



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES "ZARAGOZA"

ESTRATEGIAS DE PRODUCCIÓN DE DOS ESPECIES AROMÁTICAS

Ocimum basilicum L. Y *Origanum vulgare* L. PARA SU
ESTABLECIMIENTO EN UNA FARMACIA VIVIENTE.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A

P R E S E N T A

YANELI DEL CARMEN

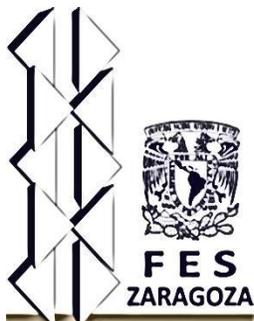
JIMENEZ JIMENEZ

Director: Dra. María de las Nieves Rodríguez Mendoza.

Asesor interno: Dr. Carlos Castillejos Cruz.

Unidad de Investigación en Sistemática Vegetal y Suelo

Septiembre 2012.





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**ESTA TESIS SE LLEVÓ A CABO EN EL COLEGIO DE POSTGRADUADOS
CAMPUS MONTECILLO, DENTRO DE LA LINEA PRIORITARIA DE
INVESTIGACIÓN 4. AGRONEGOCIOS, AGROECOTURISMO Y
ARQUITECTURA DEL PAISAJE**

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y Facultad de Estudios superiores Zaragoza, por otorgarme el privilegio de aprender y forjarme profesionalmente.

Al Colegio de Postgraduados por abrirme sus puertas para realizar mí trabajo de tesis.

A la Dra. María de las Nieves Rodríguez Mendoza, por la dirección de este trabajo, por su apoyo, paciencia, consejos y por enseñarme que las metas siempre deben cumplirse.

A mi asesor de tesis, Dr. Carlos Castillejos Cruz, a quien admiro por su inteligencia, paciencia y dedicación. Gracias por su tiempo, apoyo incondicional y por su interés en este trabajo.

A mis sinodales, el Dr. Gerardo Cruz, al Biól. Juan Romero y al M en C. Jorge Alberto Gutiérrez, por el tiempo dedicado para leer y hacer las observaciones correspondientes a este trabajo.

Al Laboratorio de Nutrición Vegetal del Colegio de Postgraduados, en particular a Lupita y a Wenses quienes con su experiencia y conocimientos hicieron esta experiencia aún más enriquecedora.

Al Dr. Julio Sánchez Escudero, por el apoyo brindado para que este trabajo pudiera realizarse exitosamente.

A la Dra. Libia Trejo-Téllez, al Dr. Marco Soto y a la M. en C. Alejandrina, por brindarme su apoyo, tiempo y experiencia.

Al Sr. Juan Carlos Cedillo por su valiosa ayuda y amena compañía durante el tiempo que trabajé en el invernadero.

Al M. en C. Ramiro Ríos Gómez, por facilitarme un espacio y el material necesario para trabajar en la facultad.

Al Dr. Carlos y a la M. en C. Sonia, por su amistad, por cada momento compartido y por abrirme las puertas de su hogar como si fuera un miembro más de su familia. Se han vuelto un ejemplo de vida para mí.

A la Dra. Nieves y a su familia, por todas sus atenciones y por recibirme en su casa en repetidas ocasiones.

A Miguel Equihua, quien además de ser un excelente estudiante, es un excelente compañero y hace que las horas de trabajo no sean tan pesadas.

A Alonso Rentería, por cuidar de mis plantas, y por reírse de todas las tonterías que platicábamos en el invernadero.

A todos los amigos que formaron parte de mi vida durante la carrera, pero especialmente a Corina, Giovanna, Sinai, Jaime, Lupe, Isabel y Luis por compartir conmigo tantos momentos maravillosos, horas de pláticas, risas y por qué no también de tristeza. Gracias porque hicieron de la carrera la mejor experiencia de mi vida.

A mis compañeros biólogos Cristóbal, Pavel y Christian, porque a pesar de ser poco el tiempo que compartimos han dejado en mí recuerdos muy gratos.

Dedicatorias

A mi papá, porque a pesar de la distancia siempre has estado conmigo, y sin tu gran esfuerzo este sueño no se hubiera hecho realidad. Gracias porque con tu ejemplo me has mostrado que no hay imposibles.

A mi mamá, por tu infinito amor y paciencia, gracias por tus consejos y palabras de aliento que me impulsan cada día a seguir adelante, y por enseñarme que la vida es maravillosa si la sabes vivir.

A mis hermanos: Rodolfo, Yeraldí y Sofía, porque a pesar de mi mal humor siempre están conmigo dándome ánimos. Ustedes son la alegría en mi vida, siempre saben hacerme sonreír, pero sobre todo porque junto con mis papás son mi inspiración y los amo inmensamente.

A mis abuelitos, tíos y primos, porque me han enseñado que la familia es lo más importante y porque sé que siempre puedo contar con ustedes.

A Mario, porque siempre estuviste conmigo apoyándome, por reír y llorar conmigo, porque siempre tuviste las palabras perfectas para levantarme el ánimo. Gracias por tomarme de la mano y no dejarme caer.

A ti Jaime, gracias por compartir esta aventura conmigo, por cada día que trabajamos juntos y por cada momento en que compartimos opiniones, emociones y sentimientos, por hacerme ver mis errores, pero sobre todo por apoyarme siempre que lo necesite. Eres una persona increíble.

Y Finalmente pero no menos importante, doy gracias a Dios por darme la oportunidad de llegar hasta este momento y permitirme conocer a tantas personas maravillosas que me han ayudado a cumplir mi meta.

CONTENIDO

1. Introducción.....	1
2. Objetivo general.....	3
2.1 Objetivos particulares.....	3
3. Hipótesis.....	3
4. Antecedentes.....	4
4.1 Las plantas aromáticas.....	4
4.1.2 Importancia económica internacional.....	5
4.1.3 Importancia económica nacional.....	5
4.2 Conocimiento tradicional de las plantas aromáticas.....	7
4.2.1 Farmacias vivientes.....	8
4.3 Nutrición y fertilización.....	9
4.3.1 Ácidos húmicos y fúlvicos.....	10
4.4 Sustratos.....	12
4.4.1 Vermicompost como sustrato en la producción de plantas aromáticas	12
4.5 Rizobacterias.....	13
4.5.1 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	14
4.6 Aceites esenciales.....	16
4.6.1 Importancia económica de los aceites esenciales.....	17
4.6.2 Composición Química.....	17
4.6.3 Aceite esencial de Albahaca.....	18
4.6.4 Aceite esencial de Orégano.....	19
4.7 Índices de crecimiento.....	20

5. Materiales y métodos.....	22
5.1 Pruebas de germinación	22
5.2 Tratamientos de riego e inoculación.....	22
5.3 Análisis morfológico y nutrimental.....	23
5.4 Índices de crecimiento.....	24
5.5 Extracción y cuantificación de aceites esenciales.....	24
5.6 Establecimiento de la farmacia viviente	25
6. Resultados y análisis de resultados.....	26
6.1 Pruebas de germinación.....	26
6.2 Análisis morfológico.....	27
6.3 Germinación en almacigo.....	30
6.4 Análisis de crecimiento en albahaca.....	31
6.4.1 Contenido de clorofila.....	32
6.4.2 Diámetro del tallo.....	33
6.4.3 Altura de la planta.....	35
6.4.4 Volumen radical.....	36
6.4.5 Área foliar.....	38
6.4.6 Peso seco.....	39
6.5 Análisis Nutrimental.....	41
6.5.1 Macro y micronutrientes.....	41
6.5.2 Nitrógeno total.....	43
6.6 Índices de crecimiento.....	44
6.6.1 Tasa de crecimiento relativo.....	44
6.6.2 Razón de área foliar.....	45
6.6.3 Área específica foliar.....	47

6.6.4 Proporción de la masa foliar.....	48
6.6.5 Tasa de asimilación neta.....	50
6.7 Extracción de aceites esenciales.....	51
6.7.1 Cuantificación de aceite esencial de albahaca.....	51
6.7.2 Caracterización del aceite esencial de albahaca.....	52
6.8 Establecimiento de la farmacia viviente.....	54
6.8.1 Comparación del cultivo de albahaca en invernadero y en una farmacia viviente.....	54
6.8.2 Establecimiento de las especies que conforman la farmacia viviente.....	56
7. Conclusiones.....	59
8. Literatura citada.....	60
9. Apéndice.....	69

Núm.	Figuras	Pág.
1	Porcentaje de germinación en semillas de albahaca y orégano en cajas petri con y sin la inoculación de <i>Pseudomonas fluorescens</i> .	27
2	Tamaño de plúmula y radícula de albahaca y orégano comparando los dos distintos tratamientos.	29
3	Porcentaje de germinación en semillas de albahaca y orégano sembradas en almacigo.	31
4	Plantas de orégano que presentan daño en la raíz; se aprecia que de forma paulatina el daño inicia en la raíz y posteriormente la planta muere.	32
5	Comparación del contenido de clorofila (Lecturas SPAD) en plantas de albahaca, con y sin la inoculación de <i>Pseudomonas fluorescens</i> .	33
6	Diámetro del tallo en plantas de albahaca en función a los distintos tratamientos de inoculación y riego.	35
7	Altura de las plantas de albahaca, con distinto riego e inoculación.	36
8	Volumen radical de las plantas de albahaca con distintos tratamientos de riego e inoculación.	
9	Área Foliar de las plantas de albahaca de acuerdo a los distintos tratamientos de inoculación y riego.	37
10	Peso seco total de las plantas de albahaca por efecto de la fertilización con ácidos húmicos y fúlvicos y la inoculación con <i>P. fluorescens</i>	40
11	Macronutrientes en las plantas de albahaca por efecto de la fertilización con ácidos húmicos y fúlvicos y la inoculación con <i>P. fluorescens</i> .	42
12	Micronutrientes en las plantas de albahaca por efecto de la fertilización con ácidos húmicos y fúlvicos y la inoculación con <i>P. fluorescens</i> .	42
13	Porcentaje de nitrógeno total en las plantas de albahaca	44
14	Tasa de Crecimiento Relativo (RGR) de las plantas de albahaca con distintos tratamientos de inoculación y riego.	45
15	Razón de área foliar del cultivo de albahaca con distintos tratamientos de inoculación y riego.	46
16	Área específica foliar en hojas de Albahaca con relación al riego y la inoculación.	48

17	Proporción de la masa foliar en las plantas de albahaca con distintos tratamientos de riego e inoculación.	49
18	Tasa de asimilación neta en las plantas de albahaca en función a la inoculación con <i>P. fluorescens</i> y riego con ácidos húmicos y fúlvicos.	51
19	Rendimiento en gramos de aceites esenciales por cada 19 gramos de materia fresca en plantas de albahaca considerando los tratamientos de inoculación y riego.	52
20	Altura de las plantas de albahaca con distintos tratamientos de inoculación y riego en condiciones de invernadero, y plantas de albahaca utilizadas en la farmacia viviente.	55
21	Diámetro del tallo de las plantas de albahaca, comparando el cultivo en invernadero y el establecimiento en una farmacia viviente	55
22	Concentración de clorofila (lecturas SPAD) de las plantas de albahaca cultivadas en condiciones de invernadero en comparación con las plantas utilizadas para el establecimiento de la farmacia viviente.	56
23	Altura de las distintas especies utilizadas para el establecimiento de la farmacia viviente.	57
24	Diámetro del tallo de las distintas especies utilizadas para el establecimiento de la farmacia viviente.	58
25	Concentración de clorofila (lecturas SPAD) en las distintas especies utilizadas para el establecimiento de la farmacia viviente.	58

Cuadros

Núm.		Pág.
1	Parámetros morfológicos de cada una de las especies con los distintos tratamientos.	28
2	Perfil cromatográfico del aceite esencial de albahaca.	53

Resumen

Para establecer las estrategias de producción de dos especies aromáticas *Ocimum basilicum* L. y *Origanum vulgare* L. en una farmacia viviente, se estudió el desarrollo postemergente, nutrición y rendimiento de aceites esenciales en función de la inoculación con las rizobacterias *Pseudomonas fluorescens* y el riego con ácidos húmicos y fúlvicos, para lo anterior se realizaron pruebas de porcentaje de germinación para cada especie, y se evaluó la morfología de las plantas midiendo la cantidad de clorofila (lecturas SPAD), diámetro del tallo, altura, volumen radical, área foliar y peso seco. Asimismo, se realizó el análisis nutrimental para determinar la cantidad de K, Mg, Na, P, S, B, Fe, Zn, Mn y N. Se calculó tasa de crecimiento relativo (RGR), razón de área foliar (LAR), área foliar específica (SLA), proporción de masa foliar (LMF) y tasa de asimilación neta (NAR). Se realizó una hidrodestilación para determinar la cantidad de aceite esencial producido según el tratamiento y se identificaron los principales componentes. Se estableció la especie *Ocimum basilicum* en una farmacia viviente y se comparó su crecimiento con plantas cultivadas en el invernadero. Se encontró que para la viabilidad no existe diferencia entre los tratamientos de inoculación. En los almácigos el mayor porcentaje de germinación se obtuvo en las semillas de albahaca inoculada y en el orégano sin inocular. Durante el trasplante a macetas con vermicompost-fibra de coco, el orégano no sobrevivió mientras que las plantas de albahaca lograron establecerse. El riego con ácidos húmicos y fúlvicos incrementan la concentración de clorofila. Tanto los ácidos como la inoculación con la rizobacteria incrementan el diámetro del tallo, volumen radical y el área foliar de forma independiente pero al combinarse, estos parámetros disminuyen, para la altura de la planta todos los tratamientos tienen efecto positivo y el mayor peso seco se obtuvo al combinar la inoculación con el riego. Tanto para micro y macronutrientes así como para nitrógeno el mejor tratamiento fue aquel en el que se inoculó y se regó con agua. De igual forma para los índices de crecimiento el tratamiento de inoculación y riego con agua incrementan los valores en RGR, LAR, NAR, al combinar los tratamientos de riego e inoculación se aumentó NAR y SLA y para LMF todos los tratamientos presentaron efectos positivos. En cuanto a la extracción de aceites esenciales el tratamiento donde se inoculó y se regó con agua presentó mayor cantidad de aceites esenciales. Al comparar el crecimiento de albahaca en la farmacia viviente y en el invernadero se observa mayor altura, menor diámetro y una similar concentración de clorofila. Al establecer las especies en la farmacia viviente se observó un incremento gradual en altura, diámetro y concentración constante de clorofila a partir de los 30 días.

1. Introducción

El ser humano desde tiempos remotos ha aprovechado los recursos que le brinda su entorno, uno de ellos son las plantas, dentro de las cuales están incluidas las que tienen propiedades aromáticas y medicinales (PAM). El uso de éstas principalmente ha sido en la medicina tradicional, la alimentación y recientemente en la industria aromática y farmacéutica (García-Nieto, 2000; Moré-Palos y Colom-Gorgues, 2002). En los últimos años el desarrollo de las técnicas de extracción y el conocimiento que se tiene al respecto de las propiedades de algunos aceites esenciales, ha generado la necesidad de establecer protocolos de extracción, purificación e identificación más eficientes que permitan valorar la calidad, el rendimiento y la producción de las sustancias presentes en las plantas, además de establecer las mejores condiciones para el cultivo, selección artificial y mejoramiento genético de las especies que producen dichas sustancias (Sendín *et al.*, 2000). Adicionalmente a lo anterior, es importante destacar que la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cerca del 80% de la población en el mundo usa extractos vegetales o sus compuestos activos (Dambolena *et al.*, 2010).

En este contexto, algunas especies que destacan como productoras de aceites esenciales son el albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y el orégano (*Origanum vulgare* L.) plantas que son muy apreciadas por su importancia económica global. En México, aproximadamente 60% de los habitantes utilizan plantas medicinales para tratar sus padecimientos. Muchas de las especies tienen como principios activos aceites esenciales, entre los cuales destacan los terpenos, sesquiterpenos, fenilpropanoides y otros compuestos aromáticos. Es importante establecer que en nuestro país un buen número de plantas medicinales pertenecen a la familia Lamiaceae, Verbenaceae y Asteraceae. A la primera de éstas, pertenecen las dos especies consideradas en este estudio. Para rescatar el conocimiento acerca del uso de la biodiversidad de plantas medicinales mexicanas se han emprendido acciones para impulsar y difundir el aprovechamiento de los recursos herbolarios desde la perspectiva de la farmacia viviente, la cual se concibe como la interacción

que se establece entre los seres humanos y las plantas medicinales, a través de un proceso de reproducción equilibrado en un espacio, tiempo y ambientes determinados (Mendoza, 2002).

Es importante señalar que las plantas requieren de una nutrición adecuada para poder sintetizar los compuestos de su metabolismo secundario, es por esta razón que es necesario conocer las mejores condiciones de cultivo para incrementar la producción. Una estrategia que puede ser utilizada consiste en incrementar la población de microorganismos benéficos asociados a la rizosfera, los cuales favorecen el desarrollo y la nutrición de la planta al solubilizar algunos compuestos como fosfatos y sales de potasio haciéndolo más disponibles para la raíz, además de incrementar la superficie de absorción de agua (Paredes-Mendoza y Espinosa-Victoria, 2010).

2. Objetivo General

Estudiar el desarrollo postemergente, nutrición y establecimiento de dos especies aromáticas (orégano *Origanum vulgare* L. y albahaca *Ocimum basilicum* L.) inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* en un sistemas de producción orgánica.

2.1 Objetivos particulares

Evaluar el porcentaje de germinación, crecimiento y desarrollo postemergente de Albahaca y Orégano inoculadas con *Pseudomonas fluorescens* y fertilizadas con ácidos húmicos y fúlvicos bajo un sistema de producción orgánica.

Identificar los aceites esenciales en función de la nutrición del cultivo.

Evaluar el desarrollo y adaptación de las dos especies en estudio, así como el de otras especies utilizadas por sus propiedades medicinales a suelo con vermicompost en una farmacia viviente.

3. Hipótesis

El rendimiento y producción de aceites esenciales en orégano y albahaca será proporcional a la inoculación con *Pseudomonas fluorescens* y el riego con ácidos húmicos y fúlvicos.

4. Antecedentes

4.1 Las plantas aromáticas

El cultivo y recolección de plantas aromáticas y medicinales, se pierde en la historia, lo más probable es que haya comenzado en el momento en el que se reconoció que al oler, masticar o comer estas plantas se podía traer alivio a algunas enfermedades (Cracker, 2007). Desde su origen el hombre ha mantenido íntimo contacto con las plantas y los animales, pues de ello ha dependido su subsistencia; esto le ha permitido acumular un rico acervo de conocimientos de las especies que utiliza.

Debido a sus numerosas propiedades, la utilización de plantas aromáticas y medicinales así como de sus principios activos, proporcionan importantes beneficios ambientales, económicos y sociales, además de constituir un amplio campo de aplicación de las industrias alimentaria, farmacéutica, perfumería y cosmética (García-Nieto, 2000). Dentro de las principales familias botánicas que tienen especies que producen aceites esenciales se encuentran: Asteraceae, Lamiaceae, Verbenaceae, Apiaceae, entre otras.

Entre las plantas aromáticas con mayor uso y producción se tiene a el albahaca y al orégano. Para la primera tan sólo en los Estados Unidos se importaron 1,806 toneladas en 1988, equivalentes a \$2.5 millones de dólares, esta cifra aumentó a 4,195 toneladas de materia seca en 1996, lo que equivale a \$5.5 millones de dólares, ya que su valor económico se encuentra en la exportación de aceite esencial (Pravuschi *et al.*, 2010). Por otra parte, el orégano además de ser usado como condimento de alimentos también es apreciado en la elaboración de cosméticos, fármacos, refrescos y licores; motivos por los cuales, tiene una producción anual de hoja seca de 6,500 toneladas, de ellas 90% se destina al mercado de la exportación. Al igual que la hoja seca, el principal mercado del aceite esencial son los Estados Unidos de América, Italia y Japón. Este último se vende a un precio promedio de 170 dólares el litro, en función de su calidad (Cazares *et al*, 2010).

4.1.2 Importancia económica internacional

Las importaciones mundiales de plantas medicinales en el año 2006 fueron de US \$1296,596,000.0, equivalentes a 4991.81 toneladas. Entre los países con mayores importaciones se destacan Estados Unidos, Alemania y China. En este contexto cabe señalar que las plantas aromáticas y medicinales poseen alta demanda tanto en el mercado nacional como internacional, países como Canadá, Japón, Estados Unidos y la Unión Europea concentran cerca del 60 % de la producción mundial (Juárez-Rosete, 2010). Se estima que las ganancias de estos países asciende a 28,400 millones de dólares, tan solo para la industria de los fitofármacos y que la producción de estos incrementa cada año un 4% (Anónimo, 2008a).

