

00369

3



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

EFFECTO DE LA FERTILIZACIÓN Y ABONAMIENTO EN LA
PRODUCCIÓN DE CEMPASÚCHIL (*Tagetes erecta L.*) Y SU
CONTENIDO EN CAROTENOIDES, EN CONDICIONES DE
TEMPORAL, EN SAN ANDRÉS METLA, MUNICIPIO DE
COCOTITLÁN, ESTADO DE MÉXICO.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO
ACADÉMICO DE MAESTRA EN
CIENCIAS (EDAFOLOGÍA)
P R E S E N T A :
Q.F.B. MA. DE LOURDES ROMERO MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. DAVID FLORES ROMÁN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

AGRADECIMIENTOS

Es muy grato para mi manifestar un gran reconocimiento a las siguientes instituciones, por brindarme la oportunidad de llevar a cabo los estudios pertinentes, así como, la realización de la presente investigación.

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias de la UNAM

Instituto de Geología, en particular al Departamento de Edafología, Laboratorios de Fertilidad y Física de Suelos

Asimismo, deseo expresar mi infinita gratitud a las siguientes personas:

Dr. David Flores Román por su incondicional ayuda y acertada dirección, particularmente, durante el trabajo de campo y revisión del manuscrito.

A los miembros del H. Jurado:

Dr. David Flores Román

Dra. Norma Eugenia García Calderón

Dr. Otilio Arturo Acevedo Sandoval.

M. en C. Gilberto Vela Correa

M. en C. Alma Socorro Velázquez Rodríguez

M. en C. Rosalía Ramos Bello

Por sus críticos comentarios y relevantes aportaciones.

Al Dr. Federico García Jiménez del Instituto de Química de la UNAM, por haberme apoyado logísticamente en la determinación espectrofotométrica de carotenoides.

A los Laboratorios Bayer de México, S.A. de C.V. agradezco haberme proporcionado el producto Cupravit hidro utilizado en el estudio, y en particular al Ing. Abel Toledo, Gerente Técnico de la División Agrícola.

Deseo hacer patente el agradecimiento por el apoyo recibido por El Colegio Nacional de Ciencias y Humanidades de la UNAM, a través del Programa de Formación del Personal Académico, mismo que me permitió culminar mis estudios de maestría.

Josemaría Escrivá de Balaguer

“Persevera, voluntariamente y con amor – aunque estés seco -, en tu vida de piedad. Y no te importe si te sorprendes contando los minutos o las horas que faltan para acabar esa norma de piedad o ese trabajo, con el turbio regocijo que pone, semejante operación; el chico mal estudiante, que sueña con que se termine el curso; o el quinceañero, que espera volver a sus andadas.”

“! Gracias, Señor, porque – al permitir la tentación – nos das también la hermosura y la fortaleza de tu gracia, para que seamos vencedores!
! Gracias, Señor, por las tentaciones, que permites para que seamos humildes!”

Perseveren – insisto – con eficaz y actual voluntad,
sin dejar ni un instante de querer hacer y aprovechar
los medios que la vida les brinda

A mis hijos, Patricia y Francisco

Que son mi razón de ser, les dedico esta pequeña
obra como ejemplo de perseverancia y amor;
gracias por su comprensión por las horas que no
estuve con ustedes, gracias, por todo su apoyo
y colaboración en este trabajo.

Gracias, a mis padres Victoria y Prisciliano,
por que sin ellos, no sería lo que soy ahora, a
mis hermanos: Carlos, Raúl, Juan José y Guadalupe.

A mis profesores y amigos que contribuyeron para
que esta obra fuera una realidad.

En los últimos años, se ha dado mucha importancia al uso de pigmentos en la avicultura para incrementar la coloración amarilla o amarillo naranja de la yema del huevo y del pollo. Esto se debe a la marcada preferencia del consumidor por dichas tonalidades, debido a que lo asocian inconscientemente con un mejor sabor y calidad de dichos productos (Vera, 1987).

Uno de los pigmentos naturales más usados en la industria de la avicultura son las xantófilas, pertenecientes al grupo de los carotenoides (Suárez, 1987). Únicamente las plantas sintetizan los carotenoides, los animales carecen de esa habilidad (Becerril *et al.*, 1988). Con base en lo anterior, la importancia de este estudio fue: determinar si existe alguna relación entre el cobre (hidróxido cúprico $\text{Cu}(\text{OH})_2$) y un incremento en la concentración de carotenoides en los pétalos de la flor de cempasúchil, así como, la dosis óptima de fertilizante químico y abono orgánico para incrementar el rendimiento del cempasúchil lo cual, proporcionaría una ayuda valiosa para el agricultor y el avicultor.

La investigación, se realizó bajo condiciones de campo y de temporal en San Andrés Metla, Municipio de Cocotitlán, Estado de México.

Los parámetros de estudio fueron: altura de la planta, peso fresco y seco, número de botones y de flores, diámetro de la flor y concentración de carotenoides.

Se utilizó la variedad Hawaii con un ciclo vegetativo de 110 – 120 días. Los factores estudiados fueron el estiércol de bovino a dos niveles 0 y 15 t ha⁻¹; fertilizante químico compuesto por sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ y superfosfato de calcio simple $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ a tres niveles 0 0 0; 80 40 00 y 120 80 00 y el hidróxido cúprico $\text{Cu}(\text{OH})_2$ "cupravit hidro" (nombre comercial) en tres niveles 0, 15 y 30 g L⁻¹. Se seleccionó un diseño experimental trifactorial en parcelas y distribuidas en bloques al azar, con cuatro repeticiones y con un total de 18 tratamientos. La unidad experimental total tuvo una superficie de 6.30 m²; la aplicación del abono se hizo el mismo día que se sembró, mientras que el fertilizante se aplicó a los 40 días de la emergencia y el cupravit ocho días después del fertilizante. El primer muestreo se realizó a los 103 días, para lo cual, se recolectaron 5 plantas del surco central de cada unidad

y se determinaron *in situ* los parámetros antes mencionados, excepto peso seco y concentración de carotenoides. Para el análisis de este último, a los 120 días, se recolectaron las inflorescencias de cada unidad experimental y se llevó a cabo la extracción de carotenoides (Gayle *et al.*, 1986) y su cuantificación espectrofotométrica.

Los resultados obtenidos se trataron estadísticamente con las pruebas de ANDEVA y Tukey con un $\alpha = 0.01$, para determinar el efecto de los factores y las diferencias entre medias, respectivamente.

Del análisis estadístico, se derivó que el abono orgánico y el fertilizante químico proporcionaron los nutrimentos requeridos para el desarrollo de la planta. El abono tuvo un efecto significativo en peso fresco, seco y número de botones; el fertilizante tuvo un efecto altamente significativo en peso fresco y significativo en peso seco y número de flores por planta; la interacción de estos factores únicamente fue significativa en peso fresco.

No existió ningún efecto sobre los parámetros altura de la planta, diámetro de la flor y concentración de carotenoides.

Las principales conclusiones señalan:

- 1) La dosis de 15 t ha^{-1} de estiércol de bovino y 120 80 00 de fertilizante (sulfato de amonio y superfosfato de calcio simple) fueron las que tuvieron efecto significativo en el desarrollo y productividad del cempasúchil.
- 2) No se encontró estadísticamente una relación entre el cupravit y el contenido de carotenoides,

II. OBJETIVO E HIPÓTESIS

Objetivo general

Determinar el efecto del fertilizante (sulfato de amonio y superfosfato de calcio simple) y del abono (estiércol de bovino), en el rendimiento del cultivo de cempasúchil, así como, el efecto de hidróxido cúprico “cupravit hidro” en la concentración de carotenoides en la flor.

Objetivos específicos

1. Determinar la dosis óptima del fertilizante químico y de abono en función del rendimiento en el cultivo de cempasúchil.
2. Determinar el efecto de las dosis de hidróxido cúprico “cupravit hidro” en la concentración de carotenoides en la flor.

Hipótesis

- A mayor dosis de fertilizante existirá mayor desarrollo de la planta de cempasúchil.
- Si el estiércol es un abono nitrogenado y además, proporciona materia orgánica entonces, producirá el mismo efecto en el desarrollo del cempasúchil que la dosis alta de fertilizante.
- Existe mayor concentración de carotenoides en la flor de cempasúchil cuando la planta es tratada con una solución más concentrada de hidróxido cúprico.

III. MARCO TEÓRICO

III.1. CEMPASÚCHIL

III. 1.1. Descripción Botánica

Fred *et al.*, (1963), mencionan que el cempasúchil (*Tagetes erecta*, L) pertenece al:

Orden: *Campanulatae*
Familia: *Compositae (Asteraceae)*
Tribu: *Tagetae*
Subtribu: *Tagetanae*
Género: *Tagetes*
Especie: *Tagetes erecta* L

Es una planta de ciclo corto, que florece de forma continua durante el verano y hasta llegar a los fríos otoñales, de porte erguido y de rápido crecimiento. La altura varia de 0.5 a 1.8 m, tallo estriado; hojas opuestas, pinnadamente divididas entre oblongas o lanceoladas, con 11 a 17 segmentos aserrados con los dientes muy agudos de 1 a 5 cm de largo, con glándulas pelúcidas, que contienen aceites esenciales de aroma penetrante; están montadas con una larga arista débil cerca del margen. Son plantas sin látex. Es adecuada para la formación de bancales y bordes.

La planta de cempasúchil es moderadamente resistente a las condiciones climatológicas, ha de instalarse al sol y sobre suelos fértiles bien drenados. Deben de eliminarse las inflorescencias marchitas a fin de garantizar un largo período de floración. Las inflorescencias en cabezuelas sencillas con una o más hileras de pétalos de color amarillo, anaranjado o rojizo, diámetro de cabezuela de 5 a 13 cm. Ariza (1967), menciona que presentan flores dimorfas: las marginales liguladas

femeninas y las centrales son hermafroditas formando capítulos radiados, pedunculados, dispuestos en corimbos a veces solitarios en el ápice de las ramas que en conjunto forman corimbos laxos. La inflorescencia es el órgano más importante en la producción.

Los frutos son aquenios fusiformes, oscuros provistos de un conspicuo cáliz basal amarillento. Pappus formado de cinco a diez pajitas desiguales, unas más largas que otras, escamiformes.

Towner (1962), estudió el número cromosómico de las especies *Tagetes erecta*, la cual es diploide $2n = 24$, además, menciona que las inflorescencias dobles presentan un carácter monogénico dominante sobre las sencillas; en cuanto a precocidad, especifica que este carácter es controlado por un sólo par de genes, siendo precoz el doble recesivo. La corola redonda con antocianina, que da el color rojo o anaranjado fuerte, es segregada como un carácter simple dominante y las flores tubulares líguladas segregan como un carácter simple recesivo en cruces interespecíficas. En *Tagetes* se presenta el vigor híbrido, se ha observado que los híbridos entre cultivares de la misma especie, con frecuencia son más vigorosos que cualquiera de sus progenitores, sus flores son más grandes y tienen el mismo número de cromosomas.

Little *et al.*, (1940), concluyeron que la virescencia en *T. erecta* es un carácter con el cual se retrasa el desarrollo de la clorofila en el tallo y hojas. Los días largos y el tiempo frío son necesarios para la expresión de tal virescencia, es un carácter simple recesivo que tiene acción parcialmente letal. Mencionan además, que las plantas con deficiencia de clorofila, alargan su madurez. Referente a precocidad, encontraron que ésta es controlada por un solo par de genes, siendo precoz el doble recesivo; estas características son heredadas independientemente.

III.1. 2. Origen

El nombre de cempasúchil proviene del vocablo náhuatl *cempoal* (veinte) – *xochitl* (flor), que significa “veinte flores” (Martínez, 1959). Fray Bernardino de Sahagún, hace referencia a esta flor en el libro *Historia General de las Cosas de la Nueva España*, la llama *cempoalxóchitl*, flores amarillas y de buen olor, anchas y hermosas, unas nacen y otras se siembran en los huertos; son de dos maneras, las “hembras *cempoalxóchitl*” son grandes y hermosas, otras las llama “machos *cempoalxóchitl*” y no son tan hermosas ni tan grandes (Vázquez, 1985).

El *cempoalxóchitl* es entre las plantas ornamentales la más exótica. El nombre de marigold en inglés (maravilla, flor de muerto), es compartido por las flores del género *Tagetes*, nombre que deriva del dios Etrusco Tages. Los *Tagetes* son considerados como el símbolo de “poca estima”.

El *Tagetes* es una flor muy difundida y común, porque sus variedades pueden ser gigantes, medianas o enanas. Sus corolas son de diversos colores, que varían del amarillo al morado, con muchas mezclas y matizaciones, sus flores se presentan dobles o simples.

Esta planta fue introducida en México y Guatemala alrededor de 1573. Entre las más de treinta especies de *Tagetes* conocidas, *Tagetes erecta*, L., algunas veces referida como *African marigold*. Martínez (1979), menciona que es indudablemente la más popular, se pensó por mucho tiempo que era originaria de África. Zeven y Zhukovsky (1975), indican que *Tagetes erecta* es originaria de México.

