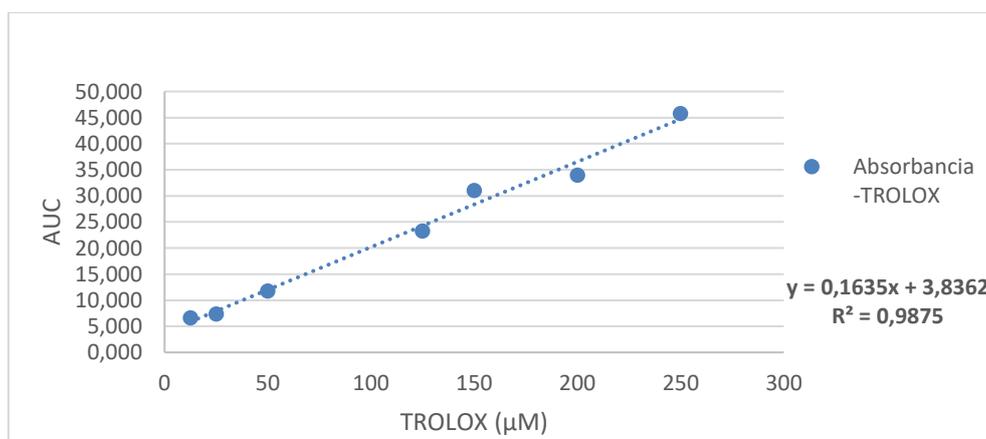


FIGURA 25 RECTA DE CALIBRACIÓN DEL MÉTODO ORAC

3.4. METODOS ESTADISTICOS

Determinar si existe una relación entre el contenido de compuestos bioactivos y los parámetros de densidad población de nematodos, y estudiar (en caso de que hubiera) fue uno de los objetivos de este trabajo. Para ello se empleó el análisis de regresión lineal el cual nos permite comprobar la existencia de una relación de dependencia entre el contenido de compuestos bioactivos y los parámetros de densidad población de nematodos (si el contenido de compuestos bioactivos depende la densidad de población de nematodos o no).

Los resultados de los métodos analíticos se analizaron mediante el programa Minitab 18, con el cual se realizó un análisis de regresión simple y correlaciones de Pearson (nivel de significación del 5%), para determinar la influencia de la densidad de población de nematodos o el índice de agallas en los parámetros estudiados.

Las correlaciones de Pearson nos permitieron observar las relaciones que había entre y los parámetros analizados de los frutos y los parámetros de densidad población de nematodos. Al mismo tiempo, se observaron las relaciones de los parámetros analizados de los frutos entre sí.

En los análisis de regresión simple, se tomó los parámetros de densidad población de nematodos (población inicial, población final e índice de agallas) como variables independientes y los parámetros analizados de los frutos (ácido ascórbico, compuestos fenólicos, carotenoides y capacidad antioxidante) como variables dependientes.

Durante el estudio, se observaron cuáles eran las relaciones significativas que existían entre ellos, y se eliminaron los valores atípicos.

4. RESULTADOS

4.1. EFECTO DE LOS NEMATODOS E INJERTOS EN LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS DEL MELÓN

En los resultados obtenidos del tratamiento estadístico, se observa que existen correlaciones de Pearson significativas ($p < 0,05$) entre los parámetros referentes a la densidad de nematodos y los parámetros estudiados, excepto en el contenido de compuestos fenólicos ($p > 0,05$) (**Tabla 7**).

Los parámetros referentes a la población de nematodos están relacionados entre sí ($p < 0,05$). Se debe considerar que la población de nematodos de cada parcela ha evolucionado e infectado la planta de una manera diferente.

TABLA 7 CORRELACIONES ENTRE FACTOR NEMATODO Y PARÁMETROS ESTUDIADOS DEL MELÓN

	Melón Patrón (Injertado)			Melón Variedad (Sin Injerto)		
	Población Inicial (250cc)	Población Final (250cc)	Índice de Agallas	Población Inicial (250cc)	Población Final (250cc)	Índice de Agallas
Población Final (250cc)	0,798 0			0,667 0		
Índice de Agallas	0,581 0	0,742 0		0,289 0,019	0,527 0	
Ac. Ascórbico (mg AA/100 g s.m.h)	0,44 0,031	0,237 0,287	0,038 0,873	0,663 0,001	0,278 0,281	0,035 0,894
Carotenoides (μg β -caroteno/100 g s.m.h.)	-0,112 0,588	-0,290 0,170	-0,324 0,142	-0,450 0,036	-0,299 0,229	-0,302 0,223
Carotenoides (μg β -caroteno/100 g s.m.s.)	-0,435 0,03	-0,138 0,531	-0,635 0,002	-0,245 0,283	-0,111 0,672	-0,001 0,997
CUPRAC (μmoles TROLOX /100 g s.m.h)	-0,061 0,766	-0,21 0,313	-0,295 0,171	0,589 0,004	0,183 0,467	0,132 0,600
CUPRAC (μmoles TROLOX /100 g s.m.s.)	-0,079 0,763	-0,085 0,745	-0,626 0,013	0,590 0,005	0,277 0,282	0,060 0,818
ABTS* (μmoles TROLOX /100 g s.m.h.)	0,033 0,873	-0,126 0,558	0,050 0,826	-0,429 0,047	-0,371 0,130	-0,234 0,350

Nota: Las correlaciones se dividen en los grupos: Población inicial (verde), Población final (rojo) e Índice de agallas (azul) ($p < 0,05$). s.m.h: sobre materia húmeda; s.m.s.: sobre materia seca

4.1.1. POBLACIÓN INICIAL

POBLACIÓN INICIAL VS. ÁCIDO ASCÓRBICO

En la **Figura 26.A** se puede observar que el contenido de ácido ascórbico del melón injertado aumenta significativamente al aumentar la población inicial de nematodos ($p < 0,05$). Se distinguen dos tendencias, primero el aumento tiene una pendiente leve ($r = 0,44$) hasta que se produce un incremento con tendencia no lineal, siendo así su R^2 polinómica (22,52 %) mayor que su R^2 lineal (19,40 %).