Para los países de la Unión Europea las importaciones de plantas medicinales procedentes de los países en desarrollo están en aumento. Alemania, con su gran industria extractiva es el mayor mercado de materiales vegetales crudos, seguido de Francia y Reino Unido. Por otra parte, la demanda de plantas medicinales en fresco está en aumento, ya que la industria cosmética demanda ingredientes de origen natural (Anónimo 2008b).

4.1.3 Importancia económica nacional

En México existe una gran diversidad vegetal y cultural, lo que ha resultado en un amplio uso de las plantas, con cerca de 7,000 especies útiles de un total de casi 22,000 especies de plantas con flor (Martínez-Moreno *et al.*, 2006). Actualmente se han identificado más de 5000 especies que tienen aplicaciones curativas, algunos de los usos de estas plantas se restringen a regiones marginadas y forman parte de su tradición y cultura popular.

La comercialización de plantas medicinales y aromáticas en nuestro país se da principalmente en mercados locales. En el año 2005 se obtuvieron 30 016.49 hectáreas dedicadas al cultivo de hierbas. Los principales estados productores son, Veracruz, Querétaro y Baja California Sur, destacando Oaxaca, Puebla,

Morelos y Tlaxcala como exportadores. Actualmente la Red Mexicana de Plantas Medicinales, Aromáticas, Condimentarias y Cosméticas está conformada por cinco grupos de productores ecológicos de los estados de Tlaxcala (Cuaxomulco, Teacalco, Aztatla, Tepeyanco) y Puebla (Zapotitlán de Salinas y Yeolixtlahuaca) así como por técnicos, asesores y consultores con información en las ciencias biológicas, agronómicas y sociales. Esta se encarga de promover la conservación ecológica, manejo sustentable, certificación botánica, cultivo orgánico, procesamiento, control de calidad y comercio, de más de 150 especies nativas y extranjeras con alta demanda local, nacional e internacional. En estos estados, se encuentran grandes empresas productoras de hierbas finas aromáticas que son exportadoras, tales como AGRINAFTA, PLANTMEX, ESPECIAMA, entre otras (Guerrero-Lagunes, 2008 y Juárez-Rosete, 2010).

La Asociación Nacional de la Industria de Productos Naturales A.C. (ANIPRON) es la más importante asociación mexicana que busca la unión de los empresarios de la industria naturista estableciendo una nueva cultura de salud por medio de la divulgación de nuevas opciones alimentarias, la difusión de la importancia de los productos naturales, leyes justas y modernas. ANIPRON organiza anualmente la exposición más importante de la industria de productos naturales en México.

Algunas de las especies que tienen importancia en el mercado de las plantas medicinales en nuestro país son: Damiana de California *Turnera diffusa* var. *aphrodisiaca*, Cuachalalate *Amphipteringium astringens*, Zarzaparrilla *Smilax* spp., Zacatechichi *Calea zacatechichi*, Hierba de la pastora *Salvia divinorum*, Raíz de Jalapa *Ipomoea purga*, Árnica mexicana *Heterotheca inuloides*, Flor de tila, tila estrella *Tillia ternstroemia*, Flores de Azahar *Citrus* spp., Valeriana mexicana *Valeriana edulis* ssp. *procera*, Flores de manzanilla *Matricaria recutita*, Albahaca *Ocimum basilicum*, Orégano mexicano *Lippia graveolens*.

Es importante señalar que el procesamiento de las especies nativas la realizan principalmente empresarios mexicanos, las trasnacionales procesan y comercializan preferentemente especies exóticas. Sin embargo, las empresas mexicanas con sus productos atienden generalmente padecimientos comunes en la mayoría de la población, mientras que las empresas extranjeras atienden principalmente padecimientos frecuentes en la clase media y de zonas urbanas. En México el consumo de plantas medicinales en comunidades indígenas y personas de niveles socioeconómicos bajos se han mantenido a pesar del desinterés de los distintos niveles de gobierno para apoyar esta industria.

4.2 Conocimiento tradicional de las plantas medicinales y aromáticas

La riqueza biológica de México, así como su larga historia de poblamiento, se han traducido en el desarrollo de una vasta tradición etnobotánica, la cual incluye el conocimiento, uso y manejo de una gran cantidad de especies vegetales a través de complejas formas de interacción entre las comunidades locales y su entorno vegetal (Caballero *et al*, 1998). En México aproximadamente el 15% de la flora total tiene atributos medicinales, es decir que más o menos una de cada siete especies posee alguna propiedad curativa conocida. Por esta razón es importante el desarrollo de estudios etnobotánicos y farmacológicos que rescaten el conocimiento tradicional y lo documenten para evitar su pérdida.

Los antiguos pobladores de nuestro territorio desarrollaron una de las herbolarias más complejas del mundo, de este modo, desde tiempos prehispánicos diferentes grupos étnicos han usado plantas con fines medicinales sin embargo, la lista de especies de uso tradicional incluidas en la farmacopea herbolaria mexicana corresponde tan solo a cerca de 1% del total de la flora de México (Ocegueda *et al*, 2005).

A inicios de los años noventa, la Organización Mundial de la Salud identificó que el 80% de la población mundial recurre a la medicina tradicional para asistir problemas de salud, la cual se basa principalmente en el empleo de plantas medicinales. Este alto porcentaje de la humanidad relacionado de alguna manera con la medicina tradicional, permite el mantenimiento de dichos conocimientos. Sin embargo, muchas plantas medicinales se encuentran en peligro de extinción, lo cual incide en la pérdida de recursos genéticos. Actualmente no se dispone de información detallada al respecto y la mayoría de los países no cuentan con un inventario completo de sus plantas medicinales. Por otro lado, se ha llegado a comprender que las plantas medicinales están incluidas de diferentes formas en la vida de los pueblos originarios, grupos étnicos, comunidades y ciudades multiétnicas.

El uso en cada una de ellas es amplia pues incluso abarca el campo de lo mágico espiritual, adquiriendo una importancia que supera al valor de uso convencional. Estas plantas forman parte central de la cosmovisión de los pueblos, lo que ha permitido su conservación, ya que se consideran aspectos como la ecología de la planta o su morfología que inciden en las prácticas de recolección y suministro. Este conocimiento tradicional es invaluable y debe ser considerado, reconocido, documentado y protegido (Vidaurre de la Riva, 2006).

4.2.1 Farmacias vivientes

Los seres humanos han tenido desde su origen una estrecha relación con la naturaleza, ya que ha sido un elemento clave para su supervivencia, es por ello que las plantas se usan desde siempre, como alimentos; posteriormente, con el avance del conocimiento del reino vegetal se han utilizado en casi todas las actividades humanas, como materiales de construcción, materias primas para la elaboración de los más diversos productos, y como elementos indispensables en las medicinas de todo el mundo. Aunque el consumo de fármacos ha crecido a nivel mundial, el 50-80% de la población de los países en desarrollo (75% de la población mundial), depende de manera parcial o total de los remedios herbolarios

tradicionales. En México, aproximadamente 60% de los habitantes, utiliza plantas medicinales para tratar sus padecimientos.

La riqueza florística de México, incluyendo la herbolaria medicinal, disminuye drásticamente debido a la explotación irracional de los recursos naturales. De tal manera que la demanda excesiva de plantas medicinales y la colecta indiscriminada han provocado su escasez, y cada vez aumentan las dificultades para satisfacer los requerimientos del mercado. Es por ello que se han emprendido acciones para impulsar y difundir el aprovechamiento de los recursos herbolarios, desde la perspectiva de la farmacia viviente. Mendoza (2002), la definió como la interacción que se establece entre los seres humanos y las plantas medicinales, a través de un proceso de reproducción equilibrado en un espacio, tiempo y ambientes determinados. También se define como un conjunto de especies establecidas en un lugar preciso y que son aprovechadas racional y permanentemente por los seres humanos, para prevenir o curar enfermedades.

El proceso de deterioro del entorno de las comunidades y regiones del país en general, es motivo de preocupación, debido a la pérdida de cubierta vegetal, y lo que es peor aún, la pérdida de especies vegetales. Está problemática resalta la importancia del establecimiento de farmacias vivientes, ya que, a la vez que es un espacio interactivo ser humano-planta, también es proveedor de recursos terapéuticos, de utilidad y didáctico, el cual se constituye como espacio de conservación de especies para promover su reproducción para su utilización posterior.

4.3 Nutrición y fertilización

Las plantas son organismos autótrofos por su capacidad de sintetizar carbohidratos usando solamente agua, dióxido de carbono y energía solar. La fotosíntesis, el proceso por el cual la planta captura la luz solar, es fundamento de la nutrición vegetal. Sin embargo, la elaboración de carbohidratos es tan solo un componente del desarrollo y crecimiento de la planta. Los nutrimentos esenciales,

en combinación con el agua, son necesarios para formar los carbohidratos complejos, los aminoácidos y las proteínas que componen el tejido vegetal y que desempeña las funciones claves en los procesos vitales de la planta (Gliessman, 2002).

Los nutrimentos que necesitan las plantas se toman del aire y del suelo. Si el suministro de nutrimentos en el suelo es amplio, los cultivos crecen mejor y producen mayores rendimientos. Sin embargo, si aún uno solo de los nutrimentos necesarios es escaso, el crecimiento de las plantas es limitado y los rendimientos de los cultivos son reducidos. En consecuencia, a fin de obtener altos rendimientos, la fertilización es necesaria para proveer a los cultivos de nutrimentos faltantes en el suelo (FAO, 2002).

La Fertilidad del Suelo es una cualidad resultante de la interacción entre las características físicas, químicas y biológicas del mismo y que consiste en la capacidad de poder suministrar condiciones necesarias para el crecimiento y desarrollo de las plantas. En lo referente al suministro de condiciones óptimas para el asentamiento de las plantas, estas características no actúan independientemente, sino que interrelacionan y en conjunto determinan la fertilidad del suelo (Sánchez, 2007).

4.3.1 Ácidos húmicos y fúlvicos

La materia orgánica del suelo está constituida por diferentes compuestos en los cuales su contenido de nitrógeno, carbohidratos, fibra y minerales diversos dan origen a la celulosa, hemicelulosa y lignina, siendo esta última la precursora del material húmico. Las sustancias húmicas se dividen en ácido húmico, fúlvico y huminas, las cuales se caracterizan por presentar color oscuro y composición muy compleja.

Los ácidos húmicos representan la mayor parte de las sustancias húmicas, formadas por la descomposición de la materia orgánica, hasta 80% son moléculas orgánicas complejas, formadas de anillos aromáticos, compuestos cíclicos de nitrógeno, cadenas peptídicas, carboxílicos y fenoles de alto peso molecular, compuestos de 62% de carbono y 30% de oxígeno (Petit *et al.*, 2009, Hernández, 2011). Aproximadamente 55% del peso del ácido húmico está formado por estructuras aromáticas, comúnmente sustituidas por grupos COOH y OH , son insolubles en ácidos y alcohol. Están compuestos por partículas planas y redondeadas unidas entre sí, las que forman un retículo esponjoso, esta característica otorga una gran capacidad de retención de agua y aireación del suelo además de una fuerte carga aniónica, que mejora notablemente la capacidad de intercambio catiónico. Los ácidos húmicos regulan el proceso de óxidoreducción, suministrando oxígeno al sistema radical de las plantas y estimulando su desarrollo, también juegan un papel importante en la disponibilidad de micronutrientes, puesto que forman complejos con los metales como el hierro, manganeso, zinc y cobre, contribuyendo además a mejorar la absorción de fósforo, nitrógeno, potasio, calcio y magnesio en las plantas (Florensa y Martínez, 1991 y Crovetto, 2004).

Los ácidos fúlvicos se caracterizan por presentar una coloración más clara que los ácidos húmicos, son solubles en medios alcalinos y no se precipitan en medios ácidos. Son polímeros con un anillo aromático, grupos fenólicos y alto contenido de grupos carboxílicos con peso molecular bajo, con 45 % de carbono y 48 % de oxígeno, tiene una alta capacidad de intercambio catiónico, poseen una gran capacidad de disociar minerales del suelo y forman complejos estables con cationes como hierro, aluminio, cobre, entre otros (Crovetto, 2004).

4.4 Sustratos

El termino sustrato es utilizado para designar todo material natural, sintético, mineral u orgánico, distinto al suelo, que colocado en un contenedor, en forma pura o mezclada, permite el anclaje de las raíces, desempeñando una función de soporte para la planta y que, generalmente no interviene en la nutrición del cultivo. En general son aquellos materiales que puros o en mezcla, son empleados para remplazar al suelo dando soporte a las plantas (Barbado, 2005).

Los sustratos ideales deben tener elevada capacidad de retención de agua fácilmente disponible, suficiente suministro de aire, elevada porosidad total, estructura estable que le impida contraerse o expandirse, salinidad reducida, mínima velocidad de descomposición, libre de semillas de malezas, patógenos y sustancias fitotóxicas, bajo costo, fácil de preparar, manejar y desinfectar. Aunque no existe un sustrato ideal se han encontrado algunos intervalos en las propiedades tanto físicas como químicas que favorecen el crecimiento de las plantas. El mejor sustrato depende del tipo de cultivo, tipo y programa de riego, manejo del cultivo, de las condiciones climáticas y de aspectos económicos.

La mayoría de los sustratos utilizados son de origen natural y se dividen en orgánicos (vermicompost, turbas, aserrín, corteza de pino, fibra de coco, cascara de arroz, entre otros), e inorgánicos (gravas, arenas, tezontle, perlita, vermiculita, entre otros). Actualmente también se utilizan sustratos sintéticos como las espumas de poliuretano y el poliestireno expandido (Guerrero-Lagunes, 2008).

4.4.1 Vermicompost como sustrato en la producción de plantas aromáticas

El vermicompost es el producto de una serie de transformaciones bioquímicas y microbiológicas que sufre la materia orgánica al pasar a través del tracto digestivo de las lombrices; al utilizar este sustrato y biofertilizante, puede reducirse el uso de fertilizantes químicos (Velasco *et al.*, 2001). Los residuos orgánicos procesados

por la lombriz, frecuentemente denominados lombricompost son de tamaño fino, como los materiales tipo "peat moss", con alta porosidad y por ende aireación y drenaje, así como una alta capacidad de retención de agua. El vermicompost, comparado con la materia prima que lo genera, tiene reducidas cantidades de sales solubles, mayor capacidad de intercambio catiónico, y un elevado contenido de ácidos húmicos totales. Debido a estas características, los residuos orgánicos procesados con lombrices tienen un potencial comercial muy grande en la industria hortícola como medio de crecimiento para los almácigos y las plantas.

El vermicompost, por sus características físicas, químicas y biológicas, se ha utilizado como fertilizante orgánico con efectos favorables sobre el desarrollo de los cultivos hortícolas y las plantas ornamentales en invernaderos (Moreno *et al.*, 2005).

Se ha demostrado que la adición del vermicompost a los suelos y sustratos de cultivo incrementa considerablemente el crecimiento y la productividad de una gran cantidad de cultivos hortícolas (Dominguez *et al.*, 2010), entre los cuales se puede encontrar a las plantas aromáticas y medicinales como la albahaca (Anwar *et al.*, 2005), así como algunas plantas ornamentales. Juárez-Rosete (2010) menciona que en estos cultivos la fertilización orgánica con vermicompost ha aumentado el crecimiento vegetal, el rendimiento de frutos y porcentaje de aceites (Mohamed y Abdum, 2004).

4.5 Rizobacterias

La aplicación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal es una alternativa viable tanto en países con una agricultura subdesarrollada, que carecen de fertilizantes, como en los que practican la agricultura moderna, ya que permite reducir la cantidad de fertilizantes y plaguicidas químicos que contaminan el ambiente y deterioran el suelo, despojándolo de la materia orgánica y erosionándolo. Entre los mecanismos de control biológico mediados por rizobacterias ampliamente reconocidos se encuentran: la competencia por un

nicho ecológico o sustrato, la síntesis de compuestos inhibitorios como sideróforos, antibióticos, enzimas líticas y detoxificadoras, así como la inducción de resistencia sistémica en la planta.

Las bacterias de los géneros *Pseudomonas*, son de los grupos más estudiados porque tienen la capacidad de producir reguladores del crecimiento vegetal y otros metabolitos con efecto antagónico y represivo del crecimiento de patógenos en la rizosfera, por lo que resulta de gran importancia la caracterización y selección de cepas de este género, el cual muestra efecto antagónico ante patógenos que atacan a cultivos de importancia económica, de forma tal que se puedan aprovechar sus potencialidades como agentes de control biológico (Trujillo *et al*, 2007).

4.5.1 *Pseudomonas fluorescens*

En el año de 1985 Mingula describió a *Pseudomonas fluorescens*, la cual pertenece al grupo de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, es una bacteria heterótrofa que tiene un funcionamiento óptimo de 25 a 30 °C, pero que puede crecer en un rango de 5 a 42 °C. Preferentemente se desarrolla en pH neutro, ya que no crece en condiciones de pH menores a 4.5. Abunda en la superficie de las raíces, y colonizan la rizosfera atraídas por quimiotaxis y posteriormente se unen a la superficie radical. De todos los microorganismos que colonizan la rizosfera, los más comunes son las bacterias Gram negativas, y de todas ellas el género *Pseudomonas* es el que predomina, debido a su gran versatilidad metabólica que contribuye a su competitividad. La colonización microbiana varía considerablemente según la especie de planta y las condiciones de crecimiento de ésta, pero por lo general, el porcentaje de raíz colonizada es menor a 10%, *P. fluorescens* coloniza zonas laterales de raíces emergentes con facilidad (Martin, 2011).

P. fluorescens es capaz de combatir fitopatógenos edáficos mediante la producción de antibióticos y sideróforos extracelulares, promueve el secuestro de óxidos férricos para convertirlos en formas disponibles para las raíces, además de que incrementa el volumen radical (Díaz *et al.*, 2001).

Una de las principales características de las *Pseudomonas fluorescens* es su alta capacidad de solubilizar fósforo a través de dos vías, la primera consiste en la producción de ácidos orgánicos que actúan sobre el pH del suelo favoreciendo la solubilización de fósforo inorgánico y liberando fosfato a la solución del suelo. La otra vía de acción es a través de las fosfatasas, que son enzimas hidrolasas que actúan sobre las uniones ésteres liberando los grupos fosfatos de la materia orgánica a la solución del suelo. Ambas vías generan una mayor cantidad de fosfato para ser absorbido por las raíces de las plantas.

Durante varias décadas se han utilizado bacterias aisladas de la rizosfera de diferentes cultivos como inoculantes microbianos, comprobándose que estas son capaces de influir positivamente sobre la germinación de las semillas, acelerar el crecimiento de las plantas especialmente en sus primeros estadios, inducir la iniciación radicular e incrementar la formación de raíces y pelos radiculares (Velázquez *et al.*, 1999). Las principales sustancias estimuladoras producidas son de tipo hormonal como auxinas, giberelinas y citocininas, pero también producen sustancias de otro tipo como aminoácidos y promotores específicos del crecimiento, mejorando procesos como germinación de semillas, nutrición mineral, desarrollo de raíces, empleo del agua, entre otros. Estos efectos se dan siempre que sea adecuada la concentración de organismos en el sistema radicular y que en el suelo haya suficiente cantidad de materia orgánica (Santillana, 2006).

Actualmente se han observado efectos positivos en diversos cultivos al inocular rizobacterias promotoras del crecimiento. Dashti *et al.* (1997), Gutierrez-Zamora y Martinez-Romero (2001), Mayak *et al.* (2004), reportan que para soya, maíz, frijol y tomate se puede encontrar un mayor desarrollo en la parte aérea de la planta al ser inoculadas con *Pseudomonas*, mientras que otros trabajos como

los de Pereira *et al.* (1988) y Santillana (2001) reportan que se incrementó el desarrollo radicular en diferentes plantas como sorgo, arroz y trébol (Santillana, 2006).

4.6 Aceites esenciales

El orégano (*Origanum vulgare* L.) y el albahaca (*Ocimum basilicum* L.) son plantas aromáticas, pertenecientes a la familia Lamiaceae, especies que se caracterizan por que producen aceites esenciales que les confiere olores y sabores particulares (Guerrero-Lagunes, 2008).