III.1.3. Distribución Geográfica

El cempasúchil se distribuye en casi toda América y se ha introducido en diferentes partes de Europa y el sur de Asia. Kaplan (1960), ha estudiado con más detalle la distribución de este género. Gómez op. cit, señala que se conocen 50 especies de cempasúchil, de las cuales 32 se encuentran distribuidas en México por lo cual se supone que es el centro de origen. Trostle (1968), menciona que *Tagetes* se distribuye desde el sureste de los Estados Unidos hasta Argentina. A continuación se especifican las diferentes especies de *Tagetes*, así como su distribución (Cuadro I. 1).

Cuadro I.1. Distribución de diferentes especies de *Tagetes* (Kaplan, 1960)

ESPECIE	DISTRIBUCIÓN
<i>T. florida</i>	Durango y sur de S.L.P.
<i>T. lúcida</i>	Nuevo México y Guatemala
<i>T. pinada</i>	Veracruz y Guatemala
<i>T. seleri</i>	Veracruz y Chiapas
<i>T. pringlei</i>	Chihuahua y Estado de México
<i>T. parryi</i>	S.L.P.
<i>T. lacera</i>	Baja California
<i>T. limmoni</i>	Arizona, U.S.A.
<i>T. palmeri</i>	Chihuahua
<i>T. linobolia</i>	Puebla
<i>T. stenophylla</i>	Jalisco y Michoacán
<i>T. hartwegüi</i>	Jalisco
<i>T. subvillosa</i>	Sur de México
<i>T. zipaquirensis</i>	Sonora
<i>T. subalata</i>	B.C., Sinaloa hasta Colombia
<i>T. erecta</i>	México, América Central, India, Florida Sudamérica
<i>T. pátula</i>	México, Guatemala
<i>T. remotifolia</i>	Veracruz, Yucatán y Costa Rica
<i>T. elongata</i>	S.L.P., Zacatecas, Veracruz
<i>T. tenuifolia</i>	S.L.P., Colombia y Perú
<i>T. heterocarpha</i>	Jalisco
<i>T. factidissima</i>	Sur de México y Guatemala
<i>T. nelssonii</i>	Chiapas
<i>T. minuta</i>	México, Perú, Brasil, Argentina, Chile
<i>T. wislizenir</i>	Chihuahua
<i>T. microglasa</i>	Guatemala, Ecuador
<i>T. trisadiata</i>	Valle de México, Veracruz
<i>T. jaliscana</i>	Jalisco
<i>T. cronopifolia</i>	Sur de México
<i>T. pusilla</i>	Costa Rica, Bolivia
<i>T. bilibolia</i>	B.C., S L.P., Costa Rica
<i>T. micrautha</i>	Q. Roo, Nuevo México y Arizona

III. 1. 4. Requerimientos Nutricionales

Los elementos nutritivos son necesarios para que la planta alcance el máximo desarrollo. Estos se clasifican en macronutrientes: N, P, K, Ca, Mg y S, que son requeridos por la planta en cantidades relativamente grandes. Otros como el B, Cl, Cu, Mn, Mo y Zn, son requeridos en pequeñas cantidades y se les denomina micronutrientes u oligoelementos (León, 1991).

Bould (1974), menciona que la aplicación de nitrógeno en las plantas modifica el crecimiento vegetativo, iniciación floral, altura de la planta y longevidad del saco embrionario. Una deficiencia se traduce en una palidez gradual o clorosis de las hojas maduras, que llegan a tornarse amarillentas y se desprenden; producción de antocianinas en tallos, nervaduras foliares y peciolo, los cuales se tornan rojos o púrpuras y existe además, poca formación de botones, flores y hojas.

Shoemaker (1978), establece que cuando se hace uso de la fertilización nitrogenada, la respuesta de las plantas presenta una marcada tendencia a incrementar el número de botones, flores, frutos y área foliar.

West *et al.*, (1981) cultivaron en suelos arenosos: *Petunias*, *Asters*, *Coleus*, *Celosias*, *Antirrhinum* y *Tagetes*, probaron los siguientes tratamientos cambiando sólo la relación de N, P, K y dosis en ppm:

Primer tratamiento: 100 ppm de N, P, K en una relación de 9 – 1 – 2.5

Segundo tratamiento: 800 ppm de N, P, K en una relación de 4 – 1 – 4

Tercer tratamiento: 2 330 ppm de N, P, K en una relación de 4 – 1 – 4

Cuarto tratamiento: 3 910 ppm de N, P, K en una relación de 4 – 1 – 4

Quinto tratamiento: 5 450 ppm de N, P, K en una relación de 4 – 1 – 4

El porcentaje de crecimiento fue tomado después de 13 días de aplicados los tratamientos, presentándose marcadas diferencias y efectos. En las seis especies, el crecimiento se redujo en un 25 % con la concentración más alta; en todos los tratamientos se presentó una reducción en el peso seco, en área foliar y en porcentaje de crecimiento de la hoja, particularmente en *Tagetes*, *Aster*, *Coleus* y *Antirrhinum*. En el nivel de concentración más alto de N, P, K las hojas de *Tagetes* fueron las únicas que mostraron marchitamiento.

Arora y Singh (1981), reportaron la fertilización en *Tagetes erecta* en la India, con dosis de N y P_2O_5 a diferentes niveles por m^2 , obtuvieron los rendimientos más altos de flores cuando se aplicaron 40 g de N y 40 g de P_2O_5 . El tratamiento más económico fue: 40 g de N y 20 g de P_2O_5 por m^2 .

Wootton *et al.*, (1981), sometieron a tratamiento tres plantas anuales: *Tagetes erecta* L., *Zinnia elegans* y *Petunia híbrida*, las cuales se desarrollaron en varios medios de composta de lodo la cual, una vez seca se tamizó y se tomó como base el tamaño de las fracciones: fino menor de (2.38 mm), medio (2.38 a 4.76), y gruesa (4.76 a 9.52 mm). El desarrollo se determinó por el peso seco de los retoños, el cual fue mayor en la composta de tamaño fino. No se observó ningún síntoma de deficiencia o toxicidad. El peso de los retoños se incrementó por la adición de fertilizante N, P, K

Arutmozhiyan y Pappaiah (1989), reportaron el tratamiento de *Tagetes erecta* L., con aplicación de nitrógeno en las dosis: 0, 80, 120 $kg\ ha^{-1}$; P_2O_5 a 0, 90, 120 $kg\ ha^{-1}$; K_2O a 30 $kg\ ha^{-1}$ y ácido ascórbico a una concentración de 1000 ppm, éste último se aplicó por aspersión a los 15 y 30 días después del transplante. Los datos registrados fueron altura y número de flores por planta. Las plantas que recibieron dosis alta de nitrógeno y ácido ascórbico a los 30 días, tuvieron un rendimiento de 54.6 $t\ ha^{-1}$.

Martínez, (1990), reportó que en la República Mexicana se tienen pocos estudios acerca de las necesidades de nutrimentos en la producción del cempasúchil. Es por eso que los productores de forma empírica aplican diferentes cantidades de fertilizantes, utilizando en años posteriores las cantidades que determinan una mayor productividad. El Cuadro 1.2, muestra las fórmulas frecuentemente utilizadas por los productores de las áreas analizadas. En el Estado de México, el cempasúchil no se fertiliza, sólo se aplica materia orgánica. Las fuentes de fertilizantes utilizadas, principalmente, son para nitrógeno: amoníaco NH_3 , sulfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, urea $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ y para fósforo: superfosfato de calcio simple $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ y triple Ca_3PO_4 . La época de aplicación del fertilizante varía con la región y el productor.

Cuadro 1.2. Dosis de fertilización por Municipio para *Tagetes*.

Municipio	Fórmula
Acambaro, Gto.	180 – 45 – 00
Celaya, Gto.	180 – 40 – 00
Commonfort, Gto.	44 – 40 – 00
Irapuato, Gto.	100 – 80 – 00
Salvatierra, Gto	140 – 80 – 00
Yuriría, Gto.	200 – 120 – 00
Irimbo, Mich.	100 – 95 – 00
J. Sixto Verduzco, Mich.	90 – 80 – 00
Maravatio, Mich.	200 – 100 – 00
Axochiapan, Mor.	90 – 60 – 00
Cuautla, Mor.	120 – 60 – 00
Jonacatepec, Mor.	140 – 50 – 00
Tlaquiltenango, Mor.	140 – 50 – 00
Chietla, Pue.	80 – 80 – 00
Queretaro, Qro.	120 – 40 – 00

Fuente: Martínez, C. 1990

Tolman *et al.*, (1990), determinaron la influencia de la edad de la planta con respecto a la absorción de nutrimentos en *Tagetes erecta*. Colocaron plantas de 30, 35, 40, 45 y 50 días de edad, en macetas que contenían turba y agrolita en relación 1:1 (v/v), el medio fue tratado con diferentes dosis de fertilización N al 20, 50, 80 y 110 mg l⁻¹; la concentración de la solución nutritiva en el medio fue determinado 6 horas después de su aplicación. Las plantas más viejas absorbieron más N, P, K de la solución del medio que las más jóvenes, además, las plantas de 40 días de edad absorbieron por lo menos el 88% del N de la solución.

Jacques *et al.*, (1992), reportaron el comportamiento de *Tagetes patula* L., e *Impatiens walleriana*; una vez germinadas se transplantaron para su desarrollo en 4 macetas de plástico, cada una sirvió como unidad experimental. Todas fueron llenadas con medios preparados de la siguiente forma:

1. Mezcla de turba y agrolita en la relación 1:1 (v/v) y
2. Suelo, turba y agrolita en la proporción 3:5:3 (v/v)

Los medios fueron mejorados con 1.5 kg m⁻³ 0 – 14 – 0 de (N - P - K), mientras que el segundo fue mejorado con 2.5 kg m⁻³ de cal. Todos los medios fueron irrigados con 0, 100, 200, 300, o 400 mg de N l⁻¹. La concentración de potasio se mantuvo en 200 mg K l⁻¹, usando KNO₃. Los resultados mostraron que con 100 y 200 mg N l⁻¹ fue mayor la masa seca que en 0 y 300 mg N l⁻¹, con la segunda mezcla se observó una mayor masa seca cuando se fertilizaron con 100 o 200 mg N l⁻¹; las que crecieron en 0 mg de N l⁻¹ exhibieron calidad y crecimiento bajo, mientras que las tratadas con 400 mg N l⁻¹ presentaron elevada mortandad.

Arnold *et al.*, (1993), realizaron tratamientos con $\text{Cu}(\text{OH})_2$ a dosis de 25, 50 y 100 g l^{-1} , (1.8, 3.5 y 7% respectivamente) en cuatro cultivos anuales: *Tagetes patula* L., *Celosia cristata* L., *Impatiens wallerana*, y *Pelargonium domesticum* y dos cultivos perennes: *Crysanthemum superbium* y *Coreopsis lanceolata* L. Las plantas se cultivaron inicialmente en invernadero, posteriormente se transplantaron a una parcela en campo. Se observó que los tratamientos con 50 y 100 g l^{-1} incrementaron el desarrollo vegetativo de *C. cristata*, *P. domesticum* y el número de flores en *I. walleriana*, comparado con el control. La solución de hidróxido cúprico se adicionó al suelo.

Bandyopadhyay y Das (1994), reportaron el efecto de varios micronutrientes en el carácter floral y producción de semillas en *Tagetes erecta*. Observaron que la mayoría de los caracteres florales y de las semillas excepto por la profundidad y el tamaño de la flor tuvieron un efecto significativo, con las aplicaciones foliares de sulfato de cobre CuSO_4 , la mezcla de sulfato de cobre CuSO_4 y sulfato de zinc ZnSO_4 y el quelato en el suelo; se obtuvo un mayor efecto en la longitud del tallo floral, número de semillas por flor, peso y profundidad de la flor. Se ha demostrado que el número de flores por planta, la producción de semillas por parcela y semillas producidas por hectárea tienen un efecto relativamente mayor cuando el sulfato de cobre se aplica foliarmente. El tamaño de la flor y el peso de cien semillas fue más pronunciado cuando se aplicó el quelato. La producción más elevada de semillas se obtuvo cuando se aplicó el sulfato de cobre al 0.1 % en forma foliar seguido por la aplicación del quelato.

III.1.5. Requerimientos Ecológicos.

Es un cultivo rústico, adaptable a gran cantidad de climas; sin embargo, puede ser afectado por fuertes lluvias, granizadas y heladas (Avalos y Maya, citados por Vázquez, 1994).

Temperatura. La semilla requiere para germinar una temperatura de 21 a 24°C, en un período de cinco a ocho días. Una vez emergida, temperaturas menores de 10°C pueden dañarla, pero se puede recuperar. Para las zonas productoras: Sinaloa, Guanajuato, Querétaro, Michoacán, Sonora, Durango, Puebla se registran medias anuales de 15.2 a 25.8°C (Martínez, 1990). Los cultivares altos pueden desarrollarse a temperaturas mínimas de 9.9 a 12.7 °C.

Luz. Si es muy intensa, la flor tiende a decolorarse principalmente el híbrido Hawai B. Sin embargo, se promueve el desarrollo de yemas axilares o laterales (Martínez, op cit).

Agua. Exige humedad sin exceder al 80% de la capacidad de campo y el agua debe llegar por trasporo (Carrera, 1989). Con disponibilidad germina de cuatro a siete días, alcanzando al mes 15 cm y su máxima ramificación a los 120 días de la emergencia. La precipitación anual en las zonas productoras antes mencionadas, va de 520.9 a 977.6 mm. Cuando es necesario requiere riegos de auxilio para su buen rendimiento.