En cambio, como se ve en la **Figura 26.B**, el ácido ascórbico del melón sin injertar aumenta significativamente ($p < 0,05$) al aumentar la población de nematodos, pero lo hace de forma lineal (R^2 lineal = 43,99 % > R^2 polinómica = 35,36 %).

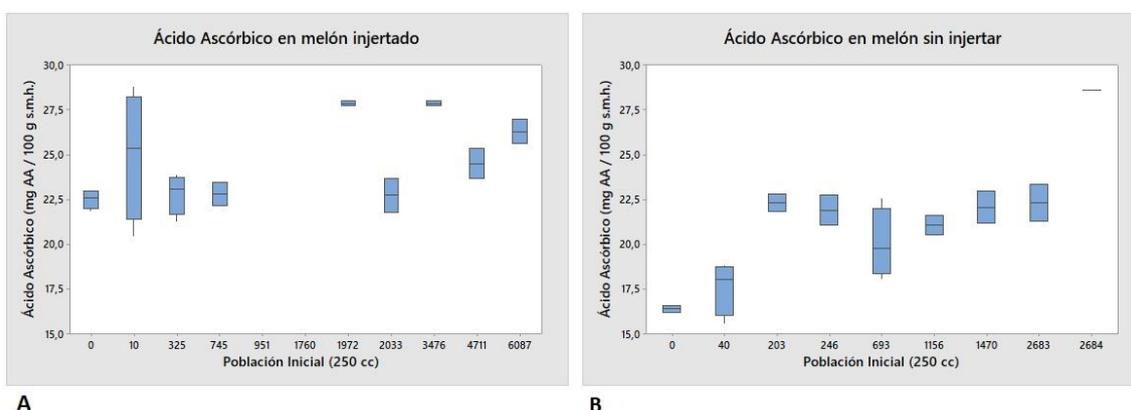


FIGURA 26 POBLACIÓN INICIAL VS. ÁCIDO ASCÓRBICO EN EL MELÓN

Ambos cultivos siguen la misma tendencia en la relación población inicial de nematodos y el contenido de ácido ascórbico. Por tanto, aunque la población y el número de muestras sean diferentes se observa que el aumento de la población inicial tiende a favorecer el contenido de ácido ascórbico del fruto.

El crecimiento de la densidad de nematodos ocasiona daños importantes en las raíces primarias originando condiciones de estrés para la planta. Para garantizar su supervivencia, la planta comienza a almacenar compuestos, como el ácido ascórbico (Heuvelink, 2005), y la concentración de estos en el fruto sube.

Los resultados concuerdan con los de los de años anteriores del proyecto. En el primer año, Nogales (2016) observó que la presencia de nematodos tenía la tendencia de aumentar el contenido en ácido ascórbico, y en el segundo, Cambras (2017) presenció que al aumentar la densidad de nematodos el ácido ascórbico, también aumentaba.

Además, al comparar el melón injertado con el no injertado se ve que la media de contenido de ácido ascórbico del patrón (177, 22 mg AA/100 g s.m.s) fue levemente superior al de la variedad (166,75 mg AA/100 g s.m.s), por tanto el efecto del injerto no parece afectar al contenido de ácido ascórbico, como se obtuvo en el trabajo de Fallik y Ilic (2014).

POBLACIÓN INICIAL VS. CONTENIDO DE CAROTENOS

Se observa en el cultivo sin injertar que el contenido de β -caroteno disminuye significativamente ($p < 0,05$) al mismo tiempo que aumenta la población inicial (**Figura 27.B**) (R^2 lineal de 20,24 %). El cultivo injertado el contenido de β -caroteno sobre materia húmeda presenta una tendencia negativa pero no significativa al aumentar la población de nematodos (**Figura 27.A**).

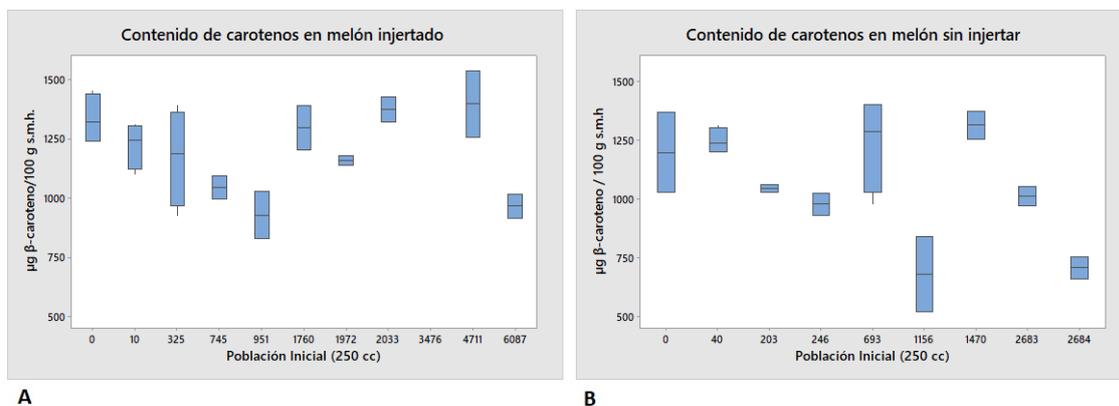


FIGURA 27 CONTENIDO DE CAROTENOS VS. POBLACIÓN INICIAL EN MELÓN

Cabe recalcar qué al transformar los datos a materia seca, se encontró una correlación negativa del 48,23% entre el melón injertado y el contenido de β -caroteno.

En densidades de población grandes, las raíces pueden verse seriamente afectadas e impidiendo la absorción normal de minerales imprescindibles para el buen desarrollo de la planta y fruto (Guérineau, 1998) ocasionando un bajo contenido en carotenos.

Estas mismas tendencia se observaron el año pasado en el trabajo de Cambras (2017), donde concluía que el aumento de densidad de nematodos provocaba un descenso del contenido de carotenos. No obstante, se contradice con la conclusiones del trabajo de Nogales (2016) realizado hace dos años donde se observó que la presencia de nematodos daba lugar a un aumento de los carotenoides.