Los aceites esenciales son mezclas de sustancias orgánicas volátiles que se encuentran en el tejido vegetal, a menudo se concentran en las glándulas o espacios intercelulares y son conocidos por jugar un papel importante en la adaptación de la planta a su ambiente (Juárez-Rosete, 2010) ya que pueden intervenir como hormonas en la polinización, reguladores de la transpiración o como protección al evitar el ataque de algunos insectos y otros animales (Ocampo *et al.*, 2008).

Los aceites esenciales, son conocidos y utilizados desde la antigüedad. Entre los siglos XVI y XVII se dieron a conocer la mayor parte de los aceites esenciales de que se dispone en la actualidad. Con la llegada de la medicina moderna, la utilización de vacunas y antibióticos sustituyó a los antiguos remedios basados en aceites esenciales, aunque desde el siglo XIX su demanda creció hasta hacer necesaria la industrialización de la producción (Sánchez-González *et al.*, 2008). Estas sustancias volátiles son ampliamente utilizadas en la elaboración de perfumes, cosméticos, alimentos y en la industria farmacéutica (Méndez, *et al.* 2007), pero también son una opción importante para controlar insectos, hongos y nematodos causantes de fuertes daños a la agricultura (Serrato-Cruz, *et. al.*, 2008).

4.6.1 Importancia económica de los aceites esenciales

En la actualidad los aceites esenciales se definen como las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables con agua o en corriente de vapor, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica (Palá, 2002). No cabe duda de la gran importancia económica que representan estos aceites para muchos países. Incluso en países en vías de desarrollo, la obtención de aceites esenciales es una forma de aumentar las perspectivas de la población y la riqueza general del país, su producción es una de las actividades agrícolas que más beneficios pueden generar si se descarta las plantaciones ilegales, en ocasiones puede representar un interesante cultivo alternativo al de las plantas productoras de alcaloides.

Existen países donde los únicos ingresos provienen de la destilación de flores, así el paso de vender plantas aromáticas secas a vender el aceite esencial obtenido de esas plantas puede suponer alrededor de cuatro veces más ingresos. La producción mundial de aceites esenciales es de miles de toneladas anuales, por lo tanto es un mercado de indudable importancia económica que se vuelve cada día más rentable y en expansión (Ortuño, 2006).

4.6.2 Composición Química

La actividad que presentan los aceites esenciales, se debe a su composición química (Ventura *et al.*, 2009), Estos constituyentes químicos derivan del metabolismo secundario y son clasificados de acuerdo con su ruta biosintética. Las dos principales rutas son las del ácido shikímico y la del ácido mevalónico. Los alcaloides, antraquinonas, glicósidos cardíacos, cumarinas, flavonoides, iridoides, esteroides, fenilpropanoides y terpenos son los constituyentes asociados con las plantas aromáticas y medicinales. Estos compuestos están formados

principalmente por carbono, hidrógeno, oxígeno y algunos contienen nitrógeno y azufre (Juárez-Rosete, 2010).

Los aceites esenciales son una mezcla compleja que contiene alrededor de 20 a 60 componentes en diferentes concentraciones. La estructura molecular, grupos funcionales y estereoquímica son los factores que determinan las propiedades químicas de una molécula y su bioactividad (Juárez-Rosete, 2010). Los aceites esenciales pertenecen al grupo de los terpenos que son compuestos que contienen combinaciones de unidades de cinco carbonos llamadas isopreno, que al unirse químicamente entre sí, originan los terpenos y los terpenoides.

Los principales terpenos son los monoterpenos de 10 carbonos (C_{10}). Estas son las moléculas más representativas que constituyen 90% de los aceites esenciales, en su estructura pueden contener algunas funciones orgánicas oxigenadas como aldehídos, cetonas, ésteres y éteres. Los monoterpenos junto con los sesquiterpenos de 15 carbonos (C_{15}), son los más comunes. No obstante existen hemiterpenos (C_5), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}) y tetraterpenos (C_{40}). Algunos aceites esenciales tienen una naturaleza química aromática (contienen un anillo de benceno). Algunos de estos compuestos, son terpenos cíclicos aromatizados, pero la mayoría de ellos no son terpenicos. Muchos compuestos aromáticos son fenilpropanoides, es decir que están formados por el esqueleto del fenilpropano, derivado de la ruta biosintética del ácido shikímico. (Ocampo *et al.*, 2008).

4.6.3 Aceite esencial de Albahaca

El albahaca (*Ocimum basilicum* L.) es una planta anual perteneciente a la familia Lamiaceae, nativa de India y naturalizada en África y las Islas del Pacífico, actualmente es producida principalmente por España, Italia, Francia, Egipto y México, además de Canadá, Hungría y Alemania (Sandoval, 2009).

El cultivo de albahaca es de gran importancia económica global ya que se han obtenido rendimientos de materia fresca entre 10.000 y 15.000 kg.ha⁻¹ (Carrasco *et al.*, 2007), con una producción mundial anual de 100 toneladas de aceites esenciales, con una calidad que depende de factores externos (climáticos y agronómicos) e internos del cultivo (variedad, edad de la planta y órgano utilizado) (Chirinos *et al.*, 2009). El albahaca, es una planta cuyas hojas aromáticas se usan como condimento, ornamento, y cosmético. El aceite esencial obtenido de esta planta contiene aproximadamente 40.2 a 48.5% de linalol y es importante en la industria farmacéutica, perfumería y como sazonador de alimentos y bebidas, además se le atribuye un gran potencial agronómico como insecticida y repelente (Pravuschi *et al.*, 2010). Por otra parte, a los aceites esenciales presentes en miembros de la familia Lamiaceae se les atribuyen propiedades antigripales, antipiréticas, antiespasmódicas, antidearreicas, antifúngicas y antibacterianas (Acosta *et al.*, 2003).

En México, su aprovechamiento se presenta en climas cálidos secos y templados, así por ejemplo la producción de albahaca es la actividad económica más rentable en la rama agrícola de Baja California Sur. El albahaca de este estado se comercializa en los Estados Unidos de América y en otros países donde prevalece la cultura de la producción, consumo de alimentos y de otros productos derivados de cultivos orgánicos (Ruiz-Espinoza *et al.*, 2009).

4.6.4 Aceite esencial de Orégano

El género *Origanum* pertenece a la familia Lamiaceae y comprende 43 especies de amplia distribución en Europa, Asia y África del Norte, la especie *Origanum vulgare* L. es de las especies más variables del género y la única que comúnmente se conoce como "orégano" en los países europeos, la altura de la planta es de 30-60 cm. Una de las características morfológicas importantes de las plantas de orégano es la presencia de pelos glandulares, los cuales producen y secretan aceite esencial de olor característico.

Orégano es el nombre comercial de las especies del género *Origanum* que son ricos en monoterpenos fenólicos, principalmente carvacrol y timol. Debido a la composición especial de sus aceites esenciales, las hojas de las plantas de orégano se utilizan ampliamente como una especia muy popular para la producción de alimentos, y en el campo farmacéutico debido a las propiedades tónicas, amargoexcitantes, antisépticas, diuréticas y antiespasmódicas, además, se ha utilizado como un remedio popular contra los cólicos, tos, dolor de cabeza, nerviosismo, dolores de muelas, y ciclos menstruales irregulares (Albado-Palus *et al.*, 2001 y Azizi, 2010).

El orégano se desarrolla en las zonas áridas y semiáridas de México, estas zonas representan aproximadamente 40 % de la superficie en nuestro país. En la actualidad, el aceite esencial de orégano se ha convertido en un producto eminentemente de exportación, ya que de la producción nacional, más de 90 % se destina a ello (Aranda *et al.*, 2009).

4.7 Índices de crecimiento

El crecimiento vegetal se define como un incremento irreversible en tamaño de los organismos, comprende principalmente dos procesos: morfogénesis, el cual se refiere al desarrollo de la forma o modelo de la célula u órgano, y la diferenciación, que es el proceso por el cual las células cambian estructural y bioquímicamente para formar o adquirir funciones especializadas, de estos cambios dependerá el comportamiento y el rendimiento potencial de cada especie (Taiz y Zeiger 1991; Salisbury y Ross, 1994).

Generalmente el crecimiento se determina mediante medidas directas, altura de la planta, diámetro del tallo, número de hojas, área foliar, masa seca o por medidas indirectas, tales como: la tasa de crecimiento relativo (RGR), medida principal del análisis de crecimiento que se define como la ganancia de biomasa

por unidad de tiempo; Razón de área foliar (LAR), relación de área foliar y peso total de la planta; Área específica foliar (SLA), relación de área foliar y peso de hoja. Proporción de hoja (LMF), relación de biomasa de hojas y la biomasa total de la planta; Razón de área foliar (LAR), es igual al producto de SLA por LMF; Tasa de asimilación neta (NAR), tasa de incremento en el peso de la planta por unidad de área foliar; Proporción de tallo (SMF), relación de biomasa de tallo y biomasa total de la planta; Proporción de raíz (RMF), relación de biomasa de raíz y biomasa total de la planta; Contenido de materia seca (DM), relación de peso seco y el peso fresco de la planta (Villar *et al.*, 2004). Mientras los primeros, tienen que ver con el desarrollo absoluto de la planta, los segundos explican su eficiencia en acumular materia seca como producto de sus procesos metabólicos (Geraud *et al.*, 1995).

Cabe mencionar que el crecimiento está ligado a factores ambientales como luz, temperatura, y aporte de nutrimentos, que se ven reflejados en cambios estructurales, de tamaño, peso, forma específica y acumulación de materia seca. Por lo tanto, el entender la naturaleza del proceso de crecimiento de un cultivo en un determinado ambiente, es pieza clave para conocer el potencial y las limitaciones de las plantas y representa una ventaja para su manejo agronómico (Barraza *et al.*, 2004).

5. Materiales y métodos

5.1 Pruebas de germinación

El cultivo de albahaca y orégano se realizó bajo condiciones controladas en el invernadero, para favorecer su germinación y establecimiento. La primera fase del método consistió en realizar una prueba de germinación directa en laboratorio. Para esta prueba se utilizaron semillas comerciales de la marca “Rancho los molinos” y, se consideraron dos distintos tratamientos para los cuales la mitad de las semillas de orégano y albahaca se pusieron en remojo durante 1 hora en agua corriente y la otra mitad en solución con inóculo de *Pseudomonas fluorescens*. Se colocaron en cajas petri que se prepararon con papel filtro y un poco de agua destilada, se revisaron diariamente hasta su germinación para medir el número de plántulas normales, plántulas anormales, semillas sin germinar, y medir longitud media de plúmula, longitud media de radícula, peso seco y elaborar una gráfica de porcentaje de germinación acumulada.

5.2 Tratamientos de riego e inoculación

En una segunda etapa se sembraron las semillas de las dos especies aromáticas en charolas de poliestireno con 200 cavidades (dos semillas por cavidad), conocidas comúnmente como semilleros o almácigos con sustrato orgánico tipo “Peat Moss”. Se sembraron considerando dos tratamientos distintos; el primer tratamiento consistió en sembrar semillas inoculadas con la bacteria para determinar si está inoculación acelera la germinación y favorece el establecimiento de las plántulas, en el segundo tratamiento se sembró sin inocular.

Los semilleros se colocaron en el invernadero bajo condiciones controladas, y se regaron con agua corriente dos veces al día, hasta la emergencia de las plántulas, una vez obtenidas, se regaron con solución de ácidos húmicos y fulvicos de la marca comercial NUTRIPO Forte®; diariamente se revisaron para contabilizar el número de semillas germinadas, y con estos datos se construyeron graficas de germinación acumulada para determinar el porcentaje de germinación y el tiempo que debe transcurrir para que inicie la germinación alcanzando mayor porcentaje y con ello se estableció cuál es el tratamiento más adecuado para estas especies.

Cuando las plántulas presentaron 4 o 5 hojas verdaderas se trasplantaron a recipientes de unicel con capacidad de ½ L y a macetas de poliestireno de 1L, los cuales se prepararon con una mezcla 3:1 de vermicompost y fibra de coco respectivamente. Cada uno de los tratamientos se volvió a dividir para tener un total de cuatro tratamientos, los cuales consistieron en plántulas inoculadas regadas con agua corriente y plántulas inoculadas regadas con ácidos húmicos y fulvicos, de esta misma forma se aplicaron los riegos para las plántulas que no fueron inoculadas. La única diferencia para las plántulas de orégano fue que para el trasplante se utilizaron vasos de unicel con capacidad de 150 mL y macetas de poliestireno de ½ L.

5.3 Análisis morfológico y nutrimental

Con la finalidad de evaluar el crecimiento, las plantas se cultivaron por dos meses realizando muestreos cada 15 días; de cada tratamiento se tomaron diez plantas al azar a las cuales se les midieron las siguientes variables: cantidad de clorofila con un equipo SPAD 5200 Konika Minolta, diámetro con un vernier digital TRUPER, longitud, volumen radical, área foliar con un integrador de área foliar LICOR-MODLI-3100 y peso seco, para el cual las plantas fueron colocadas en bolsas de papel y secadas en una estufa marca RIOSSA modelo HCF 125 a 70 °C, durante 72 horas. Los resultados obtenidos fueron analizados con el sistema

de análisis estadístico SAS mediante un análisis de varianza y una prueba de Tukey, con un α de 0.05 para la comparación de medias.

Estas muestras fueron utilizadas posteriormente para la determinación de N (por el método de micro-Kjeldahl), K, Mg, Na, P, S, B, Fe, Zn y Mn mediante AES-ICP (Inductive Couple Plasma Emisión Spectrometer) modelo Liberty 11 secuencial, marca Varian.

5.4 Índices de crecimiento

Con los resultados obtenidos de peso seco y área foliar se calcularon los índices de crecimiento: Tasa de crecimiento relativo RGR, del inglés relative growth rate es la medida principal del análisis de crecimiento y se define como la ganancia de biomasa por unidad de biomasa y tiempo; Razón de área foliar LAR del inglés leaf area ratio, es la relación de área foliar y peso total de la planta y se expresa en $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$; Área específica foliar SLA del inglés specific leaf area, es la relación de área foliar y peso de hoja, se expresa en $\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$; Proporción de masa foliar LMF del inglés leaf mass fraction, es la relación de biomasa de hojas y la biomasa total de la planta y se expresa en kg kg^{-1} ; Tasa de asimilación neta NAR del inglés net assimilation rate, es la tasa de incremento en el peso de la planta por unidad de área foliar y se expresa en $\text{kg m}^{-2} \text{día}^{-1}$.

5.5 Extracción y cuantificación de aceites esenciales

Al final del experimento cuando había 50% de floración se hizo la extracción y cuantificación de aceites esenciales a través de una hidrodestilación, la cual consistió en recolectar material vegetal fresco de cada especie (20 g) para obtener el destilado, al cual se le hicieron tres extracciones con diclorometano. Con un embudo de separación se obtuvo la fase orgánica, y para remover el agua de esta fase se utilizó sulfato de sodio anhidro; el disolvente se recuperó usando un rota

vapor y el rendimiento de aceite esencial se obtuvo por diferencia de peso. Los aceites se almacenaron en frascos tipo vial y se conservaron en refrigeración hasta su análisis (Wagner y Bladt, 1996).

La identificación de los aceites se hizo por cromatografía de capa fina, para la cual se utilizaron placas de 20 x 20 cm de sílica gel con base de aluminio, las cuales se prepararon trazando una línea base y un frente disolvente; se utilizó el aceite esencial de cada tratamiento y se colocó en las placas, estas fueron introducidas en una cámara de elución, que contenía una mezcla de tolueno: acetato de etilo, se asperjaron con vainillina-ácido sulfúrico y se calentaron a 110 °C por 5 minutos para desarrollar color. La cuantificación de los componentes se realizó por medio de la comparación de valores Rf y con la consulta de literatura especializada donde se obtuvieron los estándares externos de cada componente (Wagner y Bladt, 1996).

5.6 Establecimiento de la farmacia viviente

Para el establecimiento de la farmacia viviente se utilizó una jardinera del Colegio de Postgraduados, la cual tiene una superficie de 20m² y se preparó con una mezcla de suelo y vermicompost en proporción 3:2. Se utilizaron plantas aromáticas y medicinales que fueron cultivadas en el invernadero de la institución (cedrón, hierbabuena, borraja, epazote, toronjil y menta), con el propósito de conocer su adaptación al sitio, se evaluó su desarrollo cada quince días por un periodo de tres meses, las variables que se midieron fueron: altura, diámetro de tallo y lecturas SPAD.

6. Resultados y análisis de resultados

6.1 Pruebas de germinación directa

Los resultados obtenidos para la germinación de albahaca y orégano se resumen en la Figura 1 donde se observa que las dos especies iniciaron su germinación al sexto día y el máximo porcentaje se alcanzó en el día 11. En esta prueba se encontró que no existe gran diferencia entre los tratamientos, donde no se aplicó la bacteria, se obtuvo 87% en albahaca y en orégano 79%, mientras que para el tratamiento inoculado con *Pseudomonas fluorescens* se obtuvo 77% en albahaca y 81% para orégano, se considera que la bacteria no tiene un efecto benéfico en esta fase; durante la cual, las semillas cuentan con sus propios recursos para el desarrollo de la plántula. Sin embargo en la literatura especializada (Dashti *et al.*, 1997; Díaz *et al.*, 2001; Barbado *et al.*, 2005 y Barreto *et al.*, 2007) mencionan que durante varias décadas se han utilizado bacterias aisladas de la rizosfera de diferentes cultivos como inoculantes microbianos y se ha comprobado que éstas son capaces de influir positivamente sobre la germinación de las semillas y posteriormente en el desarrollo de las raíces e incrementar el rendimiento de las cosechas en plantas de interés agrícola, así como la fertilidad de los suelos. No obstante es importante resaltar la inconsistencia en las respuestas de los vegetales cuando se inoculan con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (Velázquez *et al.*, 1999).

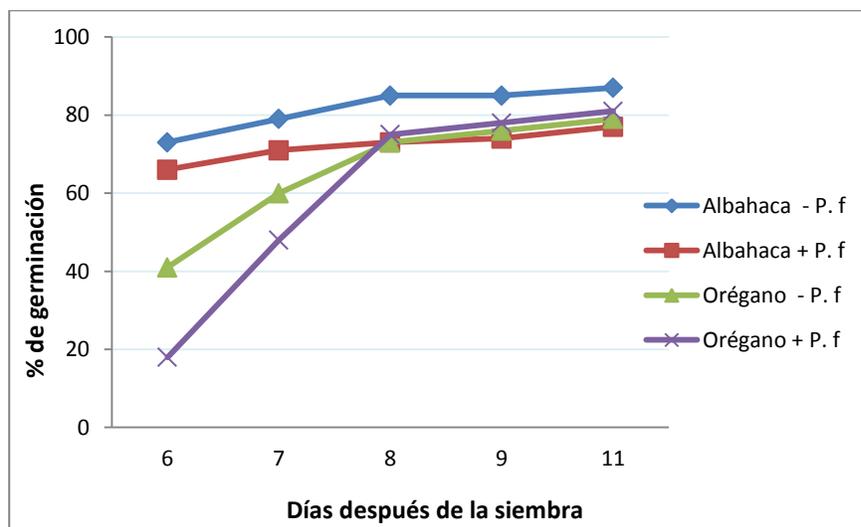


Figura 1, Porcentaje de germinación en semillas de albahaca y orégano en cajas de petri con y sin la inoculación de *Pseudomonas fluorescens*. -P.f. sin *Pseudomonas fluorescens*, +P.f. con *Pseudomonas fluorescens*.

6.2 Análisis morfológico

Los resultados del número de semillas germinadas y sin germinar de un lote de 100, así como los valores de los parámetros morfológicos obtenidos y el peso seco para las plántulas de albahaca y orégano sometidas a los diferentes tratamientos se muestran en el Cuadro 1, en el caso de albahaca se observa que el mayor número de plántulas anormales se presentó en el tratamiento con inóculo. La anomalía consistió en plántulas con radícula enroscada y de color café y plúmula con tamaño menor al de las plantas normales. Para el orégano, no se encontraron diferencias notables en la morfología de las plántulas. Al comparar las especies se encontró que el mayor número de semillas germinadas correspondió a albahaca sin inóculo, mientras que para el orégano se obtuvo un mayor porcentaje al ser inoculadas con *P. fluorescens*. Para ambas especies la inoculación produjo plántulas con radículas más largas y vástagos más cortos (Figura 2), y el peso seco disminuyó con respecto al control en ambas especies.

Diferentes autores han documentado que las *Pseudomonas* estimulan la germinación de las semillas y aceleran el crecimiento de las plantas, especialmente en sus primeros estadíos ya que al asociarse con las raíces incrementan la formación de pelos radicales y la superficie de absorción, esto se ha observado en el caso de plántulas de pino (Martin, 2011) y apoyan los resultados obtenidos en este estudio, sin embargo también se ha encontrado que todos los parámetros morfológicos se incrementan con respecto al control, por lo que la asociación con bacterias resulta importante para el establecimiento de las plántulas (Pulido *et al.*, 2003).