Suelo. Se produce en suelos con diferente característica textural: arcillosa, limo – arcillosa, arcillo – arenoso y franco – arenoso; en pH de 6 a 8, siendo mejor cuando es neutro o ligeramente ácido. Los suelos salinos afectan la germinación

(Martínez, op cit). En el Bajío prospera en suelos de vertisol y en el Valle del Fuerte en suelos francos (SARH, 1980).

III.1.6. Usos

Cuca y Avila (citados por Martínez, 1990), mencionan que la flor de cempasúchil es utilizada en la industria avícola para pigmentar la piel y carne de los pollos en engorda y la yema del huevo de las gallinas en postura, para lo cual se requieren de 50 a 60 mg de xantofilas, provenientes de la harina de cempasúchil por un kilo de alimento.

Chan y colaboradores (1975), encontraron que algunos compuestos derivados del tiofeno (2, 2-5, 2-terthienyl) han sido aislados de los pétalos y de las raíces de las especies *Tagetes erecta*, *T. minuta* y *T. patula*, encontrando que la mayor cantidad de esta sustancia se localiza en la raíz. Los mismos autores aislaron en menor cantidad el 5-(3-buten, 1-inil)2-butenil que presenta propiedades nematocidas y actúa sobre el hongo *Candida albicans*. Además Garg y Dengre (1988) encontraron que los aceites esenciales de *Tagetes* spp presentan efectos antifungicidas sobre *Tricophyton rubrum*, *Coryalaria prasadii*, *Fusarium solani*, en algunas especies de *Aspergillus*, *Trichoderma viride* y *Curvularia utilis*.

Martínez (1959) indicó que el cempasúchil es utilizado en la medicina popular para aliviar cólicos acompañados de meteorismos y que presenta propiedades emenagogas y antihelmínticas.

III.1.7. Los Pigmentos Fotosintéticos

En las plantas, la luz destinada a impulsar el proceso fotosintético es absorbida por dos tipos de pigmentos, *clorofilas* y *carotenoides*. Las clorofilas, tienen un núcleo tetrapirrólico parecido al grupo hemo, del que se diferencian porque el catión metálico central es Mg^{+2} en vez de Fe^{+2} . Existen dos tipos de clorofilas denominadas *a* y *b*.

Los carotenoides fotosintéticos son compuestos de cuarenta átomos de carbono dispuestos fundamentalmente en línea.

Hoppe y Wiesche, (1988), mencionan que las flores de cempasúchil contienen 17 diferentes carotenoides. En primer lugar el diéster de luteína, es un carotenoide amarillo y representa entre el 70 y 90% del total de carotenoides. El segundo es el diéster de zeaxantina, es rojo y se encuentra entre el 10 y 25%. Las otras xantófilas representan una pequeña cantidad y contribuyen significativamente al total de la eficacia pigmentante.

El Cuadro I. 3 muestra algunas fuentes vegetales naturales pigmentantes, como: el maíz amarillo, cempasúchil, pastos, alfalfa y calabaza, que contienen a las xantófilas denominadas luteína, violaxantina, zeaxantina, etc., pigmentos que proporcionan un color que va del amarillo al rojo. El apocarotenal existe en las naranjas y es el responsable de la coloración que presentan.

Cuadro 1.3. Fuentes Naturales Pigmentantes

Fuente Natural	Xantofila Pigmentante	Color Obtenido
Alfalfa, maíz amarillo,	Luteína	Amarillo
Cempazúchitl, pastos	Luteína	Amarillo
Maíz amarillo, gluten de maíz	Zeaxantina	Anaranjado
Calabaza	Violaxantina	Amarillo
Hongos, plumas de flamingo	Cantaxantina	Rojo
Capsicum, chiles, paprika	Capsantina	Naranja – rosado
Naranjas	Apocarotenal	Naranja

Fuente: Ramírez N. 1986

III. 2. CAROTENOIDES

III. 2.1. Definición y Nomenclatura

Los carotenoides son polienos isoprenoides formados por la unión de ocho unidades de isopreno C₅ (Figura 2.1)

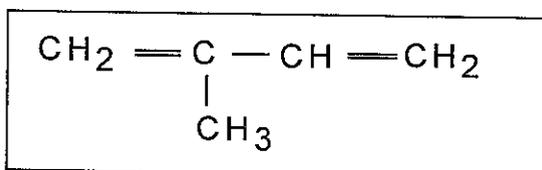


Figura 2.1. Isopreno (2- metil, 1 – 3 butadieno)

Los extremos de la molécula pueden formar anillos o llevar sustituyentes oxigenados. Los carotenoides oxigenados se denominan *xantofilas*, mientras que los hidrocarburos son los *carotenos*.

Los carotenoides del cloroplasto vegetal son bastante más variados que las clorofilas y la proporción entre las diversas especies químicas puede oscilar considerablemente. Tanto clorofilas, como carotenoides, poseen sistemas de dobles enlaces conjugados que se extienden por gran parte de las respectivas moléculas. Precisamente, la presencia de estos sistemas es lo que confiere a estos pigmentos su capacidad para absorber la luz visible.

Los numerosos orbitales moleculares del tipo π del sistema conjugado tienen niveles energéticos próximos, de forma que la energía de un fotón visible es suficiente para promover la transición de un electrón desde el orbital ocupado superior (π , enlazante) a un orbital desocupado próximo (π^* , antienlazante).

Las cadenas lineales de los carotenoides se forman, cuando las unidades de isopreno se unen de manera regular cabeza a cola, excepto en el centro de la molécula, donde el orden es invertido cola a cola, así que la molécula es simétrica. Como resultado, los dos grupos metilos cercanos al centro de la cadena de polieno están separados por seis átomos de carbono y el otro grupo metilo, por cinco átomos de carbono, como se ilustra en el licopeno prototipo (Figura 2. 2). A partir de su estructura básica casi todos los otros carotenoides pueden ser derivados por hidrogenación, ciclización, oxidación o cualquier otra combinación de estos procesos.

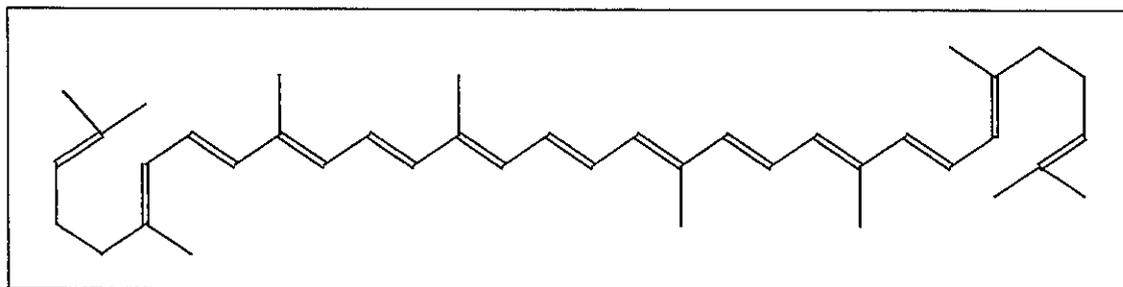


Figura 2.2. Licopeno

III. 2.2. Clasificación

Los carotenoides se clasifican en dos grupos:

- Hidrocarburos que contienen (C₄₀H₅₆), y
- Sus derivados oxigenados, conocidos como xantofilas u oxicarotenoides.

Las funciones más frecuentemente encontradas son hidroxilo – (monoles, dioles, y polioles), epoxi – (5,6 – y 5, 8 – epóxidos), metóxi, aldehído, oxo, carbóxi y éster. La sustitución del hidroxilo ocurre principalmente en el C –3 y en el anillo ε - ó β.

Los Cuadros 2.1 y 2.2, muestran el porcentaje comparativo de oxicarotenoides presentes en algunas fuentes naturales y la potencia de pigmentación de algunos de ellos, respectivamente.

Cuadro 2. 1. Porcentaje de oxicarotenoides en fuentes naturales.

Oxicarotenoides	Maíz amarillo	Glutén de maíz	Harina de alfalfa	Extracto de cempazúchitl
Luteína	54	54	46	85
Zeaxantina	23	29	12	5.5
Violaxantina	0	0	16	0
Neoxantina	0	0	6	0
Criptoxantina	8	10	7	1.3
Otros	15	7	13	9.2
Total	100	100	100	100

Fuente: Williams (1989)

Cuadro 2.2. Potencia de Pigmentación de Xantofilas Individuales

Pigmento individual	Potencia relativa
Luteína	XXX
Zeaxantina	XX
Cantaxantina	XX
Isozeaxantina	XX
Criptoxantina	X

X = de mayor a menor potencia relativa

Fuente: (Espinosa, 1981)

III. 2.3. Propiedades Físicas

Los carotenoides son lípidos y son solubles en otros lípidos, es decir, son liposolubles en los solventes no polares como: acetona, alcohol, éter etílico, cloroformo, éter de petróleo y hexano, mientras que las xantofilas se disuelven mejor en solventes polares como alcohol. Excepto los más insaturados (fitoeno, fitoflueno, y ξ -caroteno), los carotenos son sólidos a temperatura ambiente y pueden ser cristalizados en varias formas, su color va del anaranjado – rojo al violeta oscuro.

III. 2.4. Propiedades Espectroscópicas

Los carotenoides absorben específicamente luz en la región ultravioleta y visible del espectro, principalmente en la región del azul (430 – 470 nm), pero también, en el azul – verde (470 – 500 nm) y en la verde (500 – 530 nm), su color es determinado por la luz reflejada o transmitida cuando se encuentra en solución. La estructura responsable de la absorción de la luz es el cromóforo, en los carotenoides es el sistema de dobles enlaces conjugados. Cada carotenoide es caracterizado por un espectro de absorción. En consecuencia, la absorción espectroscópica es una técnica importante en el análisis de carotenoides. La posición de la absorción máxima, usualmente 3, es una función del número de dobles enlaces conjugados. Las posiciones de la absorción máxima son afectadas por la longitud del cromóforo, la posición del doble enlace final en la cadena o anillo, y la eliminación de la conjugación del doble enlace en el anillo.

La absorción máxima de algunos carotenoides comunes en los vegetales se muestra en el (Cuadro 2.3).

La mayoría de los carotenoides que se encuentran en la naturaleza están estructuralmente en forma **trans** y la **cis** se forma a partir de la forma trans, mediante la exposición al calor, luz y catalizadores (Williams, 1989).

Cuadro 2. 3. Absorción Máxima de Algunos Carotenoides de Vegetales (carotenos en éter de petróleo y xantofilas en etanol).

Carotenoide	Dobles enlaces conjugados		Abs. Max. (nm)
	En cadena	En anillo	
Fitoflueno	5		331, 348, 367
ξ - Caroteno	7		380, 400, 424
Licopeno	11		447, 472, 504
β- Zaecaroteno	8	1	405, 428, 455
α - Caroteno	9	1	423, 444, 473
β- Caroteno	9	2	425, 451, 478
Zeaxantina	9	2	425, 451, 478
Anteraxantina	9	1	420, 444, 472
Violaxantina	9		418, 440, 470
Capsantina	9 (+ 1 C=O)	1	476

Fuente: Davies citado por Gross, (1991)

III. 2.5. Extracción de los Carotenoides

Comercialmente, el origen más común de la luteína es la flor del cempasúchil *Tagetes erecta*, en donde se encuentra esterificado con uno o dos ácidos grasos, y constituye cerca del 90% (p/p) de los pétalos (Quackenbush *et al.*, 1972).

Las xantofilas libres y sus ésteres no sólo tienen diferente estabilidad, sino también difieren ampliamente en su habilidad para actuar como agentes colorantes en tecnología de alimentos. De aquí que existe un gran interés por tener métodos de separación que permitan determinar cuantitativamente a la luteína y sus ésteres. A continuación se mencionan algunas de las técnicas que se reportan en la bibliografía reciente:

Caffini, *et al.*, (1980), realizaron la extracción de carotenoides en *Tagetes*, los pétalos los conservaron a -20°C , previo a su liofilización. Utilizaron la solución extractante (hexano – acetona – alcohol absoluto – tolueno, 10:7:6:7), se adicionaron 2 ml de hidróxido de potasio (40% en metanol) y se llevó a reflujo por 20 minutos en un baño a 56°C y luego se dejó enfriar. El extracto se lavó con 30 ml de hexano y luego con igual volumen de sulfato de sodio al 10%, se concentró en evaporador rotatorio. En seguida se llevó a cabo un fraccionamiento cromatográfico en columna, para separar las fracciones de carotenos, y pigmentos mono y dihidroxilados. Para determinar la cantidad de carotenoides se midió la absorbancia de cada una de las fracciones separadas por cromatografía. De las especies analizadas *Tagetes erecta* es la que tuvo mayor rendimiento (4.7 mg de carotenoides por g de muestra seca).

Gayle *et al.* (1986), Zonta, *et al.*, (1987), De las Rivas, (1989) y Hadden *et al.*, (1999), han propuesto procedimientos para el análisis de luteína y ésteres de luteína

en las flores de cempasúchil (*Tagetes erecta*) por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Utilizando diversos sistemas de solventes en la fase adsorbente inversa, para este análisis. Las concentraciones de los ésteres de luteína en flores frescas variaron de 4 µg/g en flores amarillas a 800 µg/g en flores anaranjadas.