Al igual que el contenido de ácido ascórbico, el contenido promedio de β -caroteno en el cultivo patrón (14.2 μg β -caroteno/ 100 g s.m.s.) es ligeramente superior al de la variedad (11.9 μg β -caroteno/ 100 g s.m.s.), al igual que lo comenta Fallik y Ilic (2014), respecto al uso de injertos de calabaza- híbrido y de melón en ciertas variedades de melón podían dar lugar a un aumento de hasta un 55-56% del contenido de α - caroteno y β -caroteno respecto a los patrones .

POBLACIÓN INICIAL VS. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC Y ABTS⁺)

Las muestras de melón no injertadas presentan una relación significativa ($p < 0,05$) entre la capacidad antioxidante del extracto acuoso (CUPRAC) y la población inicial de nematodos sobre materia seca. En los modelos de regresión podemos ver que al aumentar la población inicial la capacidad antioxidante también aumenta (**Figura 28.B**), con unas R^2 lineales de 34,69 % que

explican parte de la variación de los parámetros. Las muestras de melón injertadas no presentan ninguna tendencia definida.

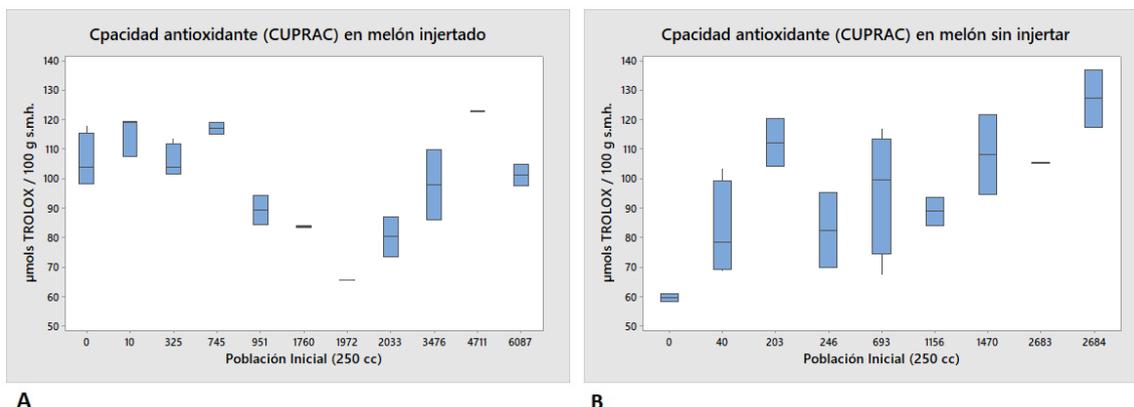


FIGURA 28 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC) VS. POBLACIÓN INICIAL EN MELÓN

En la capacidad antioxidante del extracto lipídico, existe una relación significativa ($p < 0,05$) con una tendencia inversa la capacidad antioxidante del extracto acuoso. Como se ve en el modelo de regresión al aumentar la población de nematodos, la capacidad antioxidante del extracto lipídico disminuye (Figura 29.B).

Esta relación solo se presenta en las muestras sin injertar mientras que en la de las muestras injertadas no hay relación significativa ($p < 0,05$).

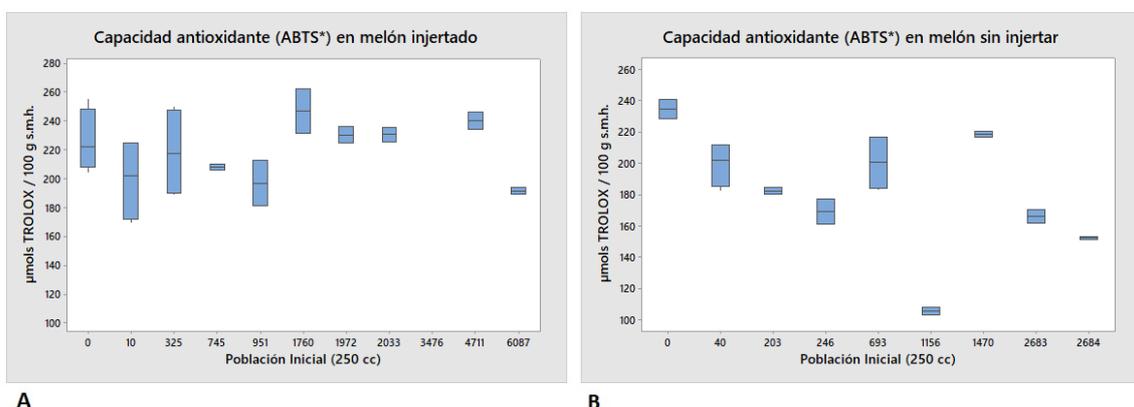


FIGURA 29 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (ABTS+) VS. POBLACIÓN INICIAL EN MELÓN

Teniendo en cuenta las tendencias de los compuestos correlacionados con la población inicial, se distingue que los antioxidantes (ácido ascórbico y β -caroteno) de cada extracto analizado (acuoso o lipídico) siguen la misma tendencia con la capacidad antioxidante correspondiente (CUPRAC y ABTS+). Al haber un crecimiento o disminución en el contenido de estos compuestos antioxidantes, el poder antioxidante de estos también se verá afectado, y al mismo tiempo la capacidad antioxidante global del extracto.

A pesar de los resultados de Nogales (2016) en el cual la presencia de nematodos disminuía la capacidad antioxidante (ORAC) del extracto acuoso y aumentaba la del extracto lipídico, y los de Cambras (2017), que al aumentar la densidad de nematodos disminuye la capacidad

antioxidante (ORAC), los datos obtenidos con correlaciones significativas en este año no se pueden comparar con estos debido a que fueron obtenidos con otros métodos (CUPRAC y ABTS⁺).

4.1.2. ÍNDICE DE AGALLAS

ÍNDICE DE AGALLAS VS. CONTENIDO DE CAROTENOS

Entre las relaciones del índice de agallas y el contenido de carotenoides, solo la del cultivo injertado demostró una tendencia significativa ($p < 0,05$). En la regresión cuadrática (45,35 %) vemos que el contenido de β -caroteno disminuye al mismo tiempo que aumenta el índice de agallas (**Figura 29.A**).

Y en el cultivo sin injertar no se ve que haya una relación ni una tendencia entre estos parámetros (**Figura 29.B**).