En los resultados obtenidos se tiene que tanto el albahaca como el orégano inoculados disminuyen su peso seco con respecto al testigo, lo cual se contradice con lo encontrado en otros estudios (Díaz *et al.*, 2001; Martin, 2011) pero se puede explicar debido a la excesiva absorción de agua en las raíces de las plantas debido a la presencia de los inóculos, ya que en estas primeras fases de crecimiento la absorción de nutrimentos todavía es limitada.

Cuadro 1, Parámetros morfológicos de cada una de las especies con los distintos tratamientos. (**SG**) semillas germinadas, (**SsG**) semillas sin germinar, (**PN**) plántulas normales, (**PA**) plántulas anormales y (**Ps**) peso seco.

	SG	SsG	PN	PA	Ps (g)
Albahaca – P. f	87	13	78	9	10.5×10^{-3}
Albahaca + P. f	77	23	62	15	10.3×10^{-3}
Orégano - P. f	79	21	63	16	0.5×10^{-3}
Orégano + P. f	81	19	65	16	0.4×10^{-3}

El tamaño de plúmula y radícula de las plántulas de albahaca y orégano se muestran en la Figura 2. Las plántulas de albahaca tienen mayor longitud de radícula en el tratamiento con inoculo en comparación con las plantas testigo. Para el caso del orégano, se observa que el tamaño de la plúmula es mayor que el de la radícula en ambos tratamientos, al mismo tiempo que se ve que el inoculo favorece el incremento de la radícula.

El aumento en el tamaño radicular para ambas especies, posiblemente se debe a que *Pseudomona fluorescens* tienen la propiedad de producir sustancias estimuladoras del crecimiento que influyen en la rizogénesis y en la formación de pelos radicales, con lo cual se incrementa la superficie de absorción. Otro aspecto importante a resaltar es el incremento de la longitud de la plúmula en orégano en el tratamiento testigo, lo cual puede estar relacionado con las características genéticas particulares de la especie y no con un efecto del inoculo. Las rizobacterias pueden favorecer el crecimiento de las plántulas debido a que muchas de ellas son capaces de solubilizar fosforo y fijar nitrógeno que son elementos muy importantes para la nutrición de cultivos (Barreto *et al.*, 2007; Oviedo e Iglesias, 2005).

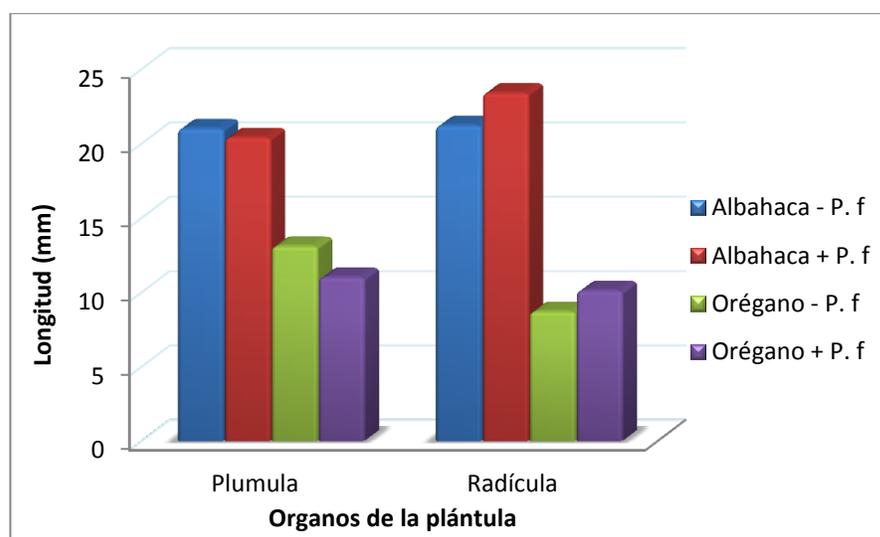


Figura 2, Tamaño de plúmula y radícula de albahaca y orégano comparando los dos distintos tratamientos. **-P.f.** tratamiento sin *Pseudomonas fluorescens*, **+P.f.** tratamiento con *Pseudomonas fluorescens*.

6.3 Germinación en almacigo

En la Figura 3, se muestra el porcentaje de germinación acumulada en almacigos con sustrato de vermicompost más fibra de coco. En los semilleros la presencia del inóculo para ambas especies no aceleró el proceso de germinación, mismo que ocurrió en general al quinto día después de la siembra. Sin embargo las semillas tratadas con el inóculo presentaron un efecto muy marcado en el de porcentaje de germinación. Para el albahaca con *P. fluorescens* se obtuvo 78%, mientras que para el tratamiento testigo 44%. Para el orégano las semillas sin inocular germinaron 99% y con el tratamiento solo obtuvieron 74% (aproximadamente 30% menor).

En la mayoría de los trabajos donde se ha documentado la inoculación con *Pseudomonas*, se ha encontrado un incremento del porcentaje de germinación, lo cual se atribuye a la capacidad que tiene el inóculo para movilizar sustancias como el nitrógeno y el fósforo necesarios para la síntesis de ADN y otras sustancias. Sin embargo el efecto benéfico de los inóculos para favorecer la germinación no tiene consistencia en cuanto a su efecto, debido a que otros factores como el tamaño, edad y morfología de la semilla o irradiación lumínica pueden interferir en los resultados, ya que las semillas presentan una sensibilidad específica ante sustancias inductoras producidas por las rizobacterias, estimulando o inhibiendo la tasa de germinación de las semillas (Reyes *et al.*, 2008).

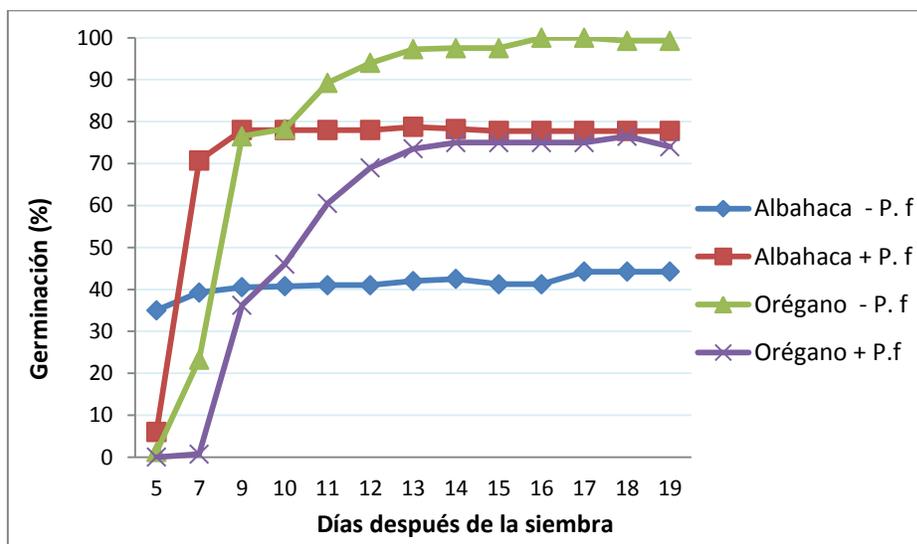


Figura 3, Porcentaje de germinación en semillas de albahaca y orégano sembradas en almacigo. -P.f tratamiento sin *Pseudomonas fluorescens*, +P.f tratamiento con *Pseudomonas fluorescens*.

6.4 Análisis de crecimiento en albahaca

Cabe aclarar que el análisis de crecimiento fue únicamente para las plantas de albahaca debido a que las plántulas de orégano no se pudieron establecer (Figura 4), debido a la alta concentración de sodio y potasio en la vermicompost utilizada como sustrato que deshidrató y mató la raíz del orégano al ser más susceptible (Gómez, 2012) ya que a pesar de que el orégano se adapta a cualquier tipo de suelo, no es conveniente su cultivo en aquellos que presentan alta salinidad, por otra parte también pudo haber influido la humedad que se dio en las macetas, pues el exceso de agua a nivel radical y cuello de la planta, es perjudicial para este cultivo, ocasionando ahogamiento o pudrición en raíces que posteriormente sirven como focos de infección de agentes fitopatógenos (Klauer, 2009). Estos resultados no pueden ser atribuidos a la inoculación con *P. fluorescens* o al riego con ácidos húmicos y fúlvicos, ya que el tratamiento testigo mostró el mismo efecto.



Figura 4. Plantas de orégano que presentan daño en la raíz; se aprecia que de forma paulatina el daño inicia en la raíz y posteriormente la planta muere.

6.4.1 Contenido de clorofila

En la Figura 5 se presentan los resultados del contenido de clorofila medido en lecturas de SPAD, donde se observa que las plantas regadas con ácidos húmicos y fúlvicos tuvieron la mayor cantidad de clorofila independientemente de la presencia del inoculo, sin embargo estadísticamente no presentaron diferencias significativas (Apéndice 1), lo anterior está relacionado con la nutrición principalmente nitrogenada del cultivo y por lo tanto el contenido de clorofila en la hoja está directamente relacionada con la concentración de nitrógeno (Sainz y Echeverria, 1998). Lo anterior concuerda con Ramos (2000) y Zachariakis *et al.*, (2001) investigadores que encontraron que la presencia de sustancias húmicas aumentan la concentración de la clorofila total, el número de brotes laterales además que favorecen el incremento de la altura, el contenido de materia seca de hojas, tallos, raíces y promueven el crecimiento en plantas de vid.

Al comparar estos resultados se puede establecer que el inoculo no favoreció la absorción de nitrógeno y por lo tanto no tuvo efecto en la producción de clorofila ni en los valores de SPAD (Hiderman *et al.*, 1992; Piekielek y Fox, 1992).

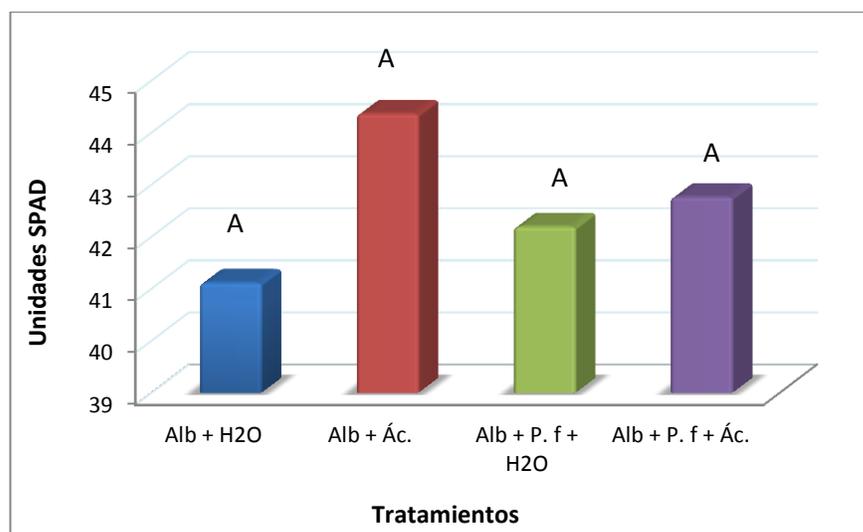


Figura 5, Comparación del contenido de clorofila (Lecturas SPAD) en plantas de albahaca, con y sin la inoculación de *Pseudomonas fluorescens*. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. Medias con letras iguales, no son diferentes estadísticamente (Tukey, 0.05).

6.4.2 Diámetro del tallo

Los resultados del diámetro de tallo de las plantas de albahaca se muestran en la Figura 6, se observó un incremento del diámetro en los tratamientos donde solo se llevó a cabo inoculación o el riego con ácidos húmicos y fúlvicos, sin embargo no presentaron diferencias estadísticas significativas (Apéndice 1), cuando los tratamientos se presentan en conjunto, plantas inoculadas y regadas con ácidos húmicos y fúlvicos se obtuvo el menor valor para el diámetro del tallo. Este desarrollo puede ser explicado por una sobreactivación del metabolismo vegetal que a largo plazo origina efectos adversos (Ramírez *et al.*, 1998).

Al respecto en la literatura especializada se tienen datos que indican que tanto los ácidos húmicos y fúlvicos como las rizobacterias de manera individual promueven el crecimiento de las plantas. Félix *et al.*, (2008) y Zermeño (2002) al trabajar con hortalizas encontraron que los ácidos penetran a las células y los tejidos a través de las membranas celulares y se movilizan dentro de la planta, lo cual tiene efectos positivos sobre el desarrollo vegetal al estimular el crecimiento del tallo y de la raíz. Por su parte, los mecanismos por los cuales las rizobacterias manifiestan su acción promotora del crecimiento de las plantas, se encuentra en la producción de reguladores de crecimiento vegetal, como las auxinas que tienen la capacidad de inducir la diferenciación de filamentos vasculares de las plantas para dar inicio a la formación de tejidos finos vasculares y al igual que los ácidos estimulan la elongación de tallos y raíces (Franco, 2008).

Otra explicación que se puede dar al hecho de que la interacción entre ácidos húmicos y fúlvicos y la inoculación limite el crecimiento puede ser lo establecido por Arteaga *et al.*, (2007), autores que encontraron que la aplicación de ácidos húmicos y fúlvicos es reconocida por su capacidad para incorporar nutrimentos al suelo, pero reduce la actividad de la flora microbiana, esto puede propiciar una baja absorción de elementos como el nitrógeno y el fósforo, sin embargo esta última idea tiene su contraparte en lo publicado por Ortuño *et al.*, (2012) quienes indican que el humus líquido aplicado al suelo o a la planta ayuda a asimilar macro y micro nutrimentos, evitando la concentración de sales. Crea un medio ideal para la proliferación de organismos benéficos como las bacterias, hongos, etc. que impiden el desarrollo de patógenos, reduciendo sensiblemente el riesgo de enfermedades.

Lo antes citado permite visualizar que la relación existente entre la inoculación y la fertilización con ácidos húmicos y fúlvicos es todavía asunto de controversia.

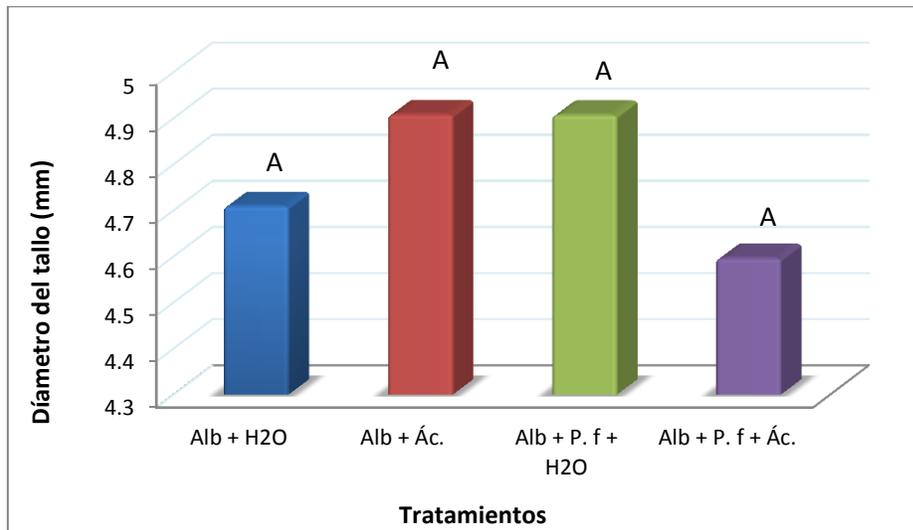


Figura 6. Diámetro de tallo en plantas de albahaca en función a los distintos tratamientos de inoculación y riego. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. Medias con letras iguales, no son diferentes estadísticamente (Tukey, 0.05).

6.4.3 Altura de la planta

Los resultados de la altura de la planta mostrados en la Figura 7 no presentaron diferencias estadísticas significativas (Apéndice 1), pero indica que cada uno de los tratamientos presentó un efecto positivo en relación con el testigo, lo cual permite inferir que tanto las bacterias como los ácidos húmicos y fúlvicos ocasionaron que las plantas crecieran más.

En el caso de las rizobacterias se sabe que tienen efectos positivos al incrementar los rendimientos en el cultivo en comparación al tratamiento tradicional, debido a que inducen diferentes mecanismos relacionados con la promoción de crecimiento, ya sea que proporcionen directamente nutrientes, participen en la fijación de nitrógeno, fósforo y potasio, la solubilización de fosfato y otros minerales; o bien, que las plantas sean capaces de producir hormonas vegetales y sustancias promotoras del crecimiento como el ácido indolacético, por la producción de sideróforos o antibióticos para la supresión de la microflora dañina (Guillen *et al.*, 2006).

Por otra parte los ácidos húmicos y fúlvicos tienen efecto en la longitud total de la planta ya que dentro de las moléculas húmicas se encuentran grupos funcionales que en concentraciones bajas pueden desarrollar efectos homólogos a los generados por las auxinas, giberelinas y citocininas que se encuentran de forma natural en las plantas (Ramírez *et al.*, 1998).

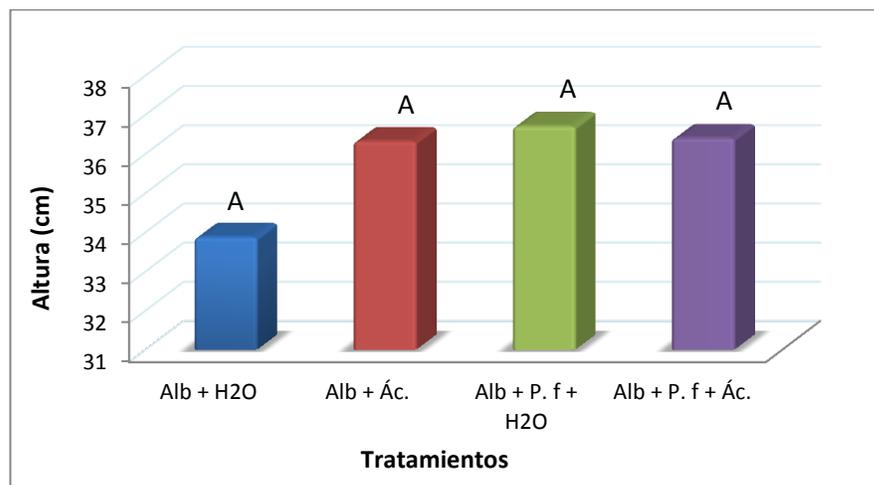


Figura 7, Altura de plantas de albahaca, con distinto riego e inoculación. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. Medias con letras iguales, no son diferentes estadísticamente (Tukey, 0.05).

6.4.4 Volumen radical

El volumen radical es una de las principales características por las cuales se puede medir el efecto benéfico de la inoculación con bacterias o la fertilización con ácidos húmicos y fúlvicos, es por ello que se muestran los resultados de este parámetro en la Figura 8, donde se obtuvieron diferencias estadísticas significativas (Apéndice 1), ya que se alcanzaron valores mayores en cada uno de los tratamientos en comparación con el testigo.

Al respecto Eyheraguibel *et al.*, (2008), mencionan que hay un aumento en el crecimiento de raíz en semillas tratadas con ácidos húmicos y que la longitud aumenta de manera progresiva y significativa, además de que mostrarán una mayor proliferación de raíces laterales. Por otra parte Felix *et al.*, (2008) y Ramos (2000) mencionan que las sustancias húmicas muestran mayores efectos sobre las raíces que sobre la parte aérea ya que mejoran la absorción de nutrientes, además de estimular y aumentar la absorción de nitrógeno. En cuanto a la inoculación con bacterias se sabe que aportan diferentes beneficios a los cultivos desde el momento de la germinación hasta los estadios de su desarrollo posterior, lo cual se debe a la producción de sustancias promotoras del crecimiento, tales como ácido indolacético, citocininas, giberelinas y sideróforos, sustancias que estimulan la aparición de raíces laterales, aumentan la densidad y la longitud de los pelos radicales, incrementando así el volumen radical (Barbaro *et al.*, 2005).