Otro método de interés es el empleado por Delgado *et al.*, (1997), usaron flores frescas de cempasúchil, las cuales trataron previamente con una enzima comercial; la extracción de los carotenoides se hizo con hexano, Los pétalos frescos tratados con enzimas mostraron una alta susceptibilidad a la extracción del pigmento comparado con las muestras no tratadas, y la producción más alta de carotenoides se obtuvo con la enzima ECONASA – CEP, al 0.1% (w/w) e incrementó la extracción de 1.7 a 7.4 g/kg de flor en peso seco.

III. 2.6. Determinación Cuantitativa

El método estándar para determinar cuantitativamente los carotenoides es espectrofotométrico. La absorbancia de un volumen conocido de la solución de carotenoides es leída en la longitud de onda de máxima absorción (450 nm). La cantidad de carotenoides en microgramos por gramo de material está dada por la siguientes expresión.

$$\mu\text{g carotenoides/g} = \frac{A \times V \times 10^6}{A^{1\%}_{1\text{cm}} \times 100 \times G}$$

V = volumen total (ml), G = g de muestra; $A^{1\%}_{1\text{cm}}$ es la absorbancia específica o coeficiente de extinción. La absorbancia específica o coeficiente de extinción es la absorbancia de una solución al 1% (p/v) en una celda de 1 cm apropiada para la longitud de onda. Un coeficiente de extinción arbitrario de 2500 es usado cuando el coeficiente específico de absorbancia es desconocido o, generalmente, para la determinación de una mezcla de carotenoides (carotenoides totales).

III. 2.7. Funciones de Carotenoides

- **Fotofunciones**

Las fotofunciones de los carotenoides han sido revisadas por Mathis y Schenck (citados por Britton, 1982). La presencia universal de los carotenoides en organismos fotosintéticos, como el complejo proteína- carotenoide – clorofila, localizado en las membranas fotosintéticas, tiene una justificación. De la variedad de funciones atribuidas a estos pigmentos, dos fotofunciones son las esenciales para la sobrevivencia de la planta: (1) son pigmentos accesorios en la fotosíntesis y (2) son agentes protectores del aparato fotosintético contra el daño de la luz visible.

- **Papel en la Fotosíntesis**

Las clorofilas juegan un papel importante en la fotosíntesis. Para una máxima utilización de la luz requieren de pigmentos accesorios que absorben a diferentes longitudes de onda de las clorofilas y transfieren la energía de la luz absorbida a las clorofilas. La evidencia de este hecho fue encontrado al medir el aumento de

clorofila fluorescente iluminada con luz de una longitud de onda absorbida por carotenoides. Se ha probado que β – carotenos y xantofilas tienen la habilidad de transferir energía absorbida a las clorofilas (Siefermann – Harms, citados por Gross (1991)).

- **Fotoprotección**

La fotoprotección ejercida por los carotenoides fue revisada por Krinsky (1971). El daño causado por la radiación visible a las células puede ser alterado por la presencia de carotenoides endógenos.

La fotosensibilidad implica reacciones fotoquímicas nocivas. En las plantas fotosintéticas la clorofila es sensible, por lo cual, al llegar a un estado excitado puede iniciar reacciones redox, con formación de radicales libres, o transferir la energía al oxígeno, y formar al oxígeno individual altamente reactivo. Los carotenoides protegen a los organismos por un apagado directo del exceso de energía de la clorofila excitada o extinción del oxígeno libre.

La fotoprotección está relacionada con la longitud de onda del cromóforo en la molécula del carotenoide, un mínimo de nueve dobles enlaces conjugados se necesitan.

- **Antioxidante**

Los carotenoides pueden actuar como antioxidantes y proteger a las células y organismos del daño oxidante.

La protección es debido a la habilidad de los carotenoides a inhibir a los radicales libres (Packer *et al.*, citados por Gross, 1991). En otros estudios *in vitro* se comprobó la habilidad del β - caroteno al desactivar a los radicales que inician la peroxidación lipídica.

- **Función Biológica: Papel de los Carotenoides en la Nutrición Humana**

Una de las funciones fisiológicas más importantes de los carotenoides es actuar como precursor de la vitamina A en organismos animales. La mayoría de las especies animales son capaces de convertir enzimáticamente los carotenoides de las plantas de una estructura especial en vitamina A. La vitamina A es el alcohol primario del retinol (Figura III.2.3).

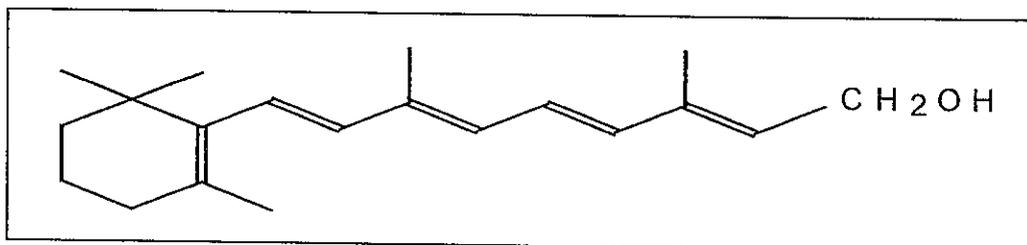


Figura III. 2. 3. Molécula de Retinol

Una condición *sine qua non* para la actividad de la provitamina A de un carotenoide precursor es tener al menos un anillo - β no sustituido y la cadena lateral inalterada. El β - caroteno con dos anillos - β es la provitamina A que presenta una elevada actividad. El β - caroteno es la provitamina A más ampliamente distribuida, está

presente en la mayoría de los vegetales. En los vegetales verdes está únicamente la provitamina A. Se encuentra en niveles elevados en los vegetales amarillos como zanahorias, maíz, y las papas amarillas. El α – caroteno acompaña al β – caroteno en las zanahorias y se encuentra en bajos niveles en algunas hojas de vegetales y en calabazas.

- **Aplicaciones medicinales**

Las aplicaciones medicinales de los carotenoides han sido revisadas por Bauernfeind (1981) y Britton (1982). El uso primario de los carotenoides alimenticios es la prevención o corrección de la deficiencia de vitamina A en el hombre. El β – caroteno es enzimáticamente convertido en vitamina en el hígado e intestinos (Lakshman citado por Gross 1991) y es usado en la terapia de protoporfirina eritropoyética, en la cual la sensibilidad a la luz visible es el síntoma principal Mathews (1985). Las observaciones de que los pigmentos carotenoides protegen a las plantas verdes y a las bacterias fotosintéticas contra la fotosensibilidad sugiere que estos pigmentos pueden ser usados en el tratamiento de enfermedades fotosensibles. Pruebas *in vivo* han demostrado que la porfiria está relacionada con la síntesis de porfirina en exceso. Estas moléculas, tienen una estructura similar a la clorofila, actúan como un fotosensibilizador endógeno a la luz visible. El efecto terapéutico del β – caroteno esta basado en el mismo mecanismo de fotoprotección en plantas.

Los carotenoides serán considerados como agentes potenciales en la prevención del cáncer (Mathews, *op cit.*). Esta afirmación está apoyada en estudios experimentales con animales específicos y estudios epidemiológicos retrospectivos y prospectivos.

En los modelos con animales fue investigado si los carotenoides tienen el mismo efecto antitumoral como la vitamina A. El β - caroteno y la cantoxantina, independientemente de su actividad como vitamina A, pueden prevenir o disminuir el crecimiento de los tumores en piel inducidos por radiaciones UV - B (290 - 320 nm) (Mathews, *op. cit*). Se estableció que los carotenoides interfieren con la fase progresiva de carcinogenesis de UV - B, (Mathews y Krinsky, citados por Gross 1991).

La prevención química de carcinogénesis directa e indirectamente por carotenoides (β - caroteno y cantoxantina) es atribuida por su habilidad para reaccionar como un poderoso antioxidante (Santamaría *et al.*, citados por Gross 1991).

Estudios prospectivos y retrospectivos en humanos han indicado que el β - caroteno protege contra el cáncer de pulmón y otros órganos Temple y Basu, (1988). El posible mecanismo de acción del β - caroteno es múltiple: (a) actúa como un seguidor en la conversión de vitamina A, (b) altera el metabolismo carcinógeno, (c) actúa como un antioxidante y (d) aumenta las defensas inmunológicas.

III.2.8. Localización de los Carotenoides

Los carotenoides se encuentran en plastidios no verdes, en cloroplastos, y especialmente en los cromoplastos. Los cloroplastos están localizados en el tejido fotosintético, especialmente en las hojas y en frutos inmaduros, mientras que los cromoplastos se encuentran en las flores, frutos maduros, en algunas raíces y tubérculos.

Los carotenoides en los cloroplastos se encuentran enmascarados por la presencia de la clorofila. El patrón de carotenoides cloroplásticos es universalmente uniforme y contiene a cuatro básicos: un caroteno y tres xantofilas. Los carotenoides adicionales encontrados como pigmentos menores son: α – caroteno, α y β – criptoxantina, isoluteína (5, 6 – epóxido de luteína), zeaxantina, y anteraxantina. Los niveles aproximados de carotenoides cloroplásticos que se han encontrado en las hojas son: luteína 40 – 50 %, β – caroteno, 25 – 40%; violaxantina, 9 – 20%; y neoxantina, 5 – 155.

III.3. FERTILIZANTES

Fertilizante es aquella sustancia que se añade al suelo para suministrar los elementos químicos que se requieren para la nutrición de las plantas (Tisdale, 1982).

Los fertilizantes se pueden clasificar de diferentes formas, por ejemplo: con base en su composición química, al estado físico en el que se presenten o bien, de acuerdo con la acción que se requiera, así se tiene a los fertilizantes ácidos, que son capaces de aumentar la acidez del suelo, los básicos, neutros y completos (Tisdale, *op cit.*). Un fertilizante completo es aquel que contiene los tres nutrientes mayores para las plantas: nitrógeno, fósforo y potasio. Los dos últimos están presentes en forma de fosfato y potasa. Algunos contienen ciertas cantidades de elementos secundarios como el calcio, magnesio y azufre. Otros se enriquecen con micronutrientes. El contenido de nutrientes en los fertilizantes compuestos generalmente se representan por 00 - 00 - 00 que indican los kilogramos por hectárea de N, P, K respectivamente (Tisdale, *op cit.*).

III.3.1. Fertilizantes Nitrogenados

El nitrógeno es el principal de los macronutrientes, se encuentra en el suelo en forma orgánica y mineral. En forma orgánica se encuentra formando parte del humus que contiene alrededor del 5% de N. El humus se mineraliza progresivamente por la acción de los microbios del suelo en una proporción del 1 al 2% anual, convirtiéndose entonces en N mineral, primero en forma amoniacal que luego pasa a nítrica (Guerrero, 1996).

Los fertilizantes nitrogenados se distinguen por la forma en que el nitrógeno está presente. De esta manera se diferencian:

- Fertilizantes nítricos: NaNO_3 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KNO_3
- Fertilizantes amónicos: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, NH_4NO_3
- Fertilizantes de amidas: $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$

En los fertilizantes nítricos el nitrógeno es altamente soluble en agua, razón por la cual, no puede ser retenido por el suelo y puede desplazarse fuera de la zona de absorción hacia el subsuelo a causa de la lluvia, o riego abundante.

Por otro lado, la alta movilidad del nitrógeno facilita la absorción de éste por las plantas. Por lo tanto, el fertilizante nítrico se adapta bien para aplicaciones cuando los cultivos ya están en desarrollo y corrige rápidamente las deficiencias de este nutrimento.

En los fertilizantes amónicos el N es igualmente soluble en agua. Sin embargo, a diferencia del nitrato, éste es adsorbido y retenido por las partículas del suelo (SEP, 1997). Por esto, no se presentan pérdidas inmediatamente por lixiviación en suelos arcillosos o limosos. Su acción es menos rápida, pero más duradera. Las combinaciones de amonio y nitrato permiten que una parte del nitrógeno, sea absorbido inmediatamente y la retenida es de acción prolongada.

El sulfato de amonio, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, es el fertilizante amoniacal más antiguo. Se presenta en forma de pequeños cristales y contiene del 20 al 21% de nitrógeno amoniacal. Es un fertilizante acidificante, aunque este efecto sólo puede observarse con su continuo empleo. Contiene del 23 al 24% de azufre (Guerrero, *op cit.*).

Los fertilizantes de amidas proporcionan el N en forma de amida, que no puede ser utilizado como tal por las plantas. Mediante transformaciones químicas se convierte en amonio, y luego en nitrato. Por esto, el N de amidas actúa más lentamente que los anteriores.

La planta toma el N a través de sus raíces en forma nítrica (NO_3^-) y amoniacal (NH_4^+), ésta lo absorbe a lo largo de todo su ciclo vegetativo, siendo mayor en períodos críticos como en la época de ahijado, encañado y floración.

La escasez de N se manifiesta en las plantas por un desarrollo vegetativo reducido y por un color verde amarillento de las hojas, también acelera la madurez y en los frutales ocasiona caída prematura de las hojas de otoño (SEP, *op cit.*).