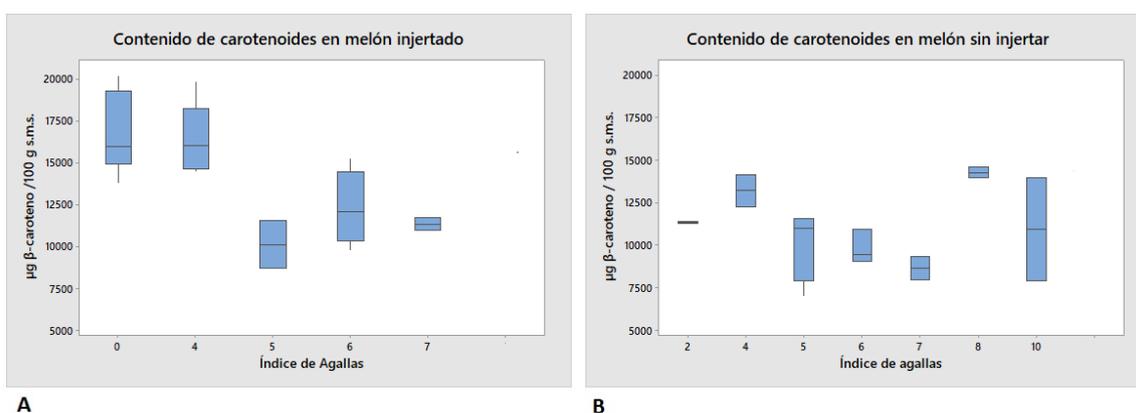


FIGURA 30 CONTENIDO DE CAROTENOS VS. ÍNDICE DE AGALLAS EN MELÓN

Al pasar a altos niveles de agallamiento se traduce a raíces más deformadas. El deterioro de estas impide que el melón disponga de las cantidades necesarias de agua y nutrientes que necesita en el periodo de crecimiento y durante la maduración (Zapata Nicolas et al., 1989) dificultando la síntesis de compuestos como el de los carotenos.

ÍNDICE DE AGALLAS VS. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC)

Los resultados muestran que la capacidad antioxidante del extracto acuoso del cultivo injertado obtenido por el método del CUPRAC, tiene una relación significativa ($p < 0,05$) con el índice de agallas. La capacidad antioxidante baja con el índice de agallas, es decir, al aumentar la infección de nematodos se aminora la capacidad antioxidante (**Figura 30. A**).

Además, esta correlación también se observa entre el índice de agallas y la capacidad antioxidante del extracto acuoso obtenida por el ORAC. Pero hay que resaltar que el modelo de

regresión de la capacidad antioxidante del CUPRAC explica más la variabilidad de este parámetro (57,07 % CUPRAC, 33,97 % ORAC).

Por otra parte, en el melón sin injertar no se ve que haya una relación ni una tendencia entre estos parámetros (**Figura 30.B**).

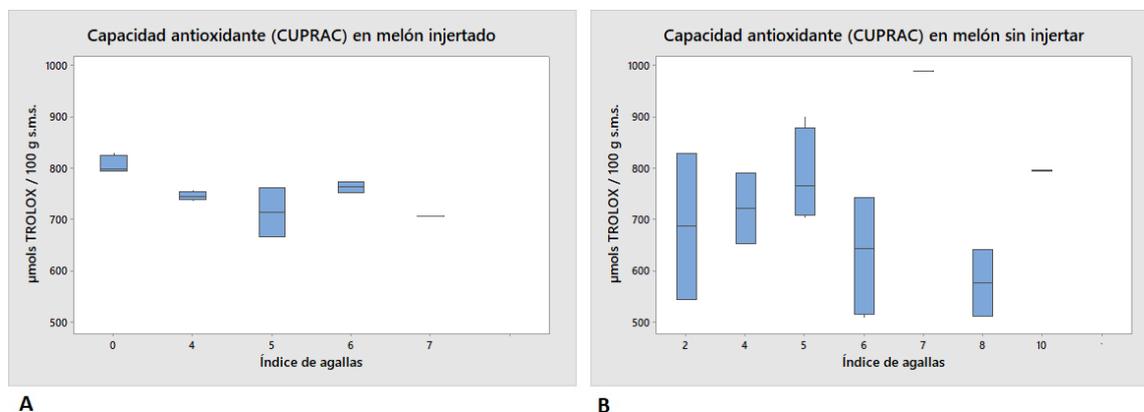


FIGURA 31 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC) VS. ÍNDICE DE AGALLAS EN MELÓN

Las malas formaciones de las raíces y sus alteraciones en el desarrollo y metabolismo de la planta, desencadenan en la modificación del contenido de antioxidantes y la capacidad antioxidante global que tienen en el fruto. Esto es debido a que ciertos antioxidantes, como los compuestos fenólicos, son productos de metabolismos secundarias de la planta (Santhakumar et al., 2018).

4.1.3. RELACIÓN ENTRE PARÁMETROS

Para empezar, existe una correlación negativa entre el ácido ascórbico y el contenido de carotenoides, teniendo mayor significancia en el cultivo injertado ($r = -0,595$). Esta relación puede deberse al factor de maduración del fruto. En este proceso el contenido de ácido ascórbico crece hasta llegar a un punto máximo y comienza a descender a medida que llega al punto óptimo de maduración (correlación con SST = $-0,475$) (Beaulieu, 2006). En cambio, los pigmentos carotenoides se concentran durante el proceso de maduración hasta el momento de la cosecha (correlación con STT = $0,68$) (Pareek, 2016).

También existe una relación positiva, en ambos cultivos (patrón $r = 0,761$ y variedad $r = 0,847$), entre el contenido de carotenoides y la capacidad antioxidante del extracto lipídico (ABTS⁺). Se esperaba obtener estos resultados porque el extracto analizado con el método ABTS⁺ fue el propio extracto de carotenos. Esta correlación demuestra la capacidad antioxidante de los carotenos que contiene el melón (Oroian y Escriche, 2015).

Asimismo, se obtuvo una relación significativa ($p < 0,05$) entre el ácido ascórbico y la capacidad antioxidante del extracto acuoso por el método del CUPRAC, cuando aumenta el contenido de ácido ascórbico aumenta la capacidad antioxidante ($r = 0,52$). Esto demuestra que el método de

valoración ha dado resultados concluyentes ya que se esperaba esta relación entre el contenido de este antioxidante y la capacidad antioxidante del extracto acuoso (Xammar y Donnamar, 2006).