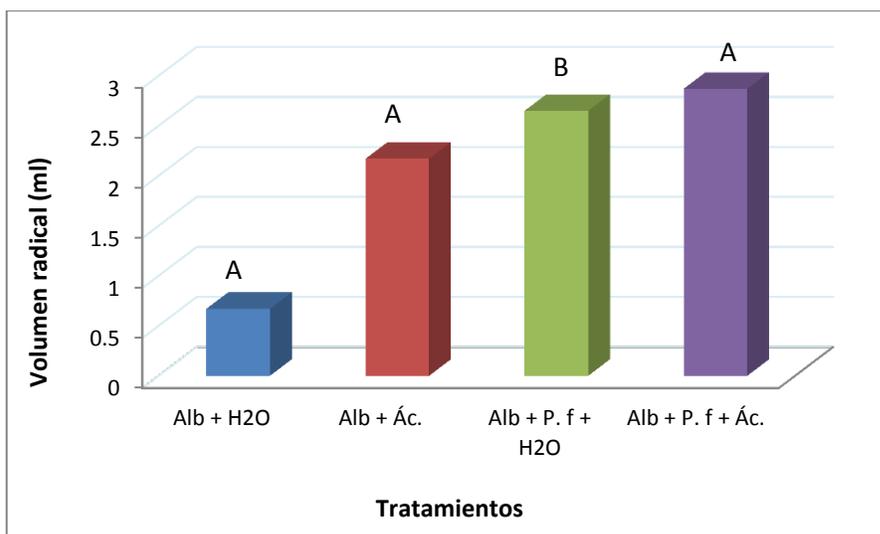


Figura 8, Volumen radical de las plantas de albahaca con distintos tratamientos de riego e inoculación. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. Medias con letras iguales, no son diferentes estadísticamente (Tukey, 0.05).

6.4.5 Área foliar

La determinación del área foliar es fundamental en estudios de nutrición y crecimiento vegetal, con ésta se pueden determinar: acumulación de materia seca, metabolismo de carbohidratos, rendimiento y calidad de la cosecha (Ruíz-Espinosa *et al.*, 2009).

Los resultados del área foliar de las plantas de albahaca se muestran en la Figura 9, se observa que las plantas que recibieron el tratamiento de inoculación con *P. fluorescens* y fueron regadas con ácidos húmicos y fúlvicos presentan los valores más bajos, incluso por debajo del testigo, el valor más alto se presenta en las plantas que fueron inoculadas y regadas con agua, seguido del tratamiento sin inocular y regado con ácidos, cabe mencionar que los resultados tienen una diferencia estadística significativa (Apéndice 1). Como ya se mencionó anteriormente, al combinar los tratamientos de riego e inoculación se expone a la planta a una sobre activación metabólica, lo cual se ve reflejado en los resultados obtenidos en este parámetro, ya que de forma individual los ácidos húmicos y fúlvicos tienen efecto sobre el área foliar por la presencia de activadores del tipo de los reguladores de crecimiento vegetal (Ramírez *et al.*, 1998). Los efectos de la inoculación con bacterias suelen ser sobresalientes, pues permiten una mejor absorción de elementos esenciales como el nitrógeno y el fósforo, los cuales junto con las fitohormonas, que excretan las raíces tienen acción fisiológica, provocando un mayor desarrollo de la parte aérea, lo que se ve reflejado en un mayor número de hojas y de área foliar.

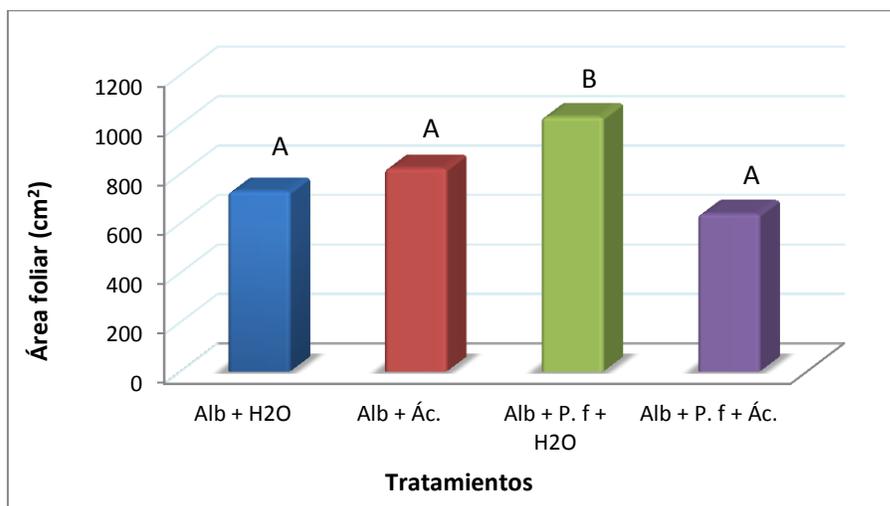


Figura 9, Área Foliar de las plantas de albahaca de acuerdo a los distintos tratamientos de inoculación y riego. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. Medias con letras iguales, no son diferentes estadísticamente (Tukey, 0.05)

6.4.6 Peso seco

El peso seco es el criterio más apropiado para medir el crecimiento y la magnitud del sistema de asimilación de la planta (Taiz y Zeiger 1991). En la Figura 10 se muestran los resultados del peso seco total de las plantas de albahaca, en los cuales el tratamiento que combina la inoculación de *P. fluorescens* y el riego con ácidos húmicos y fúlvicos presenta un valor más elevado, en general se puede observar que cada uno de los tratamientos presenta valores más elevados en comparación con el testigo.

Ramírez *et al.*, (1998) al trabajar con la fertilización orgánica en sorgo observaron un comportamiento similar, ya que en todos los tratamientos en los que se fertilizó con ácidos húmicos se alcanzaron valores más altos de peso seco en comparación con el testigo. Chen *et al.*, (1994) encontraron que al agregar ácidos húmicos a la solución nutritiva para el cultivo de pepino en hidroponía se estimula la producción de biomasa, de la misma forma Albuizio *et al.*, (1994) reportan que las fracciones más pequeñas de los ácidos húmicos son fácilmente

absorbidas por la raíz y por lo tanto aumenta el contenidos de biomasa en la planta, lo cual posteriormente se traduce en un mayor peso seco.

De la misma forma Díaz *et al.*, (2001) al trabajar con la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento en plantas de lechuga reportan que *P. fluorescens* incrementó el peso fresco en un 277% y el peso seco hasta en 371%. Resultados similares se obtuvieron en los estudios realizados por Constantino *et al.*, (2010) y Chiquito, (2011) quienes trabajaron con biofertilización de papaya y porta injertos de cítricos respectivamente, reportan que la inoculación con rizobacterias incrementa la biomasa. Lo cual sugiere que las bacterias promotoras de crecimiento tienen potencial para emplearse en la producción de plántulas de interés hortícola.

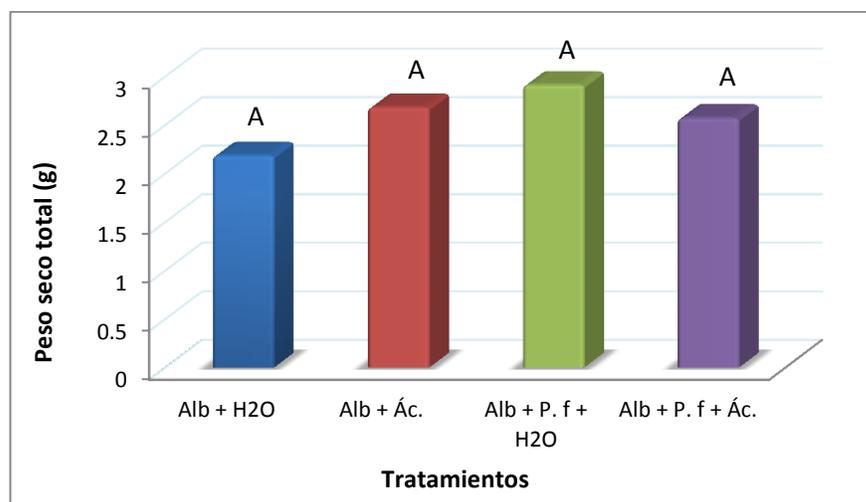


Figura 10, Peso seco total de las plantas de albahaca por efecto de la fertilización con ácidos húmicos y fúlvicos y la inoculación con *P. fluorescens*. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. Medias con letras iguales, no son diferentes estadísticamente (Tukey, 0.05).

6.5 Análisis Nutricional

6.5.1 Macro y micronutrientes

Los resultados del análisis nutricional se muestran en las Figuras 11 y 12, donde se observa que las plantas que fueron inoculadas y regadas con ácidos húmicos o agua y las que no fueron inoculadas y regadas con ácidos y agua no muestran una diferencia significativa en la cantidad de nutrientes incorporada a los tejidos de su parte aérea, en particular esto se observa para Ca, Mg, Na, P, S, B, Zn y Mn. En el caso del K se observa que está presente en mayor cantidad que los demás nutrientes, en el tratamiento donde se inoculó y se regó con agua presenta un valor mayor, para el Fe también se registraron valores elevados en los distintos tratamientos excepto en el tratamiento en el cual se inoculó y se regó con ácidos.

A pesar de que en la literatura especializada se ha documentado la acción promotora de rizobacterias y de las sustancias húmicas sobre el crecimiento de las plantas, que se relaciona con el aumento de la absorción de nutrientes, en este trabajo se observó que en albahaca no se modifica la absorción de los nutrientes.

Pero en muchos casos, la aplicación de sustancias húmicas se traduce en una inhibición de la toma de algunos nutrientes, debido a la formación de complejos de gran estabilidad con fracciones húmicas de gran tamaño que no son solubles. Por consiguiente, la proporción de las fracciones moleculares en un material húmico dado es decisiva en este aspecto. Es decir, que la solubilidad (tamaño molecular) de las fracciones de una sustancia húmica es un factor determinante para que tenga lugar el aumento o la inhibición de la absorción (Ramos, 2000).

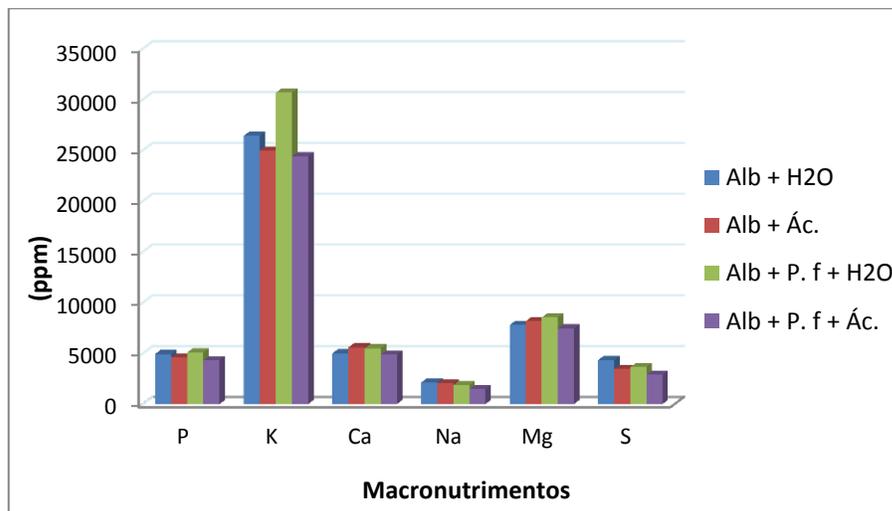


Figura 11, Macronutrientes en las plantas de albahaca por efecto de la fertilización con ácidos húmicos y fúlvicos y la inoculación con *P. fluorescens*. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos.

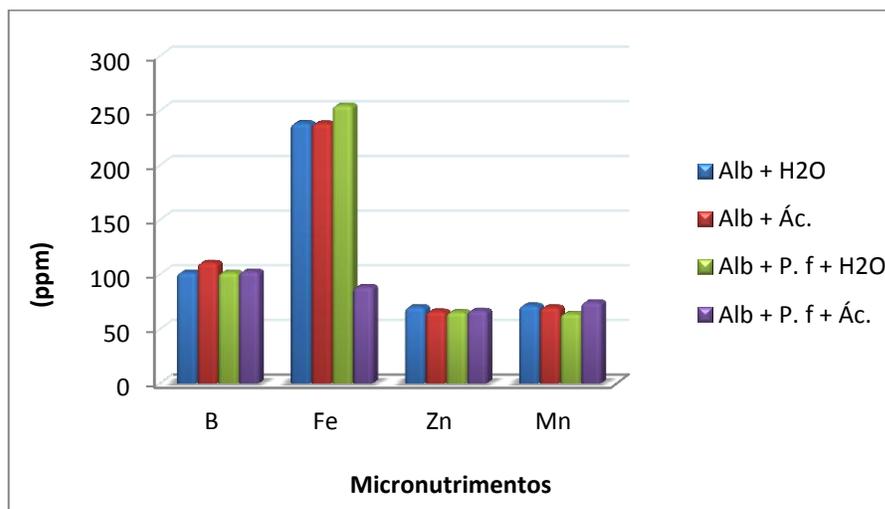


Figura 12, Micronutrientes en las plantas de albahaca por efecto de la fertilización con ácidos húmicos y fúlvicos y la inoculación con *P. fluorescens*. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos.

6.5.2 Nitrógeno total

En la figura 13, se muestran los resultados del porcentaje de nitrógeno total en plantas de albahaca, se observa mayor porcentaje en cada uno de los tratamientos en comparación con el testigo, donde el tratamiento en el que se inoculó y se regó con agua presentó los valores más altos, seguido del tratamiento en el que no se inoculó pero se regó con ácidos húmicos y fúlvicos.

Estos resultados concuerdan con la literatura, ya que, Dhillon (1992), encontró que al inocular hongos micorrizicos arbusculares (HMA) y *Pseudomonas* sp. en plantas de arroz se obtiene una producción mayor de biomasa y una concentración más elevada de fósforo y nitrógeno en los tejidos de las plantas. De forma similar Martín (2011), al trabajar con plantas de pino inoculadas con *Pseudomonas* observó que se incrementa la concentración de nitrógeno.

Por otra parte Hernández (2011), al trabajar con chile manzano en hidroponía menciona que la aplicación de extractos húmicos mejora la absorción de nutrimentos como el nitrógeno, Mesa *et al.*, (1992) al trabajar con ácidos húmicos en el cultivo de rábano menciona que las sustancias húmicas juegan un papel importante en el ciclo del nitrógeno evitando que se pierda por lixiviación y desnitrificación, lo que permite que aumenten los compuestos orgánicos y por lo tanto la actividad de los microorganismos degradadores de materia orgánica se incrementa el desarrollo y la asimilación de nutrimentos como el nitrógeno (Mesa *et al.*, 1992).

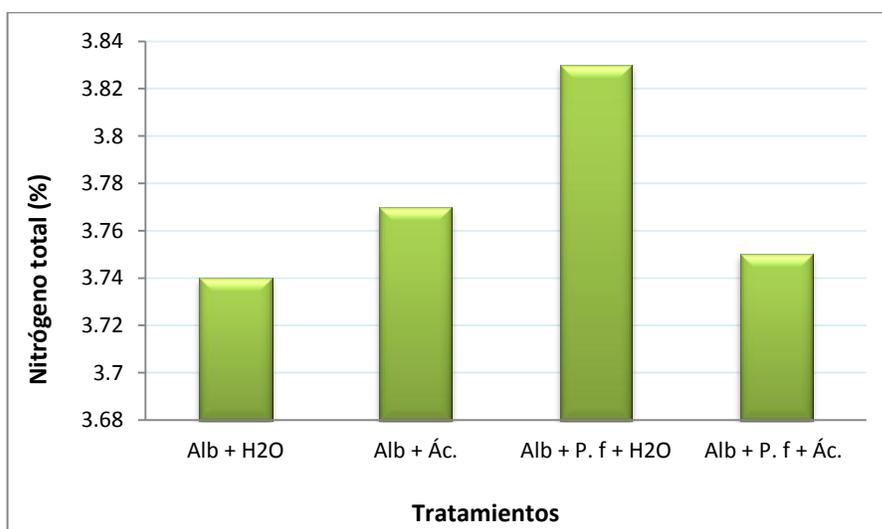


Figura 13. Porcentaje de nitrógeno total en las plantas de albahaca, de acuerdo a los distintos tratamientos de fertilización con ácidos húmicos y fúlvicos y a la inoculación con *P. fluorescens*. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos.

6.6 Índices de Crecimiento

6.6.1 Tasa de crecimiento relativo

En la Figura 14, se puede observar que la tasa de crecimiento relativo (RGR) a los 50 días después del trasplante (ddt) muestra los valores máximos, siendo los tratamientos en los que se inoculó *P. fluorescens* los que presentaron mayor RGR. Posteriormente este índice decreció de forma acelerada en todos los tratamientos. Barraza *et al.*, (2004), encontraron un comportamiento similar en plantas de tomate, ya que inicialmente la RGR presentó valores altos que fueron disminuyendo conforme avanzó el ciclo de vida del cultivo, este comportamiento está asociado al periodo de floración de la albahaca el cual ocurre entre los 50 y 66 días después de la siembra (Barroso y Jerez, 2002), en este periodo las hojas inferiores de la planta entran en senescencia (60 y 76 días después de la siembra) y no ganan peso si no que se convierten en fuentes que atenderán el

requerimiento de fotoasimilados, de tal manera que traslocan nutrientes para cubrir la demanda que requieren las flores y frutos (Barraza, 2000). Cabe señalar que este comportamiento se presenta independientemente del tratamiento de inoculación y riego al que fue sometida cada planta.

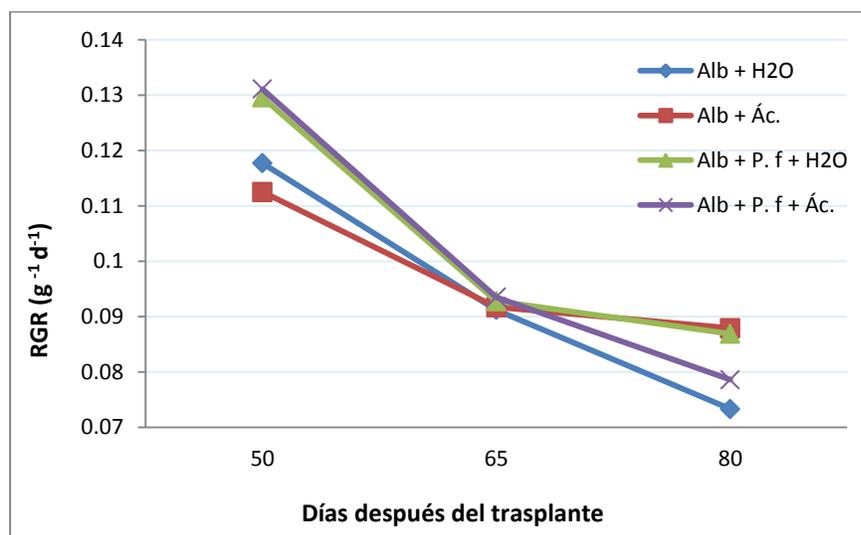


Figura 14, Tasa de Crecimiento Relativo (RGR) de las plantas de albahaca con distintos tratamientos de inoculación y riego. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos.

6.6.2 Razón de área foliar

La razón de área foliar (LAR), es uno de los principales parámetros morfológicos, utilizado para evaluar la relación entre el área foliar y el peso seco total de la planta. De acuerdo a la Figura 15, el máximo valor para este índice se presentó a los 50 ddt, a partir de este punto comenzó a decrecer de forma constante, pero a los 65 ddt los tratamientos que fueron regados solamente con agua se presentaron un ligero incremento independientemente de la inoculación. Los altos valores observados al inicio del ciclo, se pueden asociar con una estrategia de sobrevivencia de las plantas, las cuales hacen una mayor inversión en tejido foliar

para captar y procesar mejor la energía solar, lo cual es necesario para establecerse rápidamente después del trasplante (Azofeifa y Moreira, 2004). Rojas (2010), menciona que la tendencia decreciente de LAR posiblemente se debe a que las hojas ubicadas en la base del tallo no reciben suficiente radiación solar, lo cual conduce a una actividad fotosintética baja y es posible que actúen como demanda de los fotoasimilados que producen las hojas periféricas, durante este periodo también algunas hojas cesan su desarrollo y entran en senescencia, por lo tanto se tiene un aumento en el peso seco y la disminución del área fotosintética activa, lo que se presentan menores valores de para LAR (Archila *et al.*, 1998).