III.3.2. Fertilizantes Fosfatados

Los fertilizantes fosfatados pueden ser sólidos o líquidos, los primeros se distinguen por su solubilidad en agua o al ácido débil.

Los fertilizantes que contienen fosfatos solubles en agua son: superfostato normal y superfostato triple; los solubles a ácidos débiles son: escoria básica y fosfato dicálcico.

Los fosfatos solubles en agua son absorbidos rápidamente por las plantas. Se pueden aplicar al tiempo de la siembra porque las plantas jóvenes responden bien al fosfato. Además, no existe el peligro de pérdidas inmediatas por lixiviación. El fósforo se transforma rápidamente en formas menos solubles al agua del suelo.

La disponibilidad para las plantas es mayor en suelos con pH entre 6.5 y 7.5. Los fosfatos solubles a los ácidos débiles se usan especialmente en suelos ácidos, debido al alto contenido de calcio, el cual ayuda a corregir la acidez (SEP, *op cit.*).

El fósforo se presenta en forma de anhídrido fosfórico (P_2O_5). El fósforo como ácido fosfórico es un componente esencial de los vegetales. No se encuentra en estado libre en la planta, sino combinado con otras sustancias.

En la nutrición nitrogenada y fosfatada de la planta existe una proporcionalidad entre el fósforo y el nitrógeno absorbido, coincidiendo los contenidos máximos en los mismos períodos. Existe por otra parte, una influencia mutua en la absorción de uno y otro elemento; la carencia de fósforo influye en una disminución de la absorción de nitrógeno (Guerrero, *op cit.*).

El fósforo tiene una gran influencia en la primera fase de crecimiento de las plantas. La plántula se nutre del fósforo acumulado en la semilla, pero cuando se agota esta reserva, ha de tomarlo del suelo. La inmovilidad del fósforo en el suelo hace que sea recomendable la localización de pequeñas cantidades de P_2O_5 en las proximidades de la semilla en el momento de siembra (Guerrero, *op cit.*).

El fósforo favorece el desarrollo del sistema radical al comienzo del crecimiento vegetativo, de la fecundación, fructificación y seminación.

En la materia orgánica del suelo también se encuentra fósforo. La relación N / P_2O_5 en ella es del orden de 4/1. De ahí que la cantidad de fósforo procedente de la materia orgánica que libera un suelo es aproximadamente la cuarta parte del nitrógeno que se mineraliza.

En la materia orgánica el humus y el ácido fosfórico se combinan formando humofosfatos, con lo que se evita la fijación de este fósforo en el suelo, y lo mantiene en forma fácilmente asimilable para la planta (Guerrero, *op cit.*).

El superfosfato de calcio simple, cuya fórmula es: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, contiene alrededor del 20% de P_2O_5 y un 12% azufre y pequeñas cantidades de micronutrientes: hierro, zinc, manganeso, boro, molibdeno. Contiene un 21% de calcio, por lo que resulta de interesante aplicación para suelos pobres en calcio, con independencia del pH (Guerrero, *op cit.*).

III.3.3. Fertilizantes Potásicos

El potasio se encuentra en forma de K_2O , es también uno de los macronutrientes esenciales para la planta. Tiende a disminuir la transpiración de la planta, aumenta la resistencia a las heladas, favorece el desarrollo de las raíces, interviene en la fotosíntesis de la hoja, favoreciendo la formación de carbohidratos y el movimiento de éstos hacia los órganos de reserva (Guerrero, *op cit.*).

Los principales fertilizantes potásicos son: cloruro de potasio y sulfato de potasio.

El potasio se encuentra en el suelo:

1. En la roca madre. Las formaciones cristalinas y volcánicas son ricas en potasio, aunque se encuentra en forma de silicatos que son prácticamente insolubles. No obstante, por la acción de las raíces y de los agentes atmosféricos, algo de este potasio se pone a disposición de la planta, y de ahí que los suelos formados a partir de estas rocas madres necesitan menos potasio que los derivados de formaciones calizas.

2. En el interior de ciertas arcillas. Ciertas arcillas de tipo laminar, como la montmorillonita y la illita, atrapan entre sus laminillas iones K^+ .
3. En estado cambiante, existiendo un equilibrio entre el potasio existente en la solución del suelo y el adsorbido por el complejo arcillo – húmico y por la arcilla y demás coloides del suelo (Guerrero, *op cit.*).

III.3.4. Abonos Orgánicos

El abono de corral incluye la excreta sólida y líquida del ganado, mezcladas, en general, con una cantidad pequeña de cama de establo, la paja que se utiliza como lecho de los animales.

Aunque hay una gran variación entre los animales y sus alimentos, hay casi tres cuartas partes de nitrógeno, unas cuatro quintas partes del fósforo, y unas nueve décimas partes de potasio y la mitad de la materia orgánica se recupera en los excrementos evacuados. A causa de las pérdidas por volatilización y lixiviación, sólo se gana de una tercera parte a la mitad del valor del estiércol en la producción de cultivos (Tisdale, *op cit.*).

Entre los principales abonos animales se encuentran: gallinaza, porcino, bovino, caballar, ovino, guano, etc.

El estiércol de bovino debe considerarse primariamente como un abono nitrogenado y proporciona materia orgánica; tiene una composición media de 0.30 % de N, 0.20 de P_2O_5 y 0.10% de K_2O ; mientras que la orina contiene 1.0% de N,

vestigios de P_2O_5 1.4% de K_2O ; tiene además un contenido apreciable de nutrimentos secundarios y micronutrimentos y del 50 al 80% de agua (Tisdale, *op cit.*).

Los cultivos continuos traen como consecuencia pérdida de la materia orgánica del suelo, una disminución de ésta, da como resultado suelos compactos, raíces superficiales, mayor desagüe y suelos aterronados. La MO del suelo puede conservarse mediante el empleo de estercolados agrícolas, de residuos orgánicos en descomposición, del abonado con hojas verdes e inclusive con los cultivos en rotación de legumbres.

Uno de los factores que más contribuye a la fertilidad de los suelos es el contenido de MO, la cual proporciona alimento para los microorganismos y modifica las propiedades físicas del suelo: como la estructura al fomentar la granulación y aumenta la capacidad de retención de humedad, permeabilidad, actividad biológica; proporciona a la planta cierta cantidad de nutrimentos, facilita la asimilación del fósforo al formarse complejos fosfo – húmicos y el ácido húmico que se forma, estimula el crecimiento de las plantas; mejora las propiedades químicas, como el intercambio de cationes (Guerrero, *op cit.*).

El carbono es el principal componente de la MO, y en cambio el nitrógeno se encuentra en menor proporción. Por eso, cuando el análisis de suelos da una relación C/N alta, indica que hay mucha MO sin descomponer y por tanto, el ritmo de mineralización de la MO, y en consecuencia, la capacidad de producción de nitratos es baja. Los datos pueden interpretarse así:

C/N menor de 10	Excesiva	liberación de N
C/N 10 – 12	Normal	liberación de N
C/N 12 – 15	Escasa	liberación de N

C/N mayor de 15 Muy escasa liberación de N

En suelos arcillosos, que tienen poca aireación, la MO se mineraliza más lentamente que en suelos arenosos. En los climas fríos y húmedos también la mineralización es más lenta que en los secos y calurosos (Guerrero, *op cit.*).

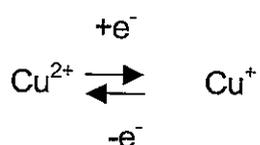
Debido a estos beneficios el agricultor valora la importancia de los abonos de corral.

El conocimiento de los diferentes fertilizantes le proporciona al agricultor la posibilidad de mantener y mejorar la fertilidad del suelo, además, de la aplicación de otras medidas (Tiesdale, *op cit.*) como son:

- Realizar un análisis de suelos para determinar el suministro necesario de nutrimentos.
- Preparar adecuadamente el suelo.
- Aplicar fertilizantes de acuerdo con los análisis y necesidades del cultivo.
- Restaurar en forma continua el contenido de residuos vegetales y animales.
- Efectuar la rotación de cultivos.

III.3.5. Cobre

El cobre es un elemento de transición y comparte semejanzas con el hierro, tales como la formación de complejos altamente estables y la facilidad de transferir su electrón:



El cobre divalente se reduce fácilmente a cobre monovalente, el cual es inestable. La mayoría de las funciones del cobre en la planta como nutrimento están basadas en su participación enzimática en las reacciones redox. En éstas, las enzimas cobre -oxidasas reacciona directamente con el oxígeno molecular. Además en las células vivas la oxidación terminal es catalizada por cobre y no por hierro.

El cobre tiene una alta afinidad por los grupos peptídico, sulfidrilo, carboxílico y fenólico. Por lo tanto, en la solución del suelo (Hodgson *et al.*, 1966) como en las raíces y xilema (Graham, 1979), más del 98 – 99% el cobre está presente en forma de complejo, pero se considera que antes de la absorción se disocia del quelato.

III.3.5.1. Importancia y Localización del Cobre en la Planta

El cobre al igual que el cobalto, boro, manganeso, molibdeno y zinc, pertenecen a los elementos menores o micronutrientes, los cuales son requeridos en cantidades muy pequeñas para el crecimiento de las plantas.

Estos elementos a menudo son proporcionados a los cultivos por medio de aspersiones; la absorción de los minerales por los órganos aéreos de la mayoría de las plantas por lo general es insignificante. Con frecuencia es posible alargar la temporada de floración de plantas de jardín mediante la aplicación prudente de fertilizantes en forma de aspersiones.

En las hojas, cerca del 70% del cobre está localizado en los cloroplastos, en forma de proteínas complejas, Bowen (citado por Lové, 1988).

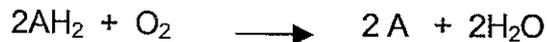
La absorción implica el movimiento del ion por la planta, cualquiera que sea el mecanismo por el cual se realiza el proceso. Bowen (op cit.), menciona que la absorción de Zn y de Cu por el tejido foliar de la caña de azúcar es en ambos casos es un proceso activo. El ritmo de absorción de Zn y Cu aumenta con la concentración hasta 0.1 mM, punto en el que se alcanza la saturación, ambos elementos compiten por los mismos lugares de absorción de la raíz. En el citoplasma y organelos la concentración de Cu^{2+} y Cu^+ libre es extremadamente baja.

La movilidad del cobre en la planta está bastante restringida, aunque puede desplazarse de las hojas viejas a las nuevas. El cobre no se desplaza de las hojas más que cuando éstas pierden sus compuestos orgánicos nitrogenados, por la afinidad del Cu por el átomo de nitrógeno (Loneragan citado por Lové, 1988).

III.3.5.2. Proteínas que Contienen Cobre

De acuerdo con Sandman y Böger (1983) existen tres diferentes formas de proteínas en las cuales el cobre es el metal componente: (a) **proteínas azules** sin actividad oxidativa (ejem. Plastocianina), cuya función es transferir un electrón; (b)

proteínas no azules, las cuales representan a peroxidasas y monofenol oxidasa; y (c) **proteínas multicobre**, las cuales contienen por lo menos cuatro átomos de cobre por molécula, las cuales actúan como oxidasas (ejem. ascorbato oxidasa y difenol oxidasa) y catalizan la reacción:



La citocromo oxidasa es una proteína con una mezcla de cobre - hierro, la cual cataliza la oxidación terminal en la mitocondria.

Al existir deficiencia de cobre, la actividad de estas enzimas disminuye rápidamente. En la mayoría , pero no en todos los casos, estas disminuciones están correlacionadas con distintos cambios metabólicos e inhibición en el crecimiento de la planta.

El cobre participa igualmente en el desarrollo de los cloroplastos, que son el centro de numerosas enzimas. En general, más del 50% de cobre localizado en cloroplastos está unido a la plastocianina. Esta Cu - proteína tiene un peso molecular de 10 kDa y contiene un átomo de cobre por molécula. La plastocianina es un componente de la cadena de transporte de electrones del fotosistema I. Una proporción de 3 a 4 moléculas de plastocianina por 1000 moléculas de clorofila parece ser la regla Sandmann y Böger, (*op cit.*).

Hay una relación muy cercana cuando existe una deficiencia de cobre entre el contenido de cobre en las hojas y el contenido de plastocianina, entonces, la actividad del fotosistema I y el contenido de clorofila es ligeramente afectado, como se observa en el Cuadro III.3.1.

Cuadro III.3.1. Relación entre el contenido de cobre y algunos constituyentes del cloroplasto y actividad de las enzimas que contienen cobre en hojas de chícharo.

Actividad enzimática						
Cu ($\mu\text{g g}^{-1}$ Dry wt)	Clorofila ($\mu\text{mol g}^{-1}$ dry wt)	Plastocianina (nmol μmol^{-1} clorofila)	Transporte fotosintético e ⁻ PSI(relativo)	Diamino oxidasa($\mu\text{mol g}^{-1}$ proteína h ⁻¹)	Ascorbato oxidasa($\mu\text{mol g}^{-1}$ proteína h ⁻¹)	CuZnSOD (EU mg ⁻¹ proteína) ^b
6.9	4.9	2.4	100	0.86	730	22.9
3.8	3.9	1.1	54	0.43	470	13.5
2.2	4.4	0.3	19	0.24	220	3.6

Fuente: Ayala y Sandmann (citados por Marschner, 1995).