Además, se observó que el contenido de caroteno en melón no injertado tiene una relación significativa ($p < 0,05$) con el incremento de color, obtenidos por Guerra, 2018, lo cual da lugar a un aumento del incremento de color al aumentar en contenido de carotenos ($r = 0,656$). Pero al mismo tiempo tiene una correlación negativa ($r = -0,563$) con la luminosidad, de manera que, al madurar, la fruta pasa de tener una coloración naranja claro opaco resultando en un naranja más intenso (Beaulieu, 2006). Durante el estudio se planteaba encontrar relaciones entre el β -caroteno y los parámetros de color ya que el β -caroteno es uno de los principales responsables del color (Saini et al., 2015). Se encuentra, también, una correlación entre la capacidad antioxidante a través del método ABTS y el incremento de color ($r = 0,69$). Esto se debe a su relación con el contenido de carotenos ya que ambos parámetros poseen una correlación positiva con los carotenos totales.

4.1.4. USO DEL INJERTO EN EL MELÓN

A pesar de las pocas muestras con densidad de población 0, observamos que las muestras injertadas contienen más carotenos, pero menos capacidad antioxidante de la fase lipídica (ABTS⁺) que las muestras sin injertar. La cantidad de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de la fase acuosa (CUPRAC y ORAC) es superior en las muestras injertadas mientras que el contenido de ácido ascórbico es levemente inferior. Dependiendo de la variedad del injerto (o en este caso de injerto o raíz original) otros estudios encuentran que puede darse una subida o bajada en el contenido de compuestos bioactivos (Rouphael et al., 2010).

4.1.5. COMPARACIÓN CON LOS AÑOS ANTERIORES

Los resultados del tercer año solo se pueden comprar con los del segundo debido a que en el primer año solo se tuvo en cuenta si había presencia de nematodo y no la densidad de la población como en los años anteriores.

Contrastando los resultados de los dos últimos años, el contenido de compuestos fenólicos y de ácido ascórbico, y capacidad antioxidante hidrosoluble no tienen ninguna tendencia clara ya que en un año las alteraciones no fueron significativas y en otro sí o la tendencia que siguen es totalmente opuesta en cada año. En cambio, la capacidad antioxidante liposoluble solo se estudió el último año por tanto no quedaría claro hacia dónde tiende por falta de resultados.

Por otra parte, el contenido de β -caroteno disminuye con la densidad de nematodos en los dos últimos años (**Tabla 9**).

TABLA 8 RESUMEN DE LOS RESULTADOS DEL MELÓN DE TODO EL PROYECTO

Año del proyecto	Ácido Ascórbico	Compuestos fenólicos	Capacidad Antioxidante Hidrosoluble	β -caroteno	Capacidad Antioxidante Liposoluble
1r año (Nogales, 2016)	↑ contenido	↑ contenido	↓ contenido (ORAC)	↑ contenido	↑ contenido (ORAC)
2n año (Cambras, 2017)	X	↓ contenido	↓ contenido (ORAC)	↓ contenido	-
3r año	↑ contenido	X	↑ contenido (CUPRAC)	↓ contenido	↓ contenido (ABTS ⁺)

Nota: X: no presenta ningún cambio significativo ($p > 0,05$); -: parámetro no estudiado; ↑: aumento; ↓: disminución.

4.2. EFECTO DE LOS NEMATODOS E INJERTO EN LOS COMPONENTES BIOACTIVOS EN TOMATE

Los resultados del estudio estadístico reflejan que existen correlaciones significativas ($p < 0,05$) entre los parámetros de población de nematodos y los parámetros estudiados (**Tabla 10**).

TABLA 9 CORRELACIONES ENTRE FACTOR NEMATODO Y PARÁMETROS ESTUDIADOS DEL TOMATE

	Tomate Patrón (Injertado)			Tomate Variedad (Sin Injerto)		
	Población Inicial (250cc)	Población Final (250cc)	Índice de Agallamiento	Población Inicial (250cc)	Población Final (250cc)	Índice de Agallamiento
Población Final (250cc)	0,569 0			-0,381 0		
Índice de Agallas	0,571 0	0,059 0,667		0,020 0,850	0,020 0,850	
CUPRAC (μ moles TROLOX /100 g s.m.h)	0,497 0,05	0,549 0,028	0,070 0,813	0,246 0,246	-0,013 0,951	0,220 0,302
ABTS+ (μ moles TROLOX /100 g s.m.h)	-0,034 0,900	0,206 0,445	-0,150 0,609	-0,311 0,138	-0,318 0,130	-0,615 0,001

Nota: las correlaciones se dividen en los grupos: Población inicial (verde), Población final (rojo) e índice de agallas (azul) ($p < 0,05$). s.m.h: sobre materia húmeda; s.m.s.: sobre materia seca

4.2.1. POBLACIÓN INICIAL

POBLACIÓN INICIAL VS. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Los datos obtenidos de las correlaciones del tomate injertado muestran que existe una relación significativa ($p < 0,05$) entre población inicial de nematodos y la capacidad antioxidante del extracto acuoso (CUPRAC).

En esta relación, el aumento de la población inicial comporta un aumento de la capacidad antioxidante, dando así una correlación positiva con una $r = 0,497$ (**Figura 31.A**). El modelo de regresión cuadrática realizado nos explica un 25,17 % de la variación de la capacidad antioxidante. En el cultivo sin injertar sigue una tendencia positiva pero no significativa ($p > 0,05$) (**Figura 31.B**).