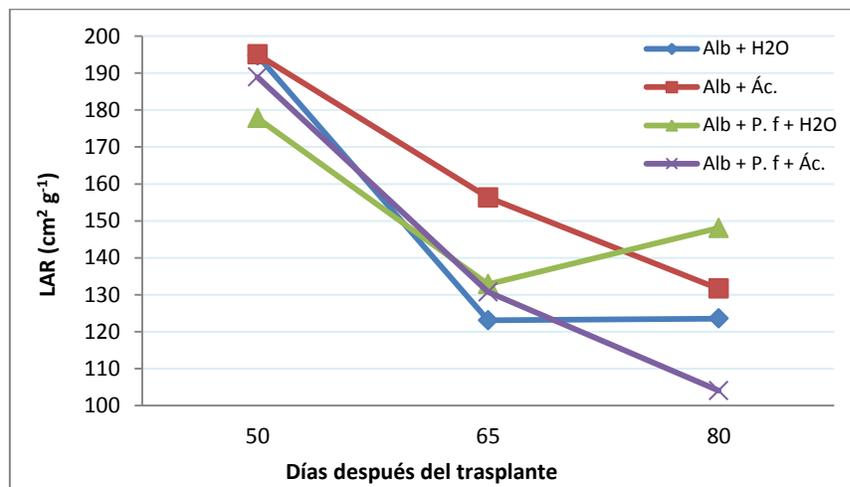


Figura 15, Razón de área foliar del cultivo de albahaca con distintos tratamientos de inoculación y riego. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos.

6.6.3 Área específica foliar

El área específica foliar (SLA) se define como la cantidad de área foliar por peso de hoja y es un rasgo morfológico de gran trascendencia funcional y ecológica (Villar *et al.*, 2004) ya que es una de las principales variables que afectan el crecimiento de las plantas. En la Figura 16, se puede observar que en el tratamiento testigo así como en el que se combina la inoculación con *P. fluorescens* y el riego con ácidos húmicos y fúlvicos presentó el valor máximo de SLA a los 50 ddt, mientras que los tratamientos en los que solo se inoculó o se regó con ácidos se alcanzó el valor máximo a los 65 ddt, Pérez *et al.*, (2004) reporta que para el pasto mulato (*Brachiaria hibrido*, cv.) a mayor porcentaje de nitrógeno, mayor será la SLA, lo cual coincide con los resultados del porcentaje total de nitrógeno que se obtuvieron, ya que estos tratamientos son los que presentaron los valores más altos. Cabe resaltar que tanto la inoculación con *P. fluorescens* como el riego con ácidos húmicos y fúlvicos favorecen la absorción de nutrimentos, lo que se ve reflejado en una mayor concentración de nitrógeno en los tejidos de las plantas (Dhillon, 1992 y Hernández, 2011). El incremento del SLA está relacionada con hojas delgadas y frágiles, ya que hay menor costo de construcción de la hoja, alta tasa de fotosíntesis neta, reducido control estomático y alta concentración de nitrógeno, (Villar *et al.*, 2004 y Jarma *et al.*, 2006) disminuyendo a medida que se incrementa el peso seco de las hojas y la madurez de la planta. La reducción del SLA se atribuye a una mayor lignificación, menor tamaño celular, bajo contenido de humedad y baja concentración de nitrógeno (Pérez *et al.*, 2004).

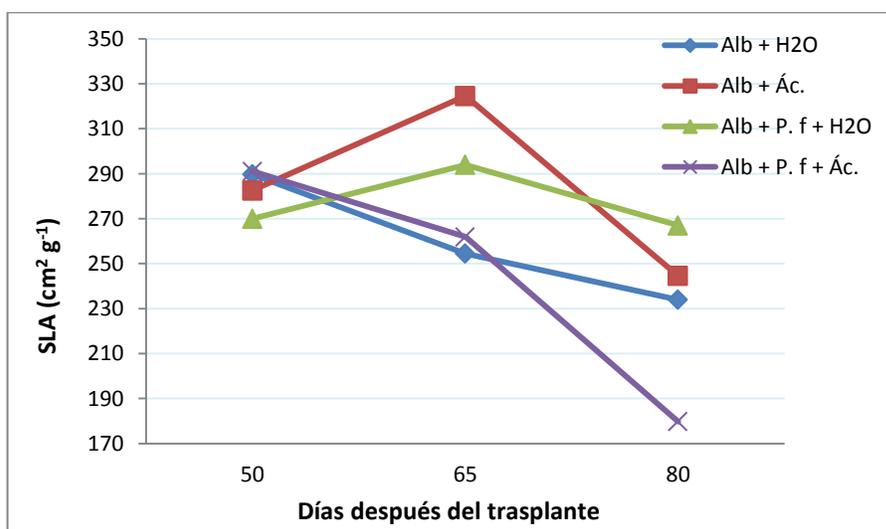


Figura 16, Área específica foliar en hojas de Albahaca con relación al riego y la inoculación. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos.

6.6.4 Proporción de la masa foliar

La proporción de masa foliar (LMF) es un índice morfológico que se define como la fracción del total de biomasa que la planta distribuye a hojas; es decir una medida de su inversión en órganos fotosintéticos (Villar *et al.*, 2004). Se observó que todos los tratamientos siguen la misma tendencia para este índice (Figura 17), sin importar el riego o la inoculación, obteniendo los valores más altos a los 50 ddt y declinando hasta llegar al valor mínimo, el cual se registró a los 65 ddt, para incrementar nuevamente su valor conforme avanzó la edad del cultivo.

Este comportamiento es similar al obtenido por Orozco-Vidal *et al.*, (2008) en plantas de algodón ya que los valores más altos se obtuvieron en las primeras fases de crecimiento de las plantas, debido a que en las primeras fases del crecimiento hay mayor inversión de fotoasimilados en estructuras vegetativas, independientemente del tratamiento al que fueron sometidas. Por otra parte (Pedroza-Manrique, 2006) reporta que si bien en las primeras fases de crecimiento la producción de tejidos fotosintetizadores es importante, también pueden estar

ocurriendo otros procesos fisiológicos de crecimiento y desarrollo en otros órganos o tejidos vegetales, lo que explica la disminución en la LMF.

En cuanto al posterior incremento de este índice algunos autores (Firman, 1963; Ureña y Curimilma, 1982; Fernández y Johnston, 1986) lo atribuyen a la disponibilidad de nutrimentos esenciales, ya que a pesar de la fertilización es necesario un periodo de tiempo para que la planta pueda asimilarlos. Bajo estas condiciones estresantes, para las plantas es prioritaria la inversión en tejidos que aseguren el suministro de fotosintatos y en consecuencia la supervivencia de estas especies (Pedroza *et al.*, 1997).

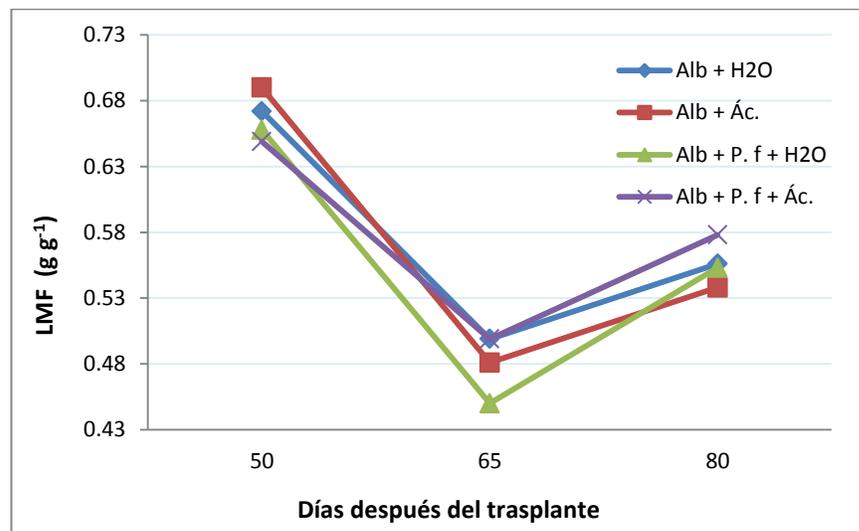


Figura 17, Proporción de la masa foliar en las plantas de albahaca con distintos tratamientos de riego e inoculación. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos.

6.6.5 Tasa de Asimilación Neta

La tasa de asimilación neta (NAR) es un índice de tipo fisiológico (Villar *et al.*, 2004), que mide la eficiencia promedio de las hojas de la planta en un cultivo, es decir, es una medida indirecta de la fotosíntesis, ya que representa la ganancia neta en peso por unidad de área foliar (Hunt, 1982).

La respuesta de las plantas de albahaca para este índice fue variable, en la Figura 18, se puede observar que los tratamientos en los que se regó con ácidos húmicos y fúlvicos siguieron una tendencia ascendente alcanzando el valor máximo a los 80 ddt, en los tratamientos en los que solo se regó con agua se observó un comportamiento variable ya que el valor máximo se registró a los 50 ddt y posteriormente decrece conforme avanza la edad del cultivo, cabe señalar que en ambos comportamientos la presencia del inoculo no ejerce ningún efecto. Al ser NAR una medida indirecta de la fotosíntesis, estos resultados pueden ser comparados con los obtenidos para los valores SPAD, los cuales concuerdan en que la presencia del inoculo no tiene efecto en la producción de clorofila en las plantas de albahaca (Hiderman *et al.*, 1992 y Piekielek y Fox, 1992). Mientras que Ramos (2000) y Zachariakis (2001), reportan que las sustancias húmicas aumentan la concentración de clorofila en tomate, lo cual indica que los ácido húmicos juegan un papel importante en la NAR, aumentando la asimilación de CO₂ y la velocidad de los procesos metabólicos (Orozco-Vidal *et al.*, 2008; Rojas, 2010).

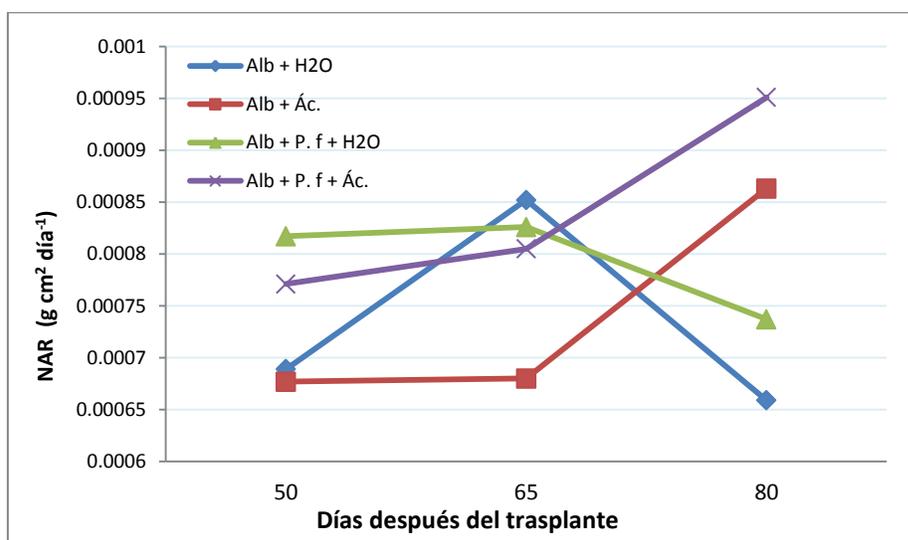


Figura 18, Tasa de asimilación neta en las plantas de albahaca en función a la inoculación con *P. fluorescens* y riego con ácidos húmicos y fúlvicos. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos.

6.7 Extracción de Aceites esenciales

6.7.1 Cuantificación del aceite esencial de albahaca

El rendimiento de aceites esenciales presentes en el follaje de Albahaca se presenta en la Figura 19, en ella se puede observar que existe una diferencia entre los distintos tratamientos, donde las plantas que fueron regadas con agua e inoculadas con la *Pseudomonas fluorescens*, presentaron la mayor cantidad de aceite, seguido del tratamiento en el que se rego con ácidos húmicos y fúlvicos sin inoculación. Al respecto Banchio *et al.*, (2009) encontraron que los compuestos orgánicos volátiles (alcoholes, aldehídos, cetonas y CO₂, entre otros) producidos por las rizobacterias, inducen la acumulación de aceites esenciales y la promoción del crecimiento en plantas de *Ocimum basilicum*, pero aún no se ha determinado cuál de ellos es el responsable de la acumulación ni el mecanismo de acción de estos compuestos (Velázquez-Becerra *et al.*, 2011). Por otra parte, Juárez-Rosete

(2010), encontró que los riegos con ácidos húmicos y fúlvicos pueden afectar las características morfológicas y fisiológicas de las plantas y con ello el metabolismo secundario de la producción de aceites esenciales y de otros compuestos de importancia fitoquímica.

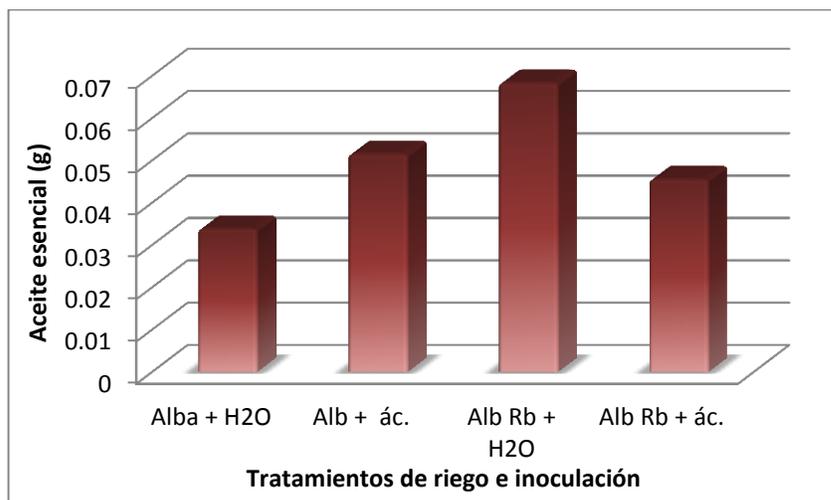


Figura 19, Rendimiento en gramos de aceites esenciales por cada 19 gramos de materia fresca en plantas de albahaca considerando los tratamientos de inoculación y riego. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb + P. f + H₂O** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con agua, **Alb + P. f + Ác.** = Albahaca inoculada con *P. fluorescens* y regada con ácidos húmicos y fúlvicos.

6.7.2 Caracterización del aceite esencial de Albahaca

Los componentes principales del aceite esencial de albahaca fueron caracterizados por cromatografía en capa fina (CCF) y el cálculo de los valores R_f (Cuadro 2), posteriormente los resultados se compararon con el perfil cromatográfico de albahaca establecido en Wagner y Bladt (1996). Se identificaron 6 componentes, entre los que se encuentra en mayor cantidad el metil chavicol con un valor R_f de 0.77 y de color violeta, seguido del eugenol con un R_f de 0.53 y color azul, a un R_f de 0.47 se presentó el Timol con un color azul violeta, el citral se localizó por la coloración café y a un R_f de 0.42, el linalool presentó un R_f de

0.35 y un color violeta, y por último se identificó al geraniol con un valor Rf de 0.21 y color azul. En el cromatograma se observa claramente que el compuesto que se encuentra en mayor cantidad es el metil chavicol, el cual representa hasta un 50 %, mientras que los compuestos que se encuentran en menor cantidad coinciden con los estándares del perfil cromatográfico del albahaca a partir de su aceite esencial.

Cuadro 2, Perfil cromatográfico del aceite esencial de albahaca. De izquierda a derecha **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb Rb + Ác.** = Albahaca inoculada con la rizobacteria y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. **Alb Rb + H₂O** = Albahaca inoculada con la rizobacteria y regada con agua.

	Rf	Compuesto	Color
I	0.77	Metil Chavicol	violeta
II	0.42	Citral	Café
III	0.21	Geraniol	Azul
IV	0.35	Linalool	Violeta
V	0.47	Timol	Azul-violeta
VI	0.53	Eugenol	Azul

6.8 Establecimiento de la farmacia viviente.

6.8.1 Comparación del cultivo de albahaca en invernadero y en una farmacia viviente

Al establecer las plantas de albahaca en la farmacia viviente se obtuvo incremento en la longitud de los entrenudos (Figura 20) en comparación con las plantas cultivadas en invernadero, el diámetro del tallo fue menor (Figura 21) y en las lecturas SPAD (Figura 22) no se obtuvieron valores muy diferentes a los obtenidos en invernadero.

Estos parámetros se pueden relacionar con las actividades culturales (riego, poda y deshierbe) que se realizaron en la jardinera para establecer la farmacia viviente y que son indispensables para garantizar una respuesta óptima (Casierra-posada *et al.*, 2003), se puede decir que en esencia el crecimiento de las plantas en la farmacia viviente solo se modifica al momento de la aclimatación después del trasplante, ya que esta es una etapa fundamental en la que ocurren un conjunto de modificaciones morfológicas y fisiológicas transitorias no heredables de las que depende la eficiencia y la calidad de las plantas (Agramonte *et al.*, 1998 y Reigosa y Pedrol, 2003). De esta forma la aclimatación permite que la planta alcance un crecimiento autotrófico en ambientes de menor humedad relativa, con más luz y sustratos sépticos. Díaz *et al.*, (2004) al trabajar con la aclimatación de la caña de azúcar, menciona que existen pocos antecedentes sobre el uso de vermicompost como sustrato para la aclimatación de las plantas, pero que esta favorece la adaptación, ya que una vez transcurrido el tiempo de aclimatación al sustrato el crecimiento fue normal. Cabe mencionar que el establecimiento de la farmacia viviente se llevó a la par con el cultivo de albahaca en el invernadero.

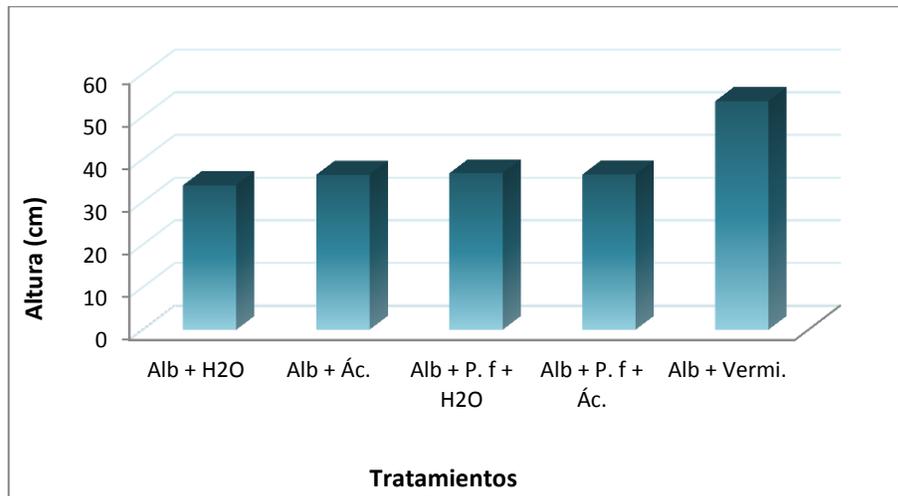


Figura 20, Altura de las plantas de albahaca con distintos tratamientos de inoculación y riego en condiciones de invernadero, y plantas de albahaca utilizadas en la farmacia viviente. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb Rb + Ác.** = Albahaca inoculada con la rizobacteria y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. **Alb Rb + H₂O** = Albahaca inoculada con la rizobacteria y regada con agua, **Alb + Vermi.** = Albahaca establecida en la farmacia viviente.

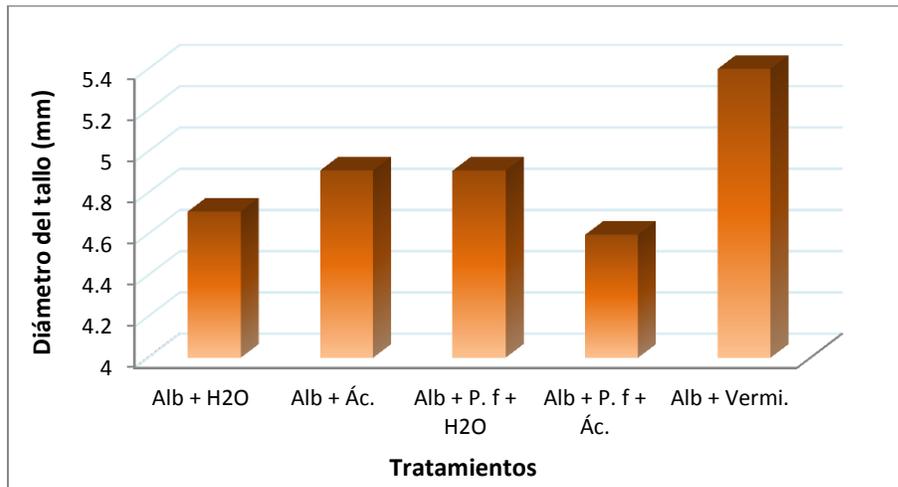


Figura 21, Diámetro del tallo en plantas de albahaca, comparando el cultivo en invernadero y el establecimiento en una farmacia viviente. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb Rb + Ác.** = Albahaca inoculada con la rizobacteria y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. **Alb Rb + H₂O** = Albahaca inoculada con la rizobacteria y regada con agua. **Alb + Vermi.** = Albahaca establecida en la farmacia viviente.