Al comparar el fotosistema I con la actividad del fotosistema II, éste es ligeramente abatido por la deficiencia de cobre (Henriques, (1989). La baja actividad del fotosistema II en plantas está relacionada con otras funciones del cobre en los cloroplastos (Cuadro III.3.2). El cobre es un componente de otras enzimas del cloroplasto y es requerido para la síntesis de quinonas; la disminución de plastoquinona en cloroplastos puede reflejar esta función del cobre. La inhibición del transporte de electrones por la deficiencia de cobre en cloroplastos es además, acentuada por la disminución en la actividad de la polifenol oxidasa por la deficiencia de cobre puede ser responsable indirectamente del retraso en la floración y maduración en las plantas (Davis, *et al.*, 1978), como se muestra en la floración del *Crisantemo morifolium* (Cuadro III. 3.3).

Cuadro III.3.2. Efecto de la deficiencia de cobre en espinaca sobre pigmentos del cloroplasto y transporte fotosintético del electrón en el fotosistema II y I

Tratamiento	Contenido de pigmentos en el cloroplasto ($\mu\text{g g}^{-1}$ hoja fresca wt)			Plastocianina (10^{-9} mol m g $^{-1}$)	Fotosistema (actividad relativa)	
	Clorofila	Carotenoides	Plastoquinon a	Clorofila	PSII	PSI
+ Cu	1310	248	106	5.16	100	100
- Cu	980	156	57	2.08	66	22

Baszynski *et al.*, (1978)

Cuadro III. 3.3 Efecto de la deficiencia de cobre en la floración y actividad enzimática en *Crisantemo morifolium*.

Tratamiento	Contenido de cobre ($\mu\text{g g}^{-1}$ hoja seca wt)	No. de retoños por planta	No. de flores por planta	Actividad enzimática en hojas (relativa)		
				Polifenol oxidasa	IAA oxidasa	Peroxidasa
+ Cu	7.9	14.2	13.1	100	100	100
- Cu	2.4	8.3	0.5	26	52	41

Davis *et al.*, (1978)

La deficiencia de cobre conduce a disminuir el número de retoños florecientes, pero principalmente impide la apertura de flores. Como podría esperarse, la actividad de

la polifenoloxidasas fue mucho más baja en plantas deficientes de cobre, pero la actividad de la oxidasa IAA y peroxidasa fueron también bajas (Schum *et al.*, citados por Marschner, 1995). De otra forma, la regeneración de plantas en tejidos de cultivo es a menudo severamente dañada por actividades altas de la polifenol oxidasa. Por lo tanto, el porcentaje de retoños regenerados está inversamente correlacionado con el contenido de cobre en el tallo de las plantas (Schum, *op cit.*)

III.3.5.3. Cobre en el suelo

La cantidad de Cu total en el suelo está relacionada con el contenido de la roca madre. Algunas rocas eruptivas, como los granitos, son pobres en Cu.

El contenido total de cobre varía de 3 a 100 ppm de acuerdo con el tipo de suelo, siendo mayor en aquellos que han recibido numerosos tratamientos anticriptogámicos a base de Cu (Trocmé, citado por Lové, 1988). Los suelos medios, normalmente provistos tienen como mínimo 20 ppm de Cu total (Coppenet citado por Lové, 1988). El valor de Cu total no indica más que de forma general e imperfecta su asimilabilidad para las plantas, y comprende:

- Cu presente en los minerales primarios y secundarios
- Cu en compuestos orgánicos
- Cu en forma cambiante sobre los coloides del suelo
- Cu en la solución del suelo.

Coppenet, (citado por Lové, 1988).

III.3.5.4. Movilidad y asimilabilidad del cobre en el suelo

En el suelo, la forma más frecuente es el ión divalente Cu^{2+} . El ión cuproso monovalente es inestable a la temperatura ordinaria en concentraciones superiores a 10^{-7} M.

La movilidad del Cu se ve muy limitada a causa de su elevada adsorción. El Cu es probablemente de los 6 microelementos el que es adsorbido con mayor fuerza por la superficie de cambio del suelo, siendo esta característica la que explica su tendencia a formar enlaces muy enérgicos. La capacidad de adsorción de los diferentes minerales arcillosos crece en el orden normal, de la caolinita a la illita y montmotillonita. El hidróxido de hierro es también un adsorbente eficaz de Cu (McBride y Blasiak, citados por Lové, 1988).

El cobre queda también fijado muy fuertemente por la materia orgánica del suelo. La materia orgánica y en particular los ácidos húmicos y fúlvicos forman complejos estables con el Cu, debido a la riqueza en grupos funcionales con oxígeno, tales como COOH, OH y C = O. Schnitzer y Skinner (citados por Lové, 1988), han demostrado que el Cu forma complejos más estables que otros metales (Zn^{2+} , Mn^{2+}) con el ácido fúlvico. Hodgson *et al.* (1966) han observado que más del 98% del Cu de la solución del suelo está formado por complejos con la materia orgánica, lo cual explica, el hecho de que las deficiencias de Cu sean menos frecuentes que las de Zn en suelos de pH alto, aun cuando estos dos microelementos tienen solubilidades bajas del mismo orden a ese pH. Los complejos orgánicos de Cu juegan por lo tanto, un papel importante en la movilidad y en la asimilabilidad del Cu en el suelo.

La influencia del pH es en efecto muy importante para la asimilabilidad del cobre. El ión H^+ es el más eficaz para favorecer el cambio de Cu^{2+} a $CuOH^+$, por lo tanto, el aumento del pH reduce la asimilabilidad del cobre Drouineau y Mazoyer, (citados por Lové, 1988). Las carencias de cobre se observan más a menudo en los suelos calizos (Boischot y Quillon ; Younts y Patterson, citados por Lové, 1988).

III.3.5.5. Dosis aplicables

Las cantidades de cobre extraídas por las cosechas son muy bajas, por lo que también lo son las aplicaciones, aunque la dosis aplicada al suelo suele ser muy superior a las extracciones, debido a la fuerte retención de este elemento por el suelo, particularmente los orgánicos.

Según Murphy y Walsh, (citados por Lové, 1988), las recomendaciones en suelos orgánicos varían entre 2.2 y 13 kg Cu ha⁻¹, en función del pH del suelo, del grado de respuesta de los cultivos y de la importancia de las aplicaciones anteriores. Las dosis recomendadas más frecuentemente son del orden de 6 a 7 kg Cu ha⁻¹ en aplicación uniforme al suelo y con mayor frecuencia, en una sola aplicación inicial, aunque a veces con carácter quinquenal.

Las aplicaciones foliares de cobre se realizan en forma de sulfatos (1 o 2%), oxiclورو al 1.5% (Coppenet, *op cit.*), óxidos o quelatos. El sulfato presenta el riesgo de producir quemaduras cuando se utiliza en dosis elevadas siendo necesaria la neutralización con cal a partir del 5%. Las formas de cobre quelatadas y otras formas orgánicas se adaptan bien a la pulverización foliar. Las recomendaciones van desde 30 g Cu en 400 L de agua en pulverización sobre árboles hasta 75 g ha⁻¹ en 185 litros de agua en cebada, avena y maíz.

Cupravit hidro $\text{Cu}(\text{OH})_2$, es un producto elaborado a base de hidróxido de cobre por los Laboratorios Bayer. Se utiliza para combatir algunas enfermedades bacterianas de los cultivos. Contiene 77% de hidróxido de cobre, equivalente a 500 gramos de cobre metálico por kilogramo, los ingredientes inerte: diluyente, humectante y dispersante corresponden al 23%, aplicación recomendada de 1 a 2 kilogramos por 200 litros de agua por hectárea. Por aspersora de 10 litros, agregar de 50 g a 100 gramos (Bayer, 1995).

III.3.5.6. Toxicidad

El nivel crítico de toxicidad del cobre en las hojas es superior a 20 – 30 $\mu\text{g/g}$ en peso seco (Robson y Reuter, 1981). Sin embargo, existe una marcada diferencia en la tolerancia del cobre entre las especies de plantas (por ejemplo, el frijol es más tolerante que el maíz); estas diferencias están relacionadas directamente con el contenido de cobre en los brotes (Bachthaler y Stritesky, citados por Marschner, 1995).

En ciertas especies tolerantes al cobre (metalofitas) su contenido en las hojas es tan alto como 1000 $\mu\text{g g}^{-1}$ en peso seco (Morrison *et al.*, 1981). La toxicidad del cobre puede inducir deficiencia de hierro (Taylor y Foy; Bergmann, citados por Marschner, 1995), dependiendo del origen de hierro suministrado. La clorosis puede ser un resultado directo de la acción de concentraciones elevadas de cobre en la peroxidación lipídica y así destruir las membranas (Sandmann y Böger, 1983).

Un alto suministro de cobre generalmente inhibe o reduce el crecimiento de raíces, particularmente, el de aquellas que son espesas, poco ramificadas y con raicillas de color oscuro, antes que el crecimiento de retoños (Lexmond y Vorm, citados por Marschner, 1995).

III.3.5.6. Deficiencia de Cobre

La necesidad de cobre en los cultivos es modesta, alrededor de 25 a 150 g ha⁻¹. Los principales factores que favorecen la deficiencia de Cu son los siguientes:

- Escasez de reservas de Cu total en el suelo
- Mala disponibilidad del Cu del suelo para las plantas
- El pH del suelo
- En suelos con alto contenido de materia orgánica, en donde el cobre forma complejos con las sustancias orgánicas
- La elevada disponibilidad de nitrógeno puede acentuar la deficiencia de cobre
- Las interacciones con otros elementos fertilizantes.

El nivel crítico de deficiencia de Cu en las partes vegetativas de la planta está generalmente en el rango de 1 – 5 µg g⁻¹ en peso seco, dependiendo de la especie, del órgano, del estado de desarrollo de la planta, y del suministro de nitrógeno (Robson y Reuter, *op cit.*). En general, el nivel de deficiencia crítica en las hojas más jóvenes es menos afectado por los factores ambientales.

Las aplicaciones foliares de cobre en forma de sales inorgánicas, óxidos, o quelatos, se recomiendan como medios de corrección de aquellas plantas que se desarrollan en suelos con deficiencia de cobre.

IV. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

El presente estudio se realizó en San Andrés Metla, Municipio de Cocotitlán, Estado de México.

IV.1. Ubicación Geográfica y Política

Cocotitlán pertenece a la región III de Texcoco, integrado por 24 municipios, situado entre las coordenadas 19° 13' 00" y 19° 13' 18" de latitud Norte y entre los 98° 50' 20" y 98° 50' 45" de longitud Oeste, a una altitud de 2400 msnm. Su división política está compuesta por dos localidades: Cocotitlán, cabecera municipal y San Andrés Metla.

IV.2. Localización

San Andrés Metla se localiza en el km 45 de la carretera federal México - Cuautla y colinda al norte con Ixtapaluca y Chalco; al sur con Tenango del Aire, Ayapango y Amecameca; por el oeste con Temamatla y por el este con Tlalmanalco (Figura IV.1.1), (Municipios, 1988).

IV.3. Climatología

El tipo climático que predomina en la zona es: C (w l) (w) templado con un porcentaje de lluvia invernal menor de 5. La temperatura media anual es de 14 °C, con una máxima de 34°C y una mínima de 5.7°C. La precipitación promedio anual es de 800 mm. Se registran heladas 40 a 60 días de octubre a mayo. La frecuencia de granizadas fluctúa entre 2 a 4 días (Franco, 1992).