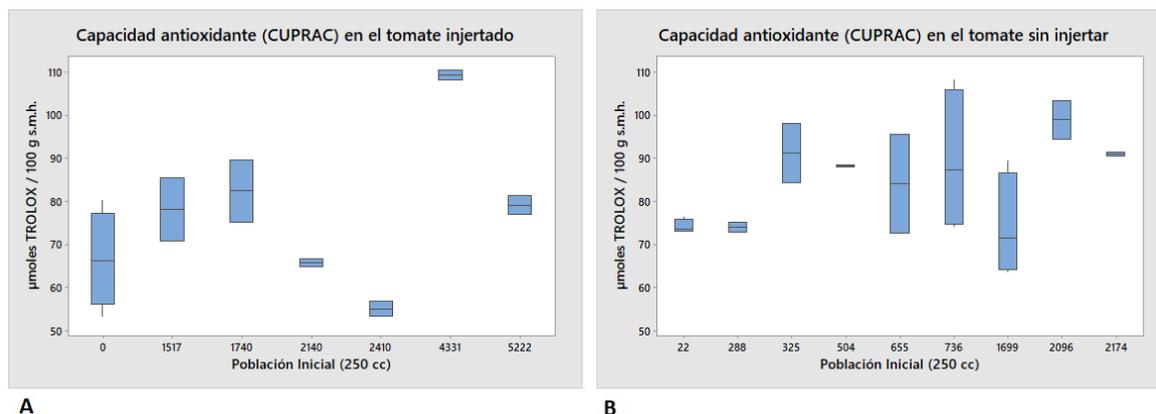


FIGURA 32 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC) VS. POBLACIÓN INICIAL EN TOMATE

El desarrollo de las agallas en las raíces se intensifica al haber más densidad de nematodos ($p < 0,05$). Esto interfiere el en buen desarrollo de la planta y causa una condición de estrés. En estas situaciones, las plantas acumulan compuestos para la reproducción y así sobrevivir a condiciones adversas (Marrero Curbelo, 1996). El almacenamiento de más antioxidantes o de elementos con gran capacidad antioxidante puede ser la causa de la intensificación de la capacidad antioxidante (CUPRAC).

En el primer año del estudio, Márquez (2016) observó que la presencia de nematodos daba lugar a un aumento de la capacidad antioxidante pero al año siguiente, se vio una disminución de la capacidad antioxidante al aumentar la densidad de nematodos en tomate injertado Cambras (2017). Aunque se dispongan de los datos de los años anteriores no podemos compararlos visto que se obtuvieron con otro método analítico y los parámetros de nematodos son diferentes. Solo podemos añadir que sigue una tendencia similar al del primer año.

4.2.2. ÍNDICE DE AGALLAS

ÍNDICE DE AGALLAS VS. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (ABTS⁺)

En el cultivo de tomate sin injerto, observamos una correlación ($p > 0,05$) negativa con una r de Pearson de $-0,651$ entre el índice de agallas y la capacidad antioxidante de extracto lipídico (ABTS⁺). En la **Figura 32.B** vemos que al aumentar en grado de índice de agallas disminuye la capacidad antioxidante del extracto lipídico (ABTS⁺). La regresión cuadrática explica la variación de la capacidad antioxidante un 37,91 % sobre materia fresca.

En el caso del cultivo de tomate injertado no se aprecia ninguna correlación significativa ($p > 0,05$) (**Figura 32.A**).

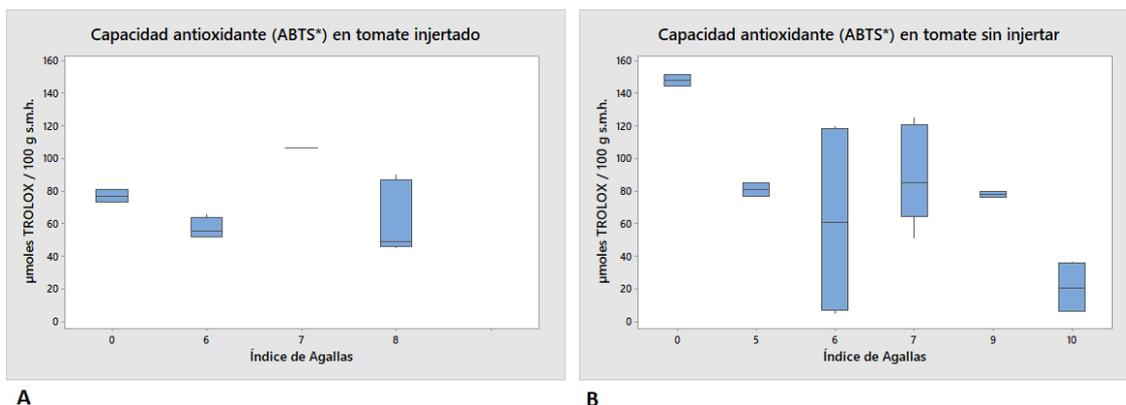


FIGURA 33 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (ABTS⁺) VS. ÍNDICE DE AGALLAS EN TOMATE

Al crecer la densidad de población puede inducir a más niveles de agallamiento (r entre Población inicial e Índice de agallas = 0,571) y, al mismo, a deformaciones importantes en las raíces. Esto comporta dificultades a la captación de nutrientes y agua. Estas complicaciones deterioran la capacidad antioxidante de la fase lipídica (ABTS⁺) debido a que la disponibilidad hídrica es fundamental para el desarrollo del tomate (Marrero Curbelo, 1996), y complica la absorción de nutrientes como el potasio (contenido de potasio menor en tomates no injertados (Guerra, 2018)) que puede elevar el contenido de carotenos (Kyriacou et al., 2018).

4.2.3. RELACIÓN ENTRE PARÁMETROS

Las correlaciones obtenidas muestran que hay una correlación significativa ($p < 0,05$) entre el ácido ascórbico y los fenoles totales en las muestras injertadas ($r = 0,592$). Además, presenta una correlación positiva con el contenido de carotenos con una r 0,631. En el contenido de compuestos fenólicos totales se aprecia una relación significativa ($p < 0,05$) con los carotenos ($r = 0,794$).

El contenido de los tres depende de la maduración del tomate. En consecuencia, al llegar a las últimas etapas de este proceso, el contenido de licopeno aumenta, del mismo modo que ácido ascórbico y los fenoles totales, pero estos tienen un incremento más sutil. En otras palabras, su síntesis ocurre paralelamente en la madurez del tomate (García, 2014).

El tomate patrón también presenta una correlación positiva ($r = 0,865$) entre el ácido ascórbico y la capacidad antioxidante del extracto acuoso por el método CUPRAC. Esta correlación demuestra que existe una relación importante entre estos dos parámetros y que el método de análisis de la capacidad antioxidante CUPRAC ha sido válida para valorar la capacidad antioxidante de compuesto antioxidantes como en el caso del ácido ascórbico (Cömert y Gökmen, 2018). La misma correlación se da también en las muestras no injertadas $r = 0,809$.