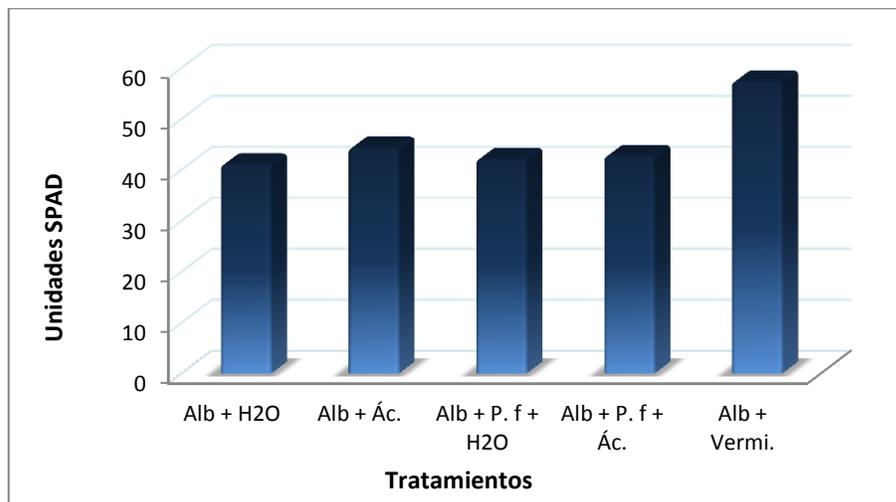


Figura 22, Concentración de clorofila (lecturas SPAD) de las plantas de albahaca cultivadas en condiciones de invernadero en comparación con las plantas utilizadas para el establecimiento de la farmacia viviente. **Alb + H₂O** = Albahaca sin inocular regada con agua, **Alb + Ác.** = Albahaca sin inocular regada con ácidos húmicos y fúlvicos, **Alb Rb + Ác.** = Albahaca inoculada con la rizobacteria y regada con ácidos húmicos y fúlvicos. **Alb Rb + H₂O** = Albahaca inoculada con la rizobacteria y regada con agua. **Alb + Vermi.** = Albahaca establecida en la farmacia viviente.

6.8.2 Establecimiento de las especies que conforman la farmacia viviente

En la Figura 23, se puede observar que las plantas de albahaca utilizadas para establecer la farmacia viviente a pesar del proceso de aclimatación presentaron un aumento gradual en altura, a excepción de la borraja (*Borrago officinalis*) que alcanzó la máxima altura a los 30 días después del trasplante y posteriormente este parámetro disminuyó. Al respecto Heufemann (2003), menciona que el cultivo de la borraja se ve limitado debido a su crecimiento vegetativo indeterminado y a su prolongado periodo de floración, además de ser una especie que se ve afectada por la competencia ya que de manera deficiente compite por factores esenciales, tales como agua, luz y nutrientes.

En cuanto al diámetro del tallo (Figura 24) se observa que todas las especies presentan incremento de este parámetro conforme avanza el tiempo. Acevedo y Pire (2004) y Prabha *et al.*, (2007), reportan que tanto en el cultivo de plantas medicinales como en algunos frutales, al adicionar vermicompost al suelo y a los sustratos, se obtienen mejores respuestas de crecimiento vegetativo en cuanto a área foliar, altura, diámetro del tallo y materia seca total. Para el caso de

la hierba buena (*Mentha piperita*), Maracajá *et al.*, (2007) encontraron que la vermicompost no produce diferencias en ninguno de los parámetros evaluados, entre los que se encuentra la altura de la planta, lo cual es atribuido al corto periodo del cultivo.

Por otra parte la concentración de clorofila (Figura 25) se mantuvo constante después de los 30 días del trasplante. (Aishwath y Tarafdar, 2009) reportan que el uso de vermicompost produce respuestas semejantes a las que se obtienen con fuentes inorgánicas, ya que en la sábila se obtuvieron respuestas similares en cuanto al número de hojas, altura de la planta y concentración de clorofila. Este comportamiento puede explicarse de acuerdo con (Marschner,1990), quien menciona que las plantas adicionadas con vermicompost tienen una mejor nutrición y por lo tanto mayor contenido de nitrógeno, fosforo y una mayor tasa fotosintética, lo que se traduce en mayor área foliar fotosintéticamente activa y en un mejor proceso de fotosíntesis.

Para un rápido establecimiento del cultivo de plantas aromáticas, es indispensable el suministro de una nutrición balanceada que permita el crecimiento y desarrollo adecuado de la raíz, así como la acumulación de materia seca. Los requerimientos nutricionales para las plantas aromáticas varían entre otros factores, en función del tipo y características del sustrato, de la duración y etapas de desarrollo del cultivo (Ramírez, 2006).

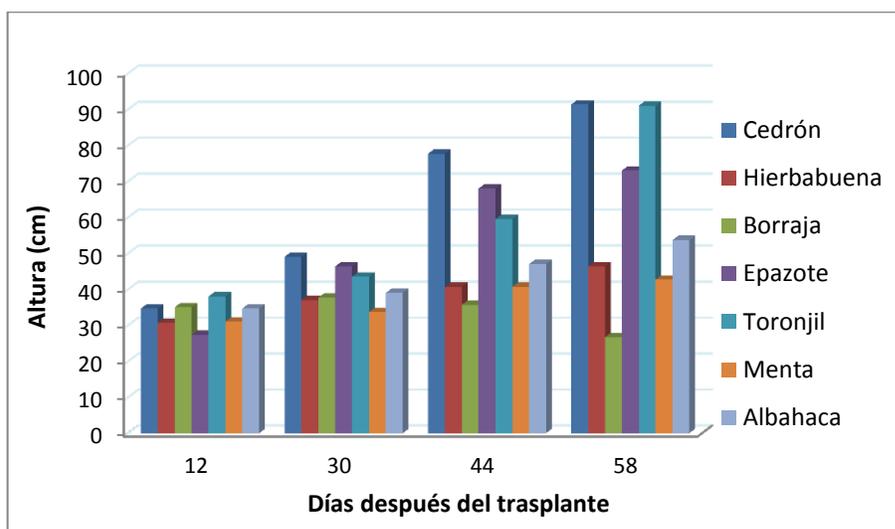


Figura 23, Altura de las distintas especies utilizadas para el establecimiento de la farmacia viviente.

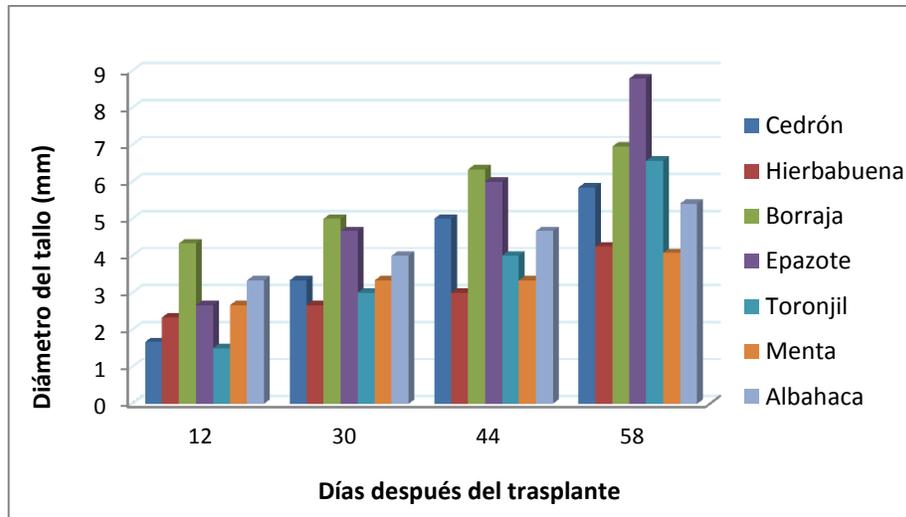


Figura 24, Diámetro del tallo de las distintas especies utilizadas para el establecimiento de la farmacia viviente.

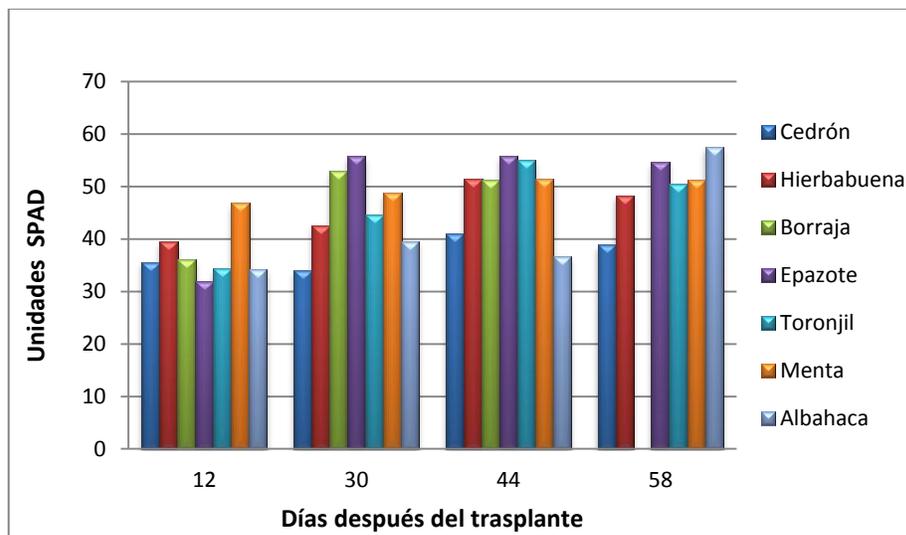


Figura 25, Concentración de clorofila (lecturas SPAD) en las distintas especies utilizadas para el establecimiento de la farmacia viviente.

7. Conclusiones

La inoculación con *Pseudomonas fluorescens* no acelera el proceso de germinación, pero sí aumenta el porcentaje de semillas germinadas, además produce plántulas con radículas más largas y vástagos cortos.

En cuanto al análisis de crecimiento se obtuvieron diferentes resultados con respecto a los distintos tratamientos, ya que de forma individual tanto el riego con ácidos húmicos y fúlvicos como la inoculación con *P. fluorescens* mejoran los parámetros evaluados, pero al combinarse se obtuvieron resultados desfavorables, ya que existe un efecto antagónico entre la fertilización con ácidos húmicos y la inoculación con esta rizobacteria.

De esta forma se puede concluir que el mejor tratamiento es aquel en el que se inoculó *P. fluorescens* y se regó con agua ya que en el análisis nutrimental, en la evaluación de índices de crecimiento, así como en la cuantificación de aceites esenciales presentó los mejores resultados.

Tanto las plantas de albahaca como las especies utilizadas para la conformación de la farmacia viviente, presentaron un proceso de adaptación positivo con respecto a la mezcla de sustrato y vermicompost que se utilizó, aumentando los valores de los parámetros evaluados.

8. Literatura Citada

Acevedo I.C. y Pire R. 2004. Effects of vermicompost as substrate amendment on the growth of papaya (*Carica papaya* L.). *Interciencia* **29**:274-279.

Acosta M., González M., Araque M., Velazco E., Khouri N., Rojas L. y Usubillaga A. 2003. Composición química de los aceites esenciales de *Ocimum basilicum* L. var *basilicum*, *O. basilicum* L. var *purpurensceus*, *O. gratissimum* L., y *O. tenuiflorum* L., y su efecto antimicrobiano sobre bacterias multirresistentes de origen nosocomial. *Revista de la Facultad de Farmacia Venezuela* **45**:19-24.

Agramonte P.D., Jiménez T.F. y Dita R.M.A. 1998. Propagación y mejora genética de plantas por biotecnología. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Sta. Clara, Villa Clara. Cuba.

Aishwath O. y Tarafdar J. 2009. Organic farming for medicinal and aromatic plants. En: Tarafdar J., Tripathi K. y Kumar, M (Eds). *Organic Agriculture*. Scientific Publishers. India. 157-185.

Albado-Palus E., Saenz F.G. y Gabriel A.S. 2001. Composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial del *Origanum vulgare* (orégano). *Revista médica Herediana* **12**:16-19.

Albuzio A., Concheri G., Nardi S. y Dell'agnola G. 1994. Effect of humic fractions of different molecular size on the development of oat seedlings grown in varied nutritional conditions. En Senesi N., Miano T.M. (Eds.) *Humic substances in the global environment and implications on human health*. Elsevier Science, Amsterdam 199-204 pp.

Anónimo. Gobierno de Chile. 2008a. Plantas medicinales y aromáticas. Fundación para la Innovación Agraria, Ministerio de Agricultura. Chile.

Anónimo. 2008b. Definición de la agenda prospectiva de investigación para la cadena productiva de plantas aromáticas, medicinales y condimentarias y afines con énfasis en Ingredientes naturales para la industria cosmética en Colombia. Informe Final. Ministerio de Agricultura y desarrollo rural. Instituto Humboldt de Colombia y Cámara de Comercio de Bogotá. Bogotá.

Anwar M., Patra D.D., Chand S., Kumar A.A., Naqvi A.S.P. y Khanuja S. 2005. Effect of organic manures and inorganic fertilizer on growth, herb and oil yield, nutrient accumulation, and oil quality of French basil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **36**:1737-1746.

Aranda R.J., Silva V.R. y Franco H.D.I. 2009. Caracterización del aceite esencial de orégano liso (*Poliomintha longiflora* Gray) de la localidad infierrillo en el municipio de higuera, N.L., México. *Revista salud pública y nutrición (RESPYN)* **10**:1-6.

Archila J., Contreras U., Pinzón H., Laverde H. y Corchuelo G. 1998. Análisis decrecimiento de cuatro materiales de lechuga (*Lactuca sativa*). *Agronomía. Colombiana* **16**:68-75.

Arteaga M., Garcés N., Novo R., Guridi F., Pino J.A., Acosta M., Pasos M. y Besú D. 2007. Influencia de la aplicación foliar del bioestimulante liplant sobre algunos indicadores biológicos del suelo. *Revista Protección Vegetal* **22**:110-117.

- Atiyeh R.M.**, Subler S., Edwards C.A., Bachman G., Metzger J.D. y Shuster W. 2000. Effects of vermicomposts and composts on plant growth in horticultural container media and soil. *Pedobiologia* **44**:579-590 pp.
- Atiyeh R.M.**, Lee S., Edwards, C.A., Arancon, N.Q. y Metzger J.D. 2002. The influence of humic acids derived from earthworm-processed organic wastes on plant growth. *Biores. Technol* **84**:7-14.
- Azizi A.** 2010. Genetic, chemical and agro-morphological evaluation of the medicinal plant *Origanum vulgare* L. for marker assisted improvement of pharmaceutical quality. Justus Liebig University Giessen.
- Azofeifa A.** y Moreira M.A. 2004. Análisis de crecimiento del chile jalapeño (*Capsicum anuum* L. cv. Hot), en Alajuela, Costa Rica. *Agronomía Costarricense* **28**:57-67.
- Barraza F.V.** 2000. Crecimiento del Chile Manzano (*Capsicum pubescens* R. y P.) en cuatro soluciones nutritivas bajo invernadero. Tesis de maestría. Universidad Autónoma de Chapingo, México.
- Barraza F.V.**, Fischer G. y Cardona C.E. 2004. Estudio del proceso de crecimiento del cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el Valle del Sinú medio, *Agronomía Colombiana* **22**:81-90.
- Barroso L.** y Jerez E., 2002. Fenología de la albahaca blanca (*Ocimum basilicum* L.) cultivada en diferentes fechas de siembra. *INCA, Cultivos tropicales* **23**:43-46.
- Barreto D.**, Valero N., Muñoz A. y Peralta A. 2007. Efecto de Microorganismos Rizosféricos sobre Germinación y Crecimiento Temprano de *Anacardium excelsum*. *Zonas áridas* **11**:240-250.
- Barbado J.L.** 2005. Hidroponía. Editorial Albatros. Argentina.
- Barbaro G.D.**, Pernassetti S. y Stegmayer A. 2005. Evaluación del efecto de *Azospirillum brasilensis* en la germinación y emergencia del pimiento pimentonero (*Capsicum annum* L. var. Trompa de elefante). *CIZAS* **6**:74-85.
- Banchio E.**, Xie X., Zhang H. y Paré, P. W. 2009. Soil bacteria elevate essential oil accumulation and emissions in sweet basil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**:653-657.
- Beltrán-Morales F.A.** 2009. Comparación del costo energético de dos manejos del suelo para albahaca. *Terra Latinoamericana* **27**:383-389.
- Caballero J.**, Casas A., Cortés L. y Mapes C. 1998. Patrones en el conocimiento, uso y manejo de plantas en pueblos indígenas de México. *Estudios Actameños* **16**:181-195.
- Calvo S.J.F.**, Esteve S.M.A. y Bermúdez F.L. 2000. Biodiversidad, Contribución a su conocimiento y conservación en la región de Murcia. Universidad de Murcia. España, EDITUM.
- Carrasco G.**, Ramírez P. y Vogel H. 2007. Efecto de la conductividad eléctrica de la solución nutritiva sobre el rendimiento y contenido de aceite esencial en albahaca cultivada en NFT, *IDESIA* **25**:59-62

- Casierra-Posada F.** y Moreno D. 2007. Efecto del estrés por sombra sobre la producción en plantas de limón (*Limonium sp.* cv. Bluestream). *Revista colombiana de Ciencias Hortícolas* **1**:236-238.
- Cazares A.N.P.**, Villavicencio G.E.E., Verde S.J., Peciana Q.V. y Almeyda L.I.H. 2010. Caracterización molecular y producción de aceites esenciales de diferentes genotipos de orégano (*Lippia sp.*), *Revista Mexicana de Ciencias forestales* **1**:85-94.
- Chen Y.**, Magen, H. y Riov J. 1994. Humic substances originating from rapidly decomposing organic matter: properties and effects on plant growth. En N. Senesi, T.M. Miano (Eds.) *Humic substances in the global environment and implications on human health*. Elsevier Science B. V., Amsterdam 427-443 pp.
- Chiquito C.R.G.** 2011. Rizobacterias y hongos arbusculares como alternativa biotecnológica para mejorar el vigor y sanidad de productos de cítricos. Tesis doctoral, Colegio de postgraduados, campus Córdoba Veracruz, México.
- Chirinos M.**, Velázquez R., Ascanio C., Mata J. y Carrasqueño A. 2009. Obtención de aceites esenciales de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) a partir de tejidos cultivados *in vivo* e *in vitro*, *Revista de la Facultad de Agronomía UCV* **35**:28-33.
- Cracker L.E.** 2007. Medicinal and Aromatic Plants: Future Opportunities. Issues in new crops and new uses. J. Janick y A. Whipkey (Eds.). ASHS Press, Alexandria, VA. USA.
- Crovetto C.** 2004. La cero labranza el rastrojo y el carbono del suelo. I Taller Internacional sobre Sistemas de Siembra Directa (SSD). Centro de Desarrollo de la Cero Labranza, Cañete, Perú.
- Constantino M.**, Gomés-Álvarez, R., Álvarez-Solís, J. D., Pat-Fernández, J. y Espín, G. 2010. Efecto de la biofertilización y los biorreguladores en la germinación y el crecimiento de *Carica papaya* L. *Revista Colombiana de Biotecnología* **12**:103-115.
- Dambolena S.J.**, Zunino P.M., Lucini I.E., Olmedo R., Banchio E., Bima J.P. y Zygaldó, A.J. 2010. Total phenolic content, radical scavenging properties, and essential oil composition of organum species from different populations. *Journal of Agricultura and Food Chemistry* **58**:1115–1120.
- Dashti N.**, Zhang R., Hynes R. y Smith D. 1997. Application of plant growth-promoting rhizobacteria to soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) increases protein and dry matter yield under shortseason condition. *Plant Soil* **188**:33-41.
- Dhillon S.S.** 1992. Dual inoculation of pretransplant stage *Oryza sativa* L. plants with indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biology and Fertility of Soils* **13**:147-151.
- Díaz L.P.**, Medina L.F., Latife J. Digonzelli P.A. y Sosa S.B. 2004. Aclimatación de plantas micropropagadas de caña de azúcar utilizando el humus de lombriz. *Revista de Investigación Agropecuarias* **1**:115-128.
- Díaz P.V.**, Ferrera R.C., Almaraz S.J.J. y Alcántar G.G. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra Latinoamericana* **19**:327-335.
- Domínguez J.**, Lazcano C. y Gómez-Barandón M. 2010. Influencia del vermicompost en el crecimiento de las plantas: Aportes para la elaboración de un concepto objetivo. *Acta de Zoología Mexicana* **26**:359-371.