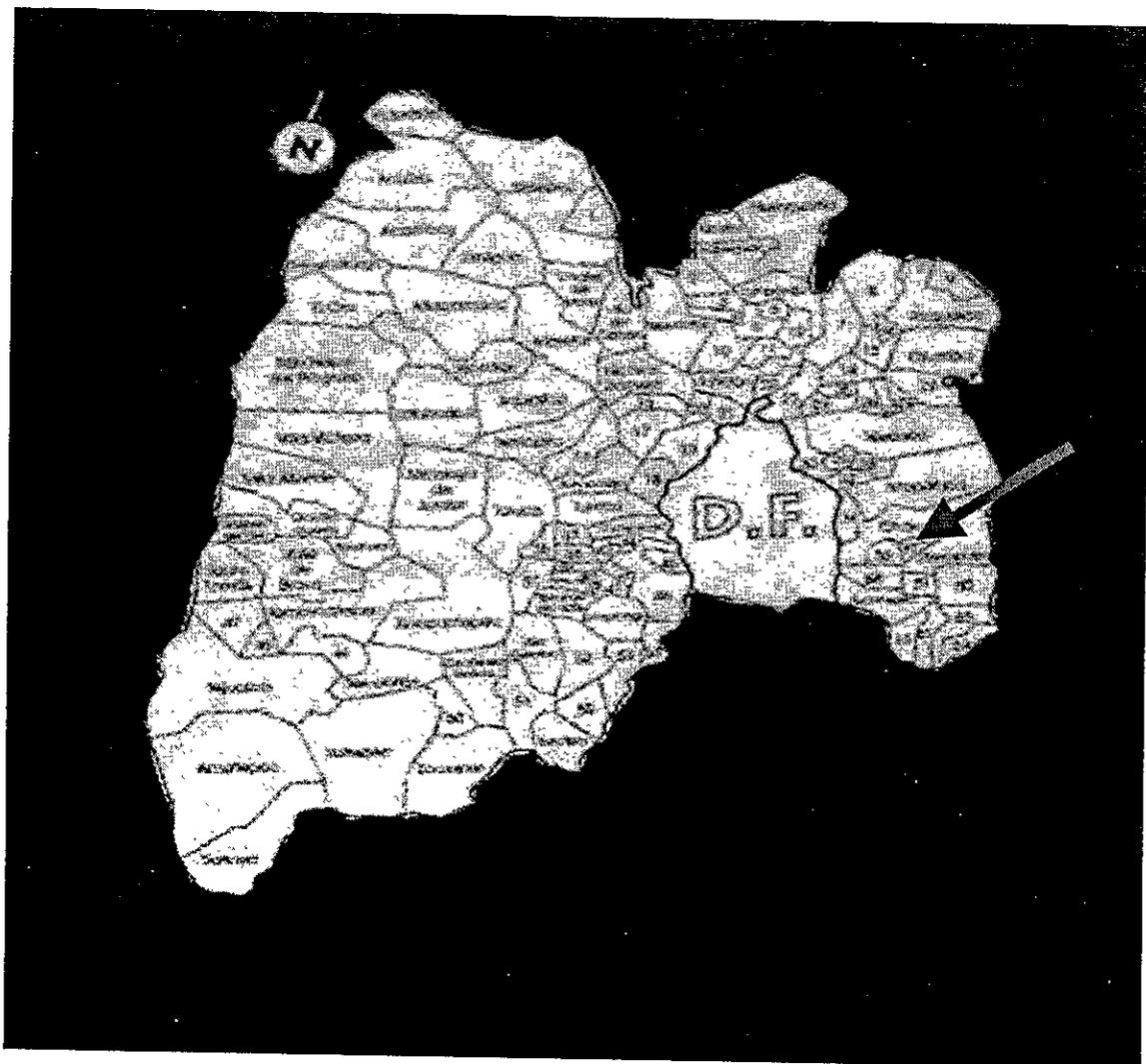


Figura IV.1.1. Localización de San Andrés Metla, Municipio de Cocotitlán, Estado de México

IV.4. Hidrografía

Los recursos hidrológicos no son muy vastos, únicamente existe el río de la Asunción que nace en las estribaciones del Popocatepetl y sus aguas están destinadas al uso agrícola. Región hidrológica RH 18, cuenca D, subcuenca P.

IV.5. Geología

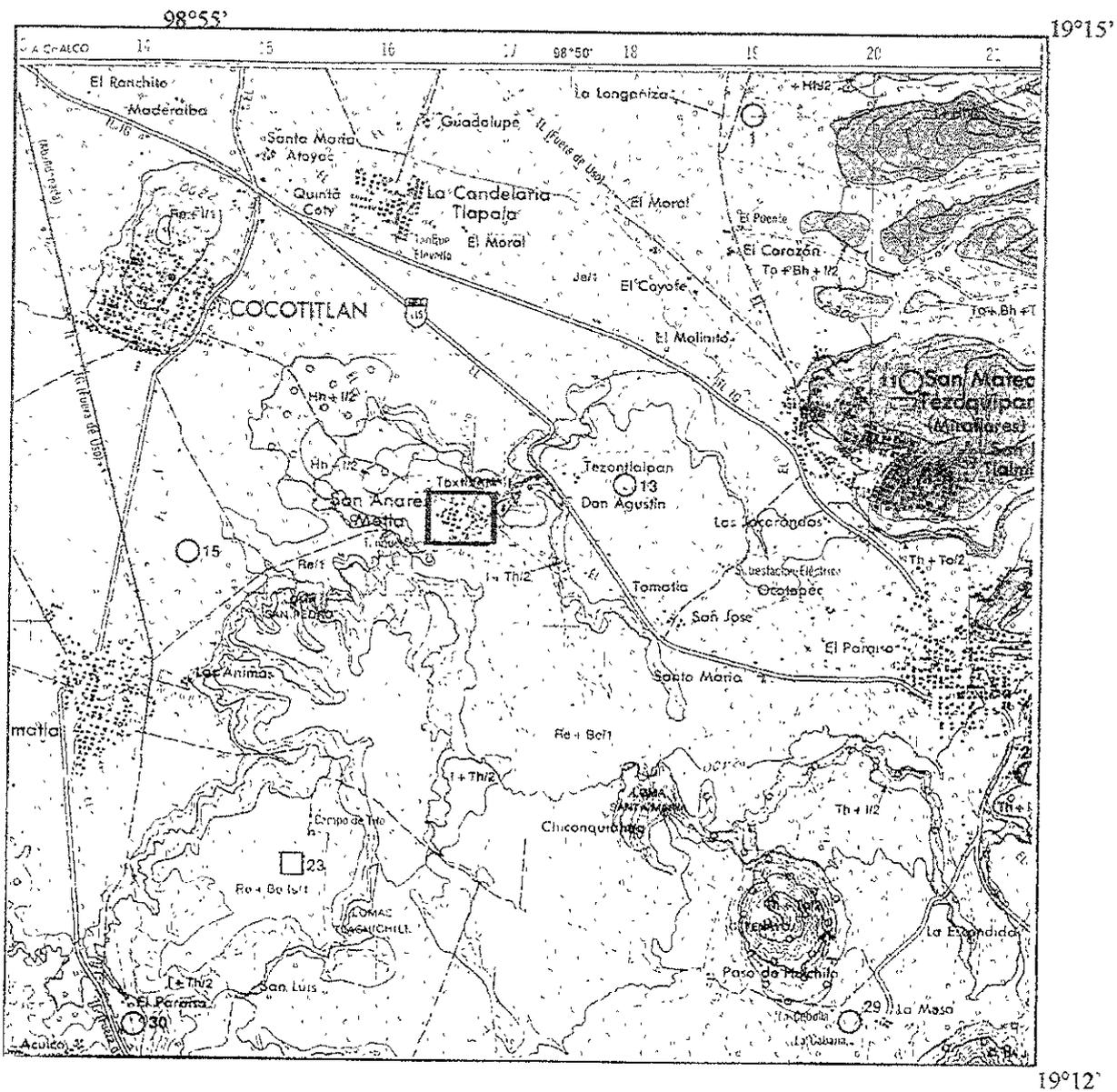
La zona se ubica en el Eje neovolcánico, con una edad que data del Cenozoico y su formación corresponde al período Cuaternario, el material parental deriva del intemperismo de rocas ígneas extrusivas como basalto, o ceniza volcánica, ya que se encuentra relativamente cerca del volcán Popocatepetl.

IV.6. Suelo

Con base en la Carta Edafológica de DETENAL, E 14 B 41, a escala 1:50, 000 el suelo corresponde a un Re + B/1, perteneciente al grupo Regosol, subdivisión: Regosol éútrico (INEGI, 1980) (Figura IV.1.2).

Duchaufour (1984), los define como: suelos poco evolucionados, formados por depósitos aluviales y coluviales, presentan las siguientes características: ausencia de estructura, textura heterogénea, elevada porosidad, buena aireación, y ausencia de diferenciación del perfil, por lo que predominan los horizontes AC.

FitzPatrick (1993), especifica que los Regosol éútricos, son aquellos suelos que tienen un horizonte A ócrico (contenido de materia orgánica bajo) y una saturación de bases de 50% entre los 20 y 50 cm de profundidad.



Zona de estudio Escala aprox. 1: 50 000

Figura IV. 1.2. Ubicación de la zona donde se realizó el experimento.

IV.7. Orografía

Cruzan el municipio leves lomeríos en dirección sureste, hay un cerro que está aislado de los lomeríos, denominado el Calvario.

IV.8. Recursos del Suelo

Las características superficiales observadas en la zona de estudio son:

Relieve ligeramente ondulado; con una pendiente entre 2 – 4%; poco pedregoso; drenaje moderadamente lento y la erosión hídrica se presenta en forma de surcos incipientes.

IV.9. Geoforma

El terreno de cultivo presentó las siguientes características: loma con relieve ligeramente ondulado, con pendiente de 2 – 4%, drenaje superficial moderado, pedregosidad de un 5 – 15% y erosión hídrica en forma de surcos incipientes.

IV.10. Uso Actual

El 80% de la superficie total del municipio (15.51 km²) está destinado a la agricultura de básicos. El suelo se explota con base en la agricultura de temporal. El ciclo agrícola anterior, estuvo sembrado con maíz y haba (Figura IV.1.3).

V. MATERIALES Y MÉTODOS.

La investigación se realizó en condiciones de campo y bajo régimen de temporal, en un lote experimental de 550 m², en la zona antes mencionada.

El diseño metodológico se dividió en las siguientes etapas: trabajo de gabinete, campo y de laboratorio.

V. 1. Trabajo de Gabinete

La semilla de cempazúchitl que se utilizó fue el híbrido Hawai B. Previo a la siembra se determinó el porcentaje de germinación en invernadero, obteniéndose el 92%. El cultivo en campo se realizó en el ciclo primavera – verano.

El suelo presentó deficiencias en nitrógeno aprovechable (Cuadro VI.2), lo cual indujo a fertilizarlo, se utilizaron las fórmulas 80 40 00 y 120 80 00; aplicándose el equivalente de 400 y 600 kg ha⁻¹ de N en forma de sulfato de amonio (20% N) respectivamente, es decir, que se utilizaron 240 y 360 g por parcela chica, cada una de estas cantidades se mezclaron con 123 y 243 g de superfosfato de calcio simple (19.5% de P₂O₅) que es el equivalente a 205 y 410 kg ha⁻¹ del fertilizante, para cada una de las fórmulas respectivamente; el grupo control fue 00 00 00.

La dosis seleccionada para el estiércol de bovino fue: 15 t ha⁻¹; para cupravít hidro: 15 y 30 g L⁻¹, se tomó como referencia el dato de 3 kg en 200 litros por hectárea, para la primera dosis se disolvieron 60 g del compuesto en 4 litros de agua y 120 g en 4 litros de agua para la segunda dosis. El control en ambos fue 0.

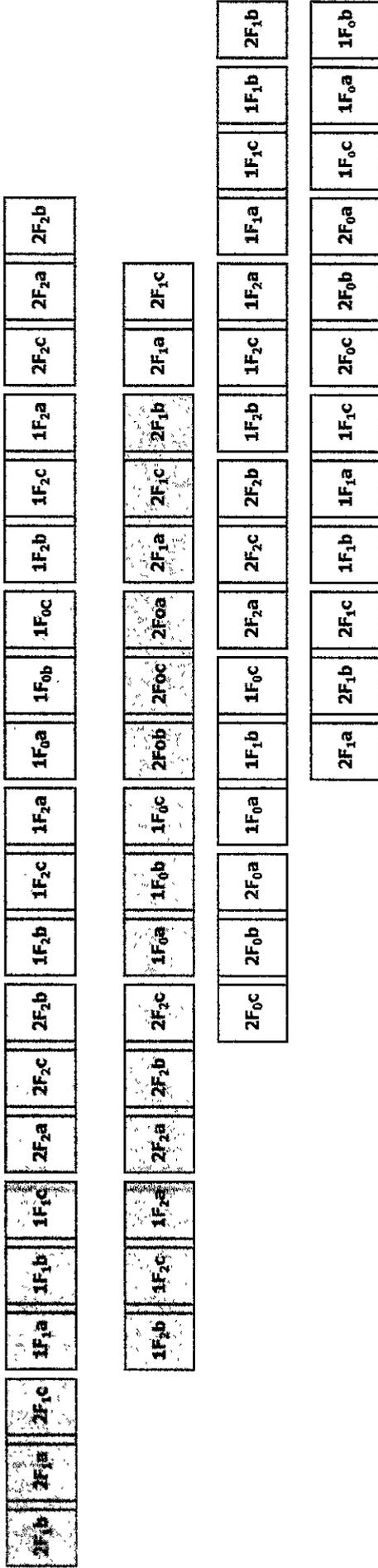
Con base, en el número de factores y las dosis de cada uno, se estableció un diseño experimental trifactorial (2x3x3) (Figura V.1.1), con arreglo en parcelas sub- subdivididas y distribuidas en bloques al azar, con 4 repeticiones, lo que dio un total de 18 tratamientos distribuidos en 2 parcelas grandes que contenían 3 parcelas medias cada una y éstas a su vez, estaban formadas por 3 parcelas chicas. La parcela chica fue la unidad experimental con una superficie de 3 m de largo por 2.10 m de ancho, con una superficie total de 6.30 m², dividida en tres surcos. La parcela útil fue el surco central. Se registró la codificación para cada uno de los tratamientos (Cuadro V.1.1).

Las variables dependientes a evaluar en el desarrollo del cempasúchil fueron:

- Altura de la planta,
- Peso fresco y seco de la planta
- Número de botones por planta
- Número de flores por planta
- Diámetro de la flor
- Concentración de carotenoides.

Los resultados obtenidos en la medición de estas variables dependientes se trataron estadísticamente, por medio del programa MSTAT, CIMMYT versión 92. Se aplicó el análisis de varianza (ANDEVA), el cual permitió conocer la influencia de los factores sobre la variable a evaluar y la Prueba de Tukey para la comparación de medias entre los tratamientos.