4.2.4. USO DEL INJERTO EN EL TOMATE

En el caso del tomate, solo se estudiaron muestras injertadas con Población inicial 0. La cantidad de bioactivos y la capacidad antioxidante (CUPRAC y ABTS⁺) eran inferiores al promedio de las muestras sin injertar con Índice de agallas 0, a excepción de la capacidad antioxidante (ORAC) que se encontraba por encima.

El uso de injerto puede alterar tanto positivamente como negativamente a la calidad dependiendo de la variedad de este (Rouphael et al., 2010). En este caso, el injerto empeoró la calidad del tomate, si se considera el contenido de nutrientes bioactivos donde disminuye un 15%, mismo escenario que comenta Fallik y Ilic, 2014.

4.2.5. COMPARACIÓN CON LOS AÑOS ANTERIORES

El contenido de fenoles y la capacidad antioxidante liposoluble no tiene una tendencia clara porque los resultados difieren en ellos dos años. No obstante, el contenido de ácido ascórbico y de licopeno no se ven afectados por la densidad de población, y la capacidad antioxidante hidrosoluble, a pesar de proceder de diferentes métodos analíticos, disminuye al aumentar la población (**Tabla 11**).

TABLA 10 RESUMEN DE LOS RESULTADOS DEL TOMATE DE TODO EL PROYECTO

Año del proyecto	Ácido Ascórbico	Fenoles	Capacidad Antioxidante Hidrosoluble	Carotenos	Capacidad Antioxidante Liposoluble
1r año (Márquez, 2016)	X	-	-	↑ contenido	↑ contenido (ORAC)
2n año (Cambras, 2017)	X	↓ contenido	↓ contenido (ORAC)	X	-
3r año	X	X	↓ contenido (CUPRAC)	X	↑ contenido (ABTS ⁺)

Nota: X: no presenta ningún cambio significativo ($p < 0,05$); -: parámetro no estudiado; ↑: aumento; ↓: disminución.



5. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos permiten concluir que la densidad de población de *Meloidogyne incognita* no afecta de forma importante al contenido de compuestos bioactivos del melón Cantaloup.

Hay que considerar que:

- El aumento de la población de nematodos produce un aumento en el contenido de ácido ascórbico y un descenso en el contenido de β -caroteno, independientemente del uso del injerto.
- El aumento de la población de nematodos causa el incremento de la capacidad antioxidante del extracto acuoso (CUPRAC) y la disminución de la capacidad antioxidante del extracto lipídico (ABTS ⁺) en las muestras sin injerto.
- Al aumentar el índice de agallas disminuye el contenido de β -caroteno y la capacidad antioxidante del extracto acuoso (CUPRAC).
- La densidad de nematodos no varió el contenido de compuestos fenólicos totales

Por otra parte, tanto la densidad de población de *Meloidogyne incognita* como índice de agallas de las raíces en el tomate Durinta no comporta ninguna modificación significativa en la calidad nutricional.

Hay que considerar que:

- El aumento de la población de nematodos causa el incremento de la capacidad antioxidante del extracto acuoso (CUPRAC) en el tomate injertado.
- El incremento del índice de agallas en las raíces en el tomate variedad disminuye la capacidad antioxidante del extracto lipídico (ABTS ⁺).
- El contenido de ácido ascórbico, fenoles totales y licopeno no varió según la densidad de nematodo

Teniendo en cuenta los datos del último año, concluimos que la densidad de nematodos no provoca variaciones significativas en los cultivos de melón Cantaloup y de tomate Durinta.

Como conclusión de todo el proyecto, la densidad de nematodos y el uso del injerto causa alteraciones no relevantes a nivel general en el contenido de compuestos bioactivos del melón Cantaloup y del tomate Durinta.

6. BIBLIOGRAFIA

- Almonacid, G.F., 2016. Evaluación de la variación del contenido de polifenoles en alimentos vegetales, en función del método de conservación. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza, República Argentina.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Bektaşoğlu, B., Bener, M., 2008. Cupric ion reducing antioxidant capacity assay for food antioxidants: Vitamins, polyphenolics, and flavonoids in food extracts. *Methods Mol. Biol.* 477, 163-193. https://doi.org/10.1007/978-1-60327-517-0_14
- Bastías M, J.M., Cepero B, Y., 2016. La vitamina C como un eficaz micronutriente en la fortificación de alimentos. *Rev. Chil. Nutr.* 43, 81-86. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000100012>
- Beaulieu, J.C., 2006. Volatile changes in cantaloupe during growth, maturation, and in stored fresh-cuts prepared from fruit harvested at various maturities. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 131, 127-139. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2003.628.102>
- Biesalski, H.K., Dragsted, L.O., Elmadsfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., Walter, P., Weber, P., 2009. Bioactive compounds: Definition and assessment of activity. *Nutrition* 25, 1202-1205. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>
- Bíró-Stingli, T., Tóth, F., 2011. The effect of Trifender (*Trichoderma asperellum*) and the nematode-trapping fungus (*Arthrobotrys oligospora fresenius*) on the number of the northern root-knot nematode (*Meloidogyne hapla* chitwood) in green pepper. *J. Plant Prot. Res.* <https://doi.org/10.2478/v10045-011-0060-6>
- Borghese, C., 2016. Alteraciones en el color y en las propiedades nutricionales de zanahoria como respuesta al parasitismo del nematodo de las agallas (*Meloidogyne incognita*). Encuentro Jóvenes Investig. Laboratorio de Investigaciones en Fisiología y Biología Molecular Vegetal (LIFiBVe), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.
- Cambras, M., 2017. Efecte de l'empelt i densitat de *Meloidogyne* spp. sobre el contingut de compostos bioactius de tomàquet «Durinta» i meló cantaloupe «Paloma». Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. Universitat Politècnica de Catalunya, Castelldefels, España. <https://doi.org/http://hdl.handle.net/2117/107287>
- Collange, B., Navarrete, M., Peyre, G., Mateille, T., Tchamitchian, M., 2011. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis. *Crop Prot.* 30, 1251-1262. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.04.016>
- Cömert, E.D., Gökmen, V., 2018. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. *Food Res. Int.* 105, 76-93. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.10.056>
- Fallik, E., Ilic, Z., 2014. Grafted vegetables – the influence of rootstock and scion on postharvest quality. *Folia Hortic.* 26, 79-90. <https://doi.org/10.2478/fhort-2014-0008>