- Eyheraguibel B.**, Silvestre J. y Morard P. 2008. Effects of humic substances derived from organic waste enhancement on the growth and mineral nutrition of maize Bioresource Technology **99**:4206-4212.
- FAO.** 2002. Los fertilizantes y su uso, Una guía de bolsillo para los oficiales de extensión. Cuarta edición, Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la Alimentación asociación internacional de la industria de los fertilizantes, Roma.
- Felix H.J.A.**, Sañudo T.R.R., Rojo M.G.E., Martínez R.R. y Olalde P.V. 2008. Importancia de los abonos orgánicos. Ra Ximhai **4**:57-67.
- Fernández G.** y Johnston M. 1986. Fisiología vegetal experimental. San José, Costa Rica. Serie de libros y materiales educativos **58**:213-214.
- Firman E.B.** 1963. Suelos y fertilizantes. Ed Omega Barcelona. España.
- Florensa P.** y Martínez J. 1991. Horticultura y materia orgánica. Horticultura. **66**:42-50.
- Franco C.M.** 2008. Evaluación de caracteres PGPR en Actinomicetos e Interacciones de estas Rizobacterias con Hongos Formadores de Micorrizas. Tesis doctoral. Universidad de Granada, España.
- García-Nieto L.** 2000. Las plantas medicinales y aromáticas Una alternativa de futuro para el desarrollo rural. Boletín Económico de la Información Comercial Española, ICE, España.
- Gómez G.J.** 2012. Efecto de diferentes sustratos en la germinación, nutrición y desarrollo postemergente de pepinillo (*Cucumis sativus* L.), brócoli (*Brassica oleracea* var. *Italica* L.), jitomate (*Solanum lycopersicum* L.), tomate (*Physalis ixocarpa* Brot. Ex Hornem.) y pimiento (*Capsicum annuum* L.). Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Geraud F.**, Chirinos D., Marín M. y Chirinos D. 1995. Desarrollo de la planta de tomate, *Lycopersicon esculentum* Miller, cv. Río Grande en la zona del río Limón del Estado Zulia, Venezuela. II. Índice de crecimiento relativo, razón de peso foliar y gamma. Revista de la Facultad de Agronomía, (LUZ) **12**:15–23.
- Guerrero-Lagunes L.A.** 2008. Cultivo Intensivo de aromáticas en Hidroponía. Tesis doctoral, Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, Edo. de México.
- Guillén C.R.**, Hernández C.F.D., Gallegos M.G., Rodríguez H.R., Aguilar G.C.N., Padrón C.E. y Reyes V.M.H. 2006. *Bacillus* spp. Como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile. Revista Mexicana de Fitopatología **2**:105-114.
- Gutierrez-Zamora A.** y Martínez-Romero E. 2001. Natural endophytic association between *Rhizobium etli* and maize (*Zea mays* L.). Journal of Biotechnology **91**:117-126.

Gliessman S.R., 2002. Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible. CATIE. Turrialba, Costa Rica.

Hernández H.A. 2011. Ácidos Húmicos y Fúlvicos en La Producción Hidropónica de Chile Manzano (*Capsicum pubescens* R y P) en Invernadero. Tesis de Maestría, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco Edo. de México.

Heufemann G.M.V. 2003. Selectividad y eficacia de herbicidas en el control de malezas sobre el cultivo de Borraja (*Borrago officinalis* L.). Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile.

Hiderman J., Makino A., Kurita Y., Masa T. y Ojima K. 1992. Changes in the levels of chlorophyll and light-harvesting chlorophyll a/b protein of PS II in senescence. *Plant Cell Physiology*. **53**:1209-1214.

Hunt R. 1982. Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis. Edward Arnold Publishers, London.

Jarma A., Rengifo T. y Araméndiz-Tatis. 2006. Fisiología de estevia (*Stevia rebaudiana*) en función de la radiación en el Caribe de Colombia. II. Análisis de crecimiento. *Agronomía Colombiana* **24**:38-47.

Juárez-Rosete C.R. 2010. Fertilización orgánica e inorgánica en la producción y calidad de aceites esenciales en manzanilla, menta y tomillo. Tesis doctoral, Colegio de Postgraduados. Campus Montecillo, Texcoco Edo. de México.

Klauer G.D.F. 2009. Manual técnico del cultivo de orégano. El taller asociación de promoción y desarrollo. Arequipa, Perú.

Maracajá B.P., Sousa H.A. y Marques C.F. 2007. Crecimiento de plantas de hierbabuena en varias dosis de vermicompost en dos de suelos. *Centro Agrícola. Brasil* **34**:61-64.

Marschner H. 1990. Mineral nutrition of higher plants. Ed. Academic Press. San Diego, California, USA.

Martín A.A. 2011. Efectos de la Inoculación del Hongo de Micorrización *Tuber melanosporum* y la Rizobacteria *Pseudomonas Fluorescens* en la Calidad de la Plántula de *Pinus halepensis*. Tesis de licenciatura. Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España.

Martínez-Moreno D., Alvarado-Flores R., Mendoza-Cruz M. y Basurto-Peña F. 2006. "Plantas medicinales de cuatro mercados del Estado de Puebla, México" *Boletín de la Sociedad Botánica de México* **79**:79-87.

Mayak S., Tirosh T. y Glick B. 2004. Plant growthpromoting bacteria confer resistance in tomato plants to salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry* **42**:565-572.

Méndez R., Serrano J., Chataing B., Jiménez D., Mora D., Rojas L., Usubillaga A. y O'callaghan J. 2007. Estudio Comparativo de la Actividad Biológica del Aceite Esencial *Protium heptaphyllum* (Aubl.) March y el Aceite Esencial *Lippia organoides* HBK sobre tres Especies de *Nocardia* sp. *Salud & Desarrollo Social* **2**:49-52.

Mendoza C., G. 2002. La farmacia viviente en Chapingo. Universidad autónoma Chapingo.

- Mesa L.J.**, Castro J. y Méndez P. 1992 .Efecto de la aplicación de ácidos húmicos en hapludult típico de los llanos orientales y su interacción con elementos micronutrientes. *Agronomía Colombiana* **9**:160-178.
- Mohamed M.** y Abdum A. A. 2004. Growth and oil production of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill): effect of irrigation and organic fertilization. *Biology, Agriculture and Horticulture* **22**:31-39
- Moré-Palos E.** y Colom-Gorgues A. 2002. Distribución comercial de plantas aromáticas y medicinales en Cataluña. *Investigación Agraria, Producción y Protección Vegetales* **17**: 43-66
- Moreno R.A.**, Valdés P.M.T. y Zarate L.T. 2005. Desarrollo de tomate en sustratos de vermicompost/arena bajo condiciones de invernadero. *Agricultura Técnica* **65**:26-34.
- Ocampo R.**, Ríos L.A., Betancur L.A. y Ocampo D.M. 2008. Curso práctico de química orgánica. Enfocado a biología y alimentos, Universidad de Caldas, 1° ed. Colombia.
- Ocegueda S.**, Moreno E. y Koleff, P. 2005. Plantas utilizadas en la medicina tradicional y su identificación científica. *CONABIO. Biodiversitas* **62**:12-15.
- Oviedo M.E.** y Iglesias M.C. 2005. Utilización de bacterias solubilizadoras de fósforo en cultivo de raygrás. Universidad Nacional del Nordeste, *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas*, Resumen A-053.
- Orozco-Vidal A.J.**, Palomo-Gil A., Gutiérrez-Del Río E., Espinoza-Banda A. y Hernández-Hernández V. 2008. Dosis de nitrógeno y su efecto en la producción y distribución de biomasa de algodón transgénico. *Terra Latinoamericana* **26**:29-35.
- Ortuño N.**, Velasco J. y Aguirre G. 2012. Humus líquido y microorganismos para favorecer la producción de lechuga (*Lactuca sativa* var. Crespa) en hidroponía. PROINPA. Facultad de Agronomía, Universidad Mayor de San Simón, Bolivia.
- Ortuño-Sánchez M.F.** 2006. Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes. Ed. Aiyana España
- Palá P.J.** 2002. Contribución al Conocimiento de los Aceites Esenciales del Género "*Eryngium*" L, en la Península Ibérica. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
- Paredes-Mendoza M.** y Espinosa-Victoria D. 2010. Ácidos Orgánicos Producidos por Rizobacterias que Solubilizan Fosfato: Una Revisión Crítica. *Terra Latinoamericana* **28**:61-70
- Pedroza-Manrique J.**, Corchuelo G. y Angarita A. 1997. Análisis de crecimiento de *Limoniurn sinuatum* Mill c.v. *Midnight blue* propagada sexual y asexualmente a partir de yemas vegetativas y florales. *Agronomía Colombiana* **14**:1-12.
- Pedroza-Manrique J.** 2006. Efecto de la fertilización con calfos, malezas acuáticas y gallinaza en la adaptación de seis especies pioneras para revitalización de zonas erosionadas del municipio de Bojacá, Cundinamarca. *Revista Científica, Norteamérica*. **8**:111-130.
- Pereira J.**, Cavalcante V., Bldani J. y Dobereiner J. 1988. *Sorghum* and rice inoculation with *Azospirillum* sp. and *Herbaspirillum seropedicae* in field. *Plant Soil* **110**:269-274.

- Pérez A.J.A.**, García M.E., Enríquez Q.J.F., Quero C.A.R., Pérez P.J. y Hernández G.A. 2004. Análisis de crecimiento, área foliar específica y concentración de nitrógeno en hojas de pasto "mulato" (*Brachiaria híbrido*, cv.). Técnica Pecuaria en México **42**:447-458.
- Petit A.G.** y Marcía S.J.R. 2009. Evaluación de la fertilización orgánica como alternativa suplementaria a la fertilización química en el sistema de producción del cultivo de tomate. FHIA. Honduras, Informe técnico.
- Piekielek W.P.** y Fox R.H. 1992. Use of a chlorophyll meter to predict nitrogen requirements for maize. Agronomy **84**:59-65.
- Prabha M.L.**, Jayraay I.A., Jayraay R. y Rao D.S. 2007. Effect of vermicompost on growth parameters of selected vegetable and medicinal plants. Asian Journal of Microbiology, Biotechnology and Environmental Sciences **9**:321-326.
- Pravuschi P.R.**, Alves M.P.A., Marega R.B.H. y Pacheco S.A.C. 2010. Efeito de diferentes lâminas de irrigação na produção de óleo essencial do manjeriço (*Ocimum basilicum* L.). Acta Scientiarum Agronomy **32**:687-693.
- Pulido L.E.** Medina N. y Cabrera A. 2003. La Biofertilización con Rizobacterias y Hongos Micorrízicos Arbusculares en la producción de Posturas de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y Cebolla (*Alium cepa* L.). I. Crecimiento vegetativo. Cultivos Tropicales **24**:15-24.
- Ramírez C.** 2006. Nutrición mineral y producción vegetal. En: Clavijo J., Bareño P., Guido C. y Chaparro L. (Eds). Últimas tendencias en hierbas aromáticas culinarias para exportación en fresco. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá, Colombia. 22-30 pp.
- Ramírez S.L.F.**, Alcántar G.G., Ortega E.M., Escalante E.A., Soto H.M. y Sánchez G.P. 1998. Fertilización Foliar Orgánica y rendimiento de sorgo en condiciones de salinidad. Terra Latinoamericana **16**:205-210.
- Ramos R.R.** 2000. Aplicación de sustancias húmicas comerciales como productos de acción bioestimulante: efectos frente al estrés salino. Tesis de Doctorado. Universidad de Alicante Facultad de Ciencias. Departamento de Agroquímica y Bioquímica, España.
- Rojas V.A.N.** 2010. Cultivo hidropónico y manejo nutrimental de la producción anual de *Antirrhinum majus* L. en condiciones de invernadero. Tesis Doctoral, Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.
- Reigosa M.**, Pedrol N. y Sánchez A. 2003. La Ecofisiología Vegetal una ciencia de síntesis Internacional. 1ra edición. Thomson Editores Spain Paraninfo S.A.
- Reyes I.**, Alvarez L., Ayoubi H.E. y Valery A. 2008 Elección y Evaluación de Rizobacterias Promotoras del Crecimiento en Pimentón y Maíz. Bioagro **20**:37-48.
- Ruiz-Espinoza F.H.**, Murillo-Amador B., García-Hernández J.L., Troyo-Diéguez E., Palacios-Espinoza A., Beltrán-Morales A., Fenech-Larios L., Zamora-Salgado S., Marrero-Labrador P., Nieto-Garibay A. y Cruz de la Paz, O. 2009 Mediciones lineales en la hoja para la estimación no destructiva del área foliar en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) *Revista Chapingo*. Serie horticultura **13**:29-34
- Salisbury F.B.** y Ross C.W. 1994. Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica S.A., México.

Sainz R.H. y Echeverría H.E. 1998. Relación entre las lecturas del medidor de clorofila (Minolta SPAD 502) en distintos estadios del ciclo del cultivo de maíz y el rendimiento en grano. *Revista de la Facultad de Agronomía* **103**: 37-44.

Sandoval M.C., 2009. Control biológico de *Colletotrichum fusarioides* O'Gara, patógeno de semillas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) con *Trichoderma* Rifai, *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* **8**:104-109.

Santillana N. 2001. Efecto de la Biofertilización en el crecimiento de *Trifolium repens* y *Lolium multiflorum* en condiciones de invernadero. En: Vilca J. (Edit). *Investigación 1684-1689* pp.

Santillana N., Freire J.R.J., Sá E.L.S. y Sato M. 1998. Avaliação de estirpes de Rizóbio para a produção de inoculantes para trevo vermelho. *Revista Brasileira Ci Solo* **22**: 231-37.

Santillana V.N. 2006, Producción de biofertilizantes utilizando *Pseudomonas* sp. biofertilizers production using *Pseudomonas* sp. *Ecología Aplicada* **5**:87-91.

Sánchez E.J., Rodríguez-Mendoza M.N., Sánchez-Ramírez C.V. y Fernandez-Luqueño F. 2008. *Abonos orgánicos*. Papiro Omega S.A. de C. V. 1ª edición.

Sánchez V.J. 2007. *Fertilidad del suelo y nutrición mineral de plantas*. FERTITEC S.A. Panamá.

Sánchez-González L., Vargas M., González-Martínez C., Cháfer M. y Chiralt A. 2008. Incorporación de productos naturales en recubrimientos comestibles para la conservación de alimentos. VIII Congreso SEAE Bullas, España.

Sendín C.J.F., Esteve S.M.A. y López B.F. 2000. *Biodiversidad: contribución a su conocimiento y conservación en la Región de Murcia*. Instituto del Agua y del Medio Ambiente, Universidad de Murcia. EDITUM.

Serrato-Cruz M.A., Díaz-Cedillo F. y Barajas-Pérez J.S. 2008. Composición del aceite Esencial en Germoplasma de *Tagetes filifolia* Lag. . De la Región Centro-Sur De México, Universidad Autónoma Chapingo. *Agrociencia* **42**:277-285.

Taiz L. y Zeiger E. 1991. *Plant physiology*. California. Benjamin Cummings. USA. 565 pp.

Trujillo I., Díaz A., Hernández A. y Heydrich M. 2007. Antagonismo de cepas de *Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia* contra hongos fitopatógenos del arroz y el maíz. *Protección Vegetal* **22**:41-46.

Ureña H. y Curimilma V. 1982. Cuatro métodos de compostaje y su efecto en el cultivo de maíz y maní en Zapotepamba. Tesis Ingeniería Agrónoma. Facultad de Ciencias Agrícolas. Universidad Nacional de Loja, Ecuador.

Velasco V.J., Cerrato F.R. y Suárez A.J.J. 2001. Vermicompost, micorriza arbustiva arbuscular y *Azospillum brasilense* en tomate de cascara. *Terra Latinoamericana* **19**:241-248.

Velázquez-Becerra C., Macías-Rodríguez L.I., López-Bucio J., Flores-Cortés I., Santoyo-Pizano G. y Valencia-Cantero E. 2010. Actividad inhibitoria del compuesto volátil bacteriano dimetilhexadecilamina sobre fitopatógenos. Instituto de Investigaciones Químico Biológicas; Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia; Michoacán, México **12**:96-101

Velázquez-Becerra C., Orozco-Mosqueda M.C., Macías-Rodríguez L.I., Flores-Cortez I., Santoyo-Pizano G. y Valencia-Cantero E. 2011. La planta leguminosa *Medicago truncatula* y la rizobacteria *Arthrobacter agilis* se perciben mutuamente por medio de sus compuestos orgánicos volátiles. *Ciencia Nicolaita* **52**:41-54.

Velázquez M., Ventura E., Hernández A., Aguilar S. y Hernández A.N. 1999. Estudio de la interacción Maíz-*Burkholderia (Pseudomonas) cepacia*. *Revista Latinoamericana de Microbiología* **41**:17-23.

Ventura G., Castro A., Roque M. y Ruiz J. 2009, Composición química del aceite esencial de *Erythroxylum coca* Lam var. *coca* (coca) y evaluación de su actividad antibacteriana. *Ciencia e Investigación* **12**: 24-28.

Vidaurre de la Riva P.J. 2006. Plantas medicinales en los Andes de Bolivia, *Botanica Economica de los Andes Centrales*, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. 268-284 pp.

Villar R., Ruiz-Robleto J., Quero J.L., Poorter H., Valladares F. y Marañón T. 2004. *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid.

Wagner H. y Blatt S. 1996. *Plant drug analysis*. Springer Verlag. Berlin.

Zachariakis M., Tzorakakis E., Kritsotakis I., Siminis C.I. y Manios, V. 2001. Humic substances stimulate plant growth and nutrient accumulation in grapevine rootstocks *Proc. Int. Symp. on Composting of Organic Matter*. Eds. Balis *et al.* Acta de Horticultura.

Zermeño G.H. 2002. Aplicación de ácidos húmicos en el cultivo de hortalizas. Instituto tecnológico Agropecuario. *Memorias de la XIV Semana Internacional de Agronomía FAZ-UJED*. México.

9. Apéndice 1

ANÁLISIS POR EFECTO DE RIEGO CON ÁCIDOS HÚMICOS

VARIABLE	AGRUPAMIENTO	MEDIA	NÚMERO DE OBSERVACIONES	RIEGO	ALFA	GRADOS DE LIBERTAD	DIFERENCIA SIGNIFICATIVA MÍNIMA
SPAD	A	43.560	20	CON	0.05	38	2.5994
	A	41.650	20	SIN			
DT	A	4.8080	20	SIN	0.05	38	0.3304
	A	4.7520	20	CON			
LT	A	30.360	20	CON	0.05	38	2.2326
	A	35.285	20	SIN			
VR	A	7.00	20	CON	0.05	38	1.6062
	A			SIN			
	B	5.20	20				
AF	A	879.66	20	SIN	0.05	38	106.85
	B	730.01	20	CON			
PSR	A	1.6935	20	CON	0.05	38	0.4599
	B	1.2195	20	SIN			
PST	A	2.9470	20	SIN	0.05	38	0.3241
	A	2.7335	20	CON			
PSH	A	3.4830	20	SIN	0.05	38	0.3537
	A	3.4550	20	CON			

Letras iguales no son significativamente diferentes

ANÁLISIS POR EFECTO DE INOCULACIÓN DE BACTERIA

NO.	VARIABLE	GRADOS DE LIBERTAD	VALOR F	PROBABILIDAD Pr > F
1	SPAD	39	2.21	0.1451
2	DT	39	0.12	0.7334
3	LT	39	0.95	0.3359
4	VR	39	5.15	0.0290
5	AF	39	8.04	0.0073
6	PSR	39	4.35	0.0437
7	PST	39	1.78	0.1903
8	PSH	39	0.03	0.8735

Diferencias significativas ($p \leq 0.05$)

INTERACCIÓN BACTERIA Y RIEGO

NO.	VARIABLE	GRADOS DE LIBERTAD	VALOR F	PROBABILIDAD Pr > F
1	SPAD	39	1.09	0.3666
2	DT	39	0.91	0.4470
3	LT	39	1.47	0.2396
4	VR	39	5.64	0.0028
5	AF	39	23.32	0.0001
6	PSR	39	8.14	0.0003
7	PST	39	1.95	0.1384
8	PSH	39	3.92	0.0161

Diferencias significativas ($p \leq 0.05$)