- García, V., 2014. Estudio del Contenido de Compuestos Bioactivos en Tomate: Evaluación de la Materia Prima, Efectos del Tratamiento Tecnológico y Caracterización del Subproducto. Universidad de Murcia.
- Ghasemnezhad, M., Sherafati, M., Payvast, G.A., 2011. Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *J. Funct. Foods* 3, 44-49.
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2011.02.002>
- Gisbert, C., Gammoudi, N., Munera, M., Giné, A., Pocurull, M., Sorribas, F.J., Picó, M.B., 2017. Evaluation of two potential *Cucumis* spp. resources for grafting melons. *Acta Hortic.* 1151, 157-161. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1151.25>
- Gómez, M., Montes, M., 2005. Manejo de Nematodos Endoparásitos: Proyecciones Futuras 23.
- Gracia, M.A., 2007. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, México.
- Guérineau, C., 1998. Le melon, pour un produit de qualité. Editions CTIFL, Paris.
- Guerra, D., 2018. Efecto de los nematodos y el injerto en la composición nutricional de melón y tomate. Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. Universitat Politècnica de Catalunya, Castelldefels, España. <https://doi.org/http://hdl.handle.net/2117/122466>
- Guil-Guerrero, J.L., Reboloso-Fuentes, M.M., 2009. Nutrient composition and antioxidant activity of eight tomato (*Lycopersicon esculentum*) varieties. *J. Food Compos. Anal.* 22, 123-129. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2008.10.012>
- Heuvelink, E., 2005. Tomatoes. CABI Pub, Wallingford, Oxfordshire :
- Jones, J.B., Jones, J.P., Stall, R.E., Zitter, T.A., 2001. Plagas y enfermedades del tomate. Mundi-Prensa, Barcelona.
- Kyriacou, M.C., Leskovar, D.I., Colla, G., Roupheal, Y., 2018. Watermelon and melon fruit quality: The genotypic and agro-environmental factors implicated. *Sci. Hortic.* (Amsterdam). 234, 393-408. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.01.032>
- Márquez, C., 2016. Efecte de Meloidogyne i de l'empelt sobre la qualitat del tomàquet (*Solanum lycopersicum* v. *Durinta*). Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. Universitat Politècnica de Catalunya, Castelldefels, España.
<https://doi.org/http://hdl.handle.net/2117/110552>
- Marrero Curbelo, R., 1996. Formación y maduración del tomate. Ministerio de Economía y Hacienda. Dirección General de Comercio Exterior, Madrid .
- Müller, L., Fröhlich, K., Böhm, V., 2011. Comparative antioxidant activities of carotenoids measured by ferric reducing antioxidant power (FRAP), ABTS bleaching assay (α TEAC), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. *Food Chem.* 129, 139-148.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.045>
- Nogales, S., 2016. Efecte de Meloidogyne i de l'empelt sobre els compostos bioactius del melò cantaloipe. Escola Superior d'Agricultura de Barcelona. Universitat Politècnica de Catalunya, Castelldefels, España. <https://doi.org/http://hdl.handle.net/2117/110457>

- Oro, J.R.D.X., Donnamaría, M.C., 2006. Acción farmacológica, biofísicoquímica y estructura dinámica de la vitamina C. *Acta Farm. Bonaer.* 25, 145-154.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15446/abc.v20n3.46721>
- Oroian, M., Escriche, I., 2015. Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Res. Int.* <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>
- Pareek, S., 2016. Postharvest Ripening Physiology of Crops, en: *Postharvest Ripening Physiology of Crop.* pp. 1-48.
- Parrilla, R., 1984. Meloidogyne (Nemátodos de los nódulos radiculares). *Horticultura* 13, 41-47.
- Peñarrieta, J.M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J.L., Bravo, J.A., 2014. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Rev. Boliv. Química* 31, 68-81.
- Pinela, J., Barros, L., Carvalho, A.M., Ferreira, I.C.F.R., 2012. Nutritional composition and antioxidant activity of four tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) farmerâ€™ varieties in Northeastern Portugal homegardens. *Food Chem. Toxicol.* 50, 829-834.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.11.045>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biol. Med.* 26, 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Romero, F., Madrid, M.C.M., Pretel, M.T., 2003. Factores precosecha determinantes de la calidad y conservación en poscosecha de productos agrarios 91-96.
- Rouphael, Y., Schwarz, D., Krumbein, A., Colla, G., 2010. Impact of grafting on product quality of fruit vegetables. *Sci. Hortic. (Amsterdam)*. 127, 172-179.
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.09.001>
- Saini, R.K., Nile, S.H., Park, S.W., 2015. Carotenoids from fruits and vegetables: Chemistry, analysis, occurrence, bioavailability and biological activities. *Food Res. Int.* 76, 735-750.
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.07.047>
- Santhakumar, A.B., Battino, M., Alvarez-Suarez, J.M., 2018. Dietary polyphenols: Structures, bioavailability and protective effects against atherosclerosis. *Food Chem. Toxicol.* 113, 49-65. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.022>
- Tanumihardjo, S.A., 2013. Carotenoids and human health. *Carotenoids Hum. Heal.* 55, 1-331.
<https://doi.org/10.1007/978-1-62703-203-2>
- Taylor, A.L., Sasser, . N, 1978. Biology, identification, and control of root-knot nematodes. *J. Nematol.* 331, 331-338. <https://doi.org/10.1094/PD-64-36>.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., Hawkins Byrne, D., 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal.* 19, 669-675.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.01.003>
- Zapata Nicolas, M., Cabrera Fernandez, P., Bañon Arias, S., Roth Martinez, P., 1989. *El Melón*, 1.ª ed. Mundi-Prensa, Madrid.



Zitter, T.A., Hopkins, D.L., Thomas, C.E., 2004. Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas. Ediciones Mundi-prensa, México.

Zulueta, A., Esteve, M.J., Frígola, A., 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. Food Chem. 114, 310-316.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.033>