Para el cálculo de la concentración de carotenoides por gramo de flor seca se aplicó la siguiente fórmula de acuerdo con la ley de Lambert y Beer:



- Repetición I
- Repetición II
- Repetición III
- Repetición IV

Factores		
A	B	C
Estiércol (t/ha)	Fertilizantes Kg/ha	Cupravit (g/l)
	N P K	
1 = 0	F ₀ = 00 00 00	a = 0
2 = 15	F ₁ = 80 40 00	b = 15
	F ₂ = 120 80 00	c = 30

Figura V.1.1.1. Distribución de los Tratamientos en el Campo

$$A = A\% \times C \times d \quad \text{ó} \quad \text{mgcarot/gflorseca} = \frac{A \times V \times 10^3}{A^{1\%} \times g \times 100}$$

1cm

A% = coeficiente de extinción en hexano para carotenoides es de 2500.

A = absorbancia experimental

V = volumen total

g = gramos de muestra seca

Cuadro V.1.1. Codificación de los tratamientos.

Tratamiento	Abono		Fertilizante			Cupravit hidro		
	1	2	F ₀	F ₁	F ₂	a	b	c
1	1		F ₀			a		
2	1		F ₀				b	
3	1		F ₀					c
4	1			F ₁		a		
5	1			F ₁			b	
6	1			F ₁				c
7	1				F ₂	a		
8	1				F ₂		b	
9	1				F ₂			c
10		2	F ₀			a		
11		2	F ₀				b	
12		2	F ₀					c
13		2		F ₁		a		
14		2		F ₁			b	
15		2		F ₁				c
16		2			F ₂	a		
17		2			F ₂		b	
18		2			F ₂			c

1 = sin abono; 2 = con abono (15tha⁻¹); F₀ = 00 00 00; F₁ = 80 40 00; F₂ = 120 80 00;
a = sin cupravit; b = 15 gl⁻¹; c = 30 g/l⁻¹ de cupravit

V. 2. Trabajo en Campo

Para la caracterización del suelo; se tomaron dos muestras compuestas de la capa arable, para lo cual se seleccionaron cinco puntos en zig-zag de la zona y se tomó una muestra de 0 – 20 cm de cada punto, se mezclaron perfectamente y se tomaron aproximadamente 2 kg, esta misma operación se realizó para la muestra de 20 – 40 cm (Figura V.2.1). Posteriormente se guardaron en bolsas de plástico etiquetadas para su análisis.

Preparación del terreno:

1). El barbecho se realizó con tractor, práctica que rompe y voltea la capa arable del suelo a una profundidad de 20 a 30 cm, lo cual facilita la penetración del aire, agua y desarrollo de la raíz en el suelo, además se destruyen una gran cantidad de hierbas.

2). El rastreo se efectuó unos días antes de la siembra, con el objeto fue crear una cama de siembra superficial, fina y mullida, propia para la germinación de la semilla.

3). El surcado se hizo con yunta un día antes de la siembra, a una distancia de 70 cm de separación cada uno y después de la aplicación del fertilizante.

4). Para, el establecimiento del experimento. Las unidades se delimitaron con estacas y mecahilo, de acuerdo con la superficie indicada, dejando una distancia de un metro entre cada unidad y dos metros entre cada repetición. Entre los tratamientos horizontales se dejó un surco libre (Figura V.2.2.).



Figura V.2.1 Toma de la Muestra Compuesta.

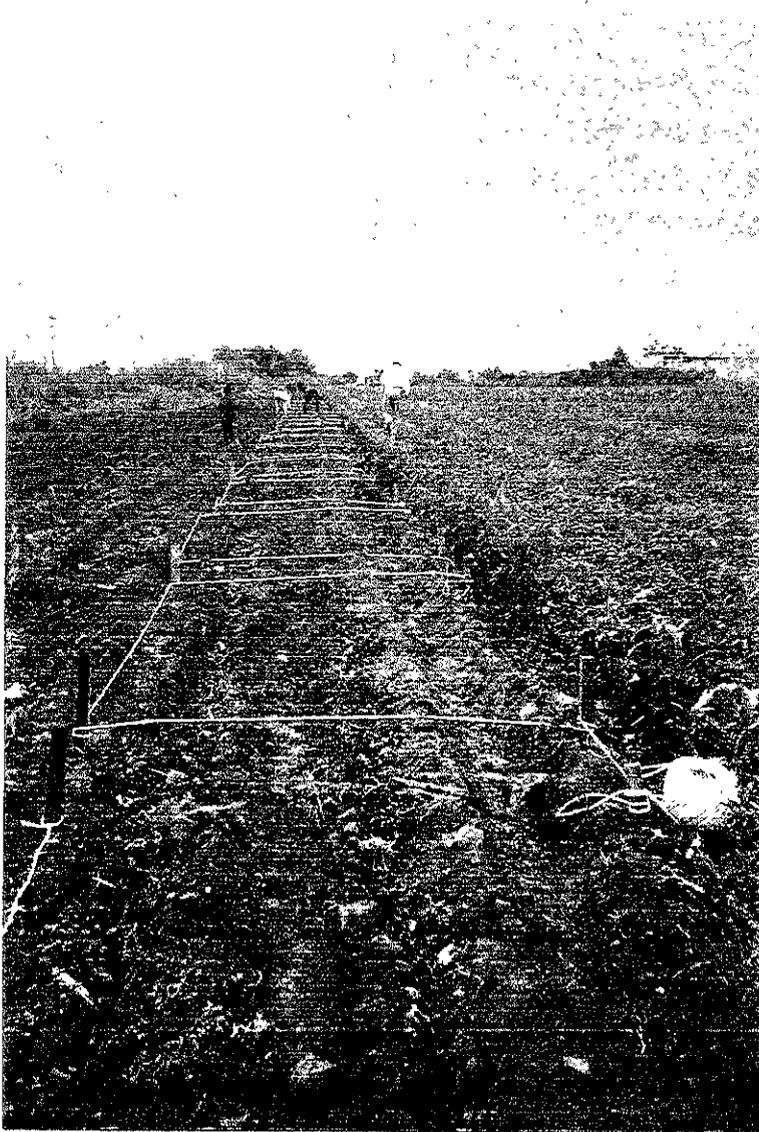


Figura V.2.2. Establecimiento del Diseño Experimental en Campo

5). La siembra se efectuó el 15 de junio de 1996, para lo cual, se depositaron aproximadamente 300 semillas, a chorrillo, en la parte lateral o costilla de cada surco, cubriéndolas con un poco de suelo.

6). La aplicación del estiércol de bovino, se realizó al día siguiente de la siembra, se aplicó en el lomo superior del surco y se cubrió con un poco de suelo. Se colocaron 9 kg de abono por unidad experimental, equivalente a 15 t ha^{-1} .

7). El deshierbe se hizo en forma manual durante todo el cultivo.

8). El aclareo se realizó a los 45 días, cuando la planta tenía entre 15 – 20 cm, éste se retrasó un poco debido a que no existía suficiente humedad en el suelo. Se dejaron 2 plantas cada 20 cm, por lo tanto, la densidad fue de 90 plantas por unidad experimental (Figura V.2.3.).

9). La aplicación del fertilizante químico, se realizó de acuerdo con las dosis especificadas. Se mezclaron ambos fertilizantes y se aplicó a los dos meses de la siembra, en una sola dosis; se colocó a unos 10 cm de la planta y se cubrió con suelo. Es necesario aclarar que el fertilizante no se pudo aplicar antes debido a que no había llovido y el suelo no presentaba la humedad suficiente para la disolución del fertilizante, por lo que se corría el riesgo de quemar la planta.

10). La aplicación del Cupravit hidro, fue 8 días después del fertilizante.

11). La cosecha se realizó en tres momentos: la primera se llevó a cabo el 28 y 29 de septiembre, se recolectaron 5 plantas de cada unidad, descartando



Figura V.2.3. Densidad del Cultivo

las más pequeñas y las más altas, el corte fue al ras del suelo y al momento del corte se hicieron las siguientes mediciones: altura, número de flores y número de botones por planta, diámetro de la flor y peso fresco de la planta. Las plantas se guardaron en bolsas de papel estraza perfectamente etiquetadas, para su posterior secado a la estufa.

La segunda y tercera recolección, fueron de flor únicamente, lo cual se realizó el 15 y 22 de octubre respectivamente; se guardaron en bolsas de papel estraza perfectamente etiquetadas. Los pétalos de la flor se utilizaron para la extracción de carotenoides,

V. 3. Trabajo en Laboratorio

1. Todas las muestras, se transportaron al laboratorio de fertilidad de Suelos del Departamento de Edafología del Instituto de Geología, UNAM. Las muestras de suelo de la capa arable, se secaron al aire para molerlas y tamizarlas a través de una malla de 2 mm, para practicar los análisis físicos y químicos correspondientes.

Determinaciones físicas:

- a. Color: determinado con las Tablas de Color de Munsell. En muestras de suelo seco y húmedo (Munsell Soil Chart, 1975).
- b. Densidad real: método del picnómetro (A.S.T.M., 1958).
- c. Densidad aparente: método de la probeta.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

VI. 1. Caracterización de la capa arable

Las propiedades de la capa arable 0 – 40 fueron las siguientes: textura franco arenosa, color en seco pardo 10 YR 3/4, en húmedo pardo grisáceo muy oscuro 10 YR 3/2, pedregosidad moderada que disminuía ligeramente con la profundidad, porosidad mayor del 50%, con permeabilidad rápida y drenaje moderado, abundantes raíces gruesas y medias.

Con respecto a sus propiedades físicas (Cuadro VI.1.1), los valores de la densidad aparente corresponden a un suelo arable recientemente labrado; su textura es franco arenosa, porosidad satisfactoria para la capa arable, drenaje, aireación, permeabilidad, como predominan las partículas de arena, los nutrimentos que existen son retenidos con menos fuerza que un suelo arcilloso. Estas características físicas del suelo contribuyen al buen desarrollo de la planta, ya que las raíces tienen una adecuada difusión y pueden obtener los nutrimentos necesarios. En general, es un suelo fácil de manejar en las operaciones de labranza.

Cuadro VI.1.1. Propiedades físicas de la capa arable.

Profundidad (cm)	Color seco	Color Húmedo	DA Mgm ⁻³	DR Mgm ⁻³	Porosidad %	Textura			Clase textural
						Arcilla %	Arena %	Limo %	
0 – 20	10 YR 4/3	10 YR 3/2	1.1	2.5	57.0	15.6	70.8	13.6	Franco arenosa
20 – 40	10 YR 4/3	10 YR 3/2	1.1	2.5	55.2	15.6	72.6	11.8	Franco arenosa

DA = densidad aparente; DR = densidad real

Las características químicas de la capa arable se muestran en el (Cuadro VI. 1.2.), las cuales indican, un pH ligeramente ácido; el porcentaje de materia orgánica disminuyó ligeramente con la profundidad, el porcentaje de carbono y CIC son bajos, los valores de N son medianamente pobres (Velasco, 1983, citado por Vázquez, 1993), el porcentaje de saturación de bases es de medio a alto (Cottenie, 1980, citado por Vázquez, *op cit*).

Estas características se mejoraron al adicionar abono y fertilizante químico, lo cual repercutió en la fertilidad del suelo y un mejor desarrollo de las plantas.

Cuadro VI.1.2. Propiedades químicas de la capa arable.

Profundidad (cm)	MO %	C %	CIC meq100g ⁻¹	Ca ⁺² cmolk ⁻¹	Mg ⁺² Cmolkg ⁻¹	K ⁺¹ Cmol kg ⁻¹	Na ⁺¹ cmolk g ⁻¹	PSB %	N total	C/N	pH (H ₂ O 1:2.5)	pH (KCl 1:2.5)
0 – 20	1.87	1.085	14.38	2.5	1.5	3.54	2.14	67.3	0.09	11.6	6.6	5.3
20 – 40	1.58	0.916	11.34	2.5	1.3	2.42	2.98	80.8	0.08	11.6	6.7	5.3

MO = Materia orgánica CIC = Capacidad de intercambio catiónico

PSB = Porcentaje de saturación de bases

VI. 2. Características del Desarrollo del Cempasúchil

El ciclo vegetativo del cempasúchil, variedad híbrido Hawai B, fue de 110 – 120 días, en la localidad indicada. La germinación se dió entre los primeros 5 a 8 días después de la siembra, a una temperatura que fluctuó entre los 14 y 17°C, menor a la especificada en las zonas productoras: Sinaloa, Guanajuato, Querétaro, Michoacán, Sonora, Durango, que es de 21 a 24 °C, Martínez, (1990).

El cuadro VI.2.1. muestra la relación entre el tiempo, temperatura y desarrollo del cempasúchil, hasta el momento de la cosecha, la temperatura que prevaleció estuvo entre los 15 y 16°C menor a la requerida durante el crecimiento del cempasúchil.

Cuadro VI.2.1. Relación entre el tiempo, temperatura y desarrollo del cempasúchil.

Tiempo (días)	Temperatura media (°C)	Desarrollo de la planta
5 – 8	14 – 17	Germinación
9 – 35	15 – 16	Crecimiento de la plántula
36 – 60	16 – 15	Brote de botones
61 – 100	15 – 16	Máximo desarrollo y floración
101 – 115	16 – 12	Cosecha

Con respecto a la humedad, esta planta exige que sea menor al 80% de la capacidad de campo y el agua debe llegar por trasporo (Carrera, 1989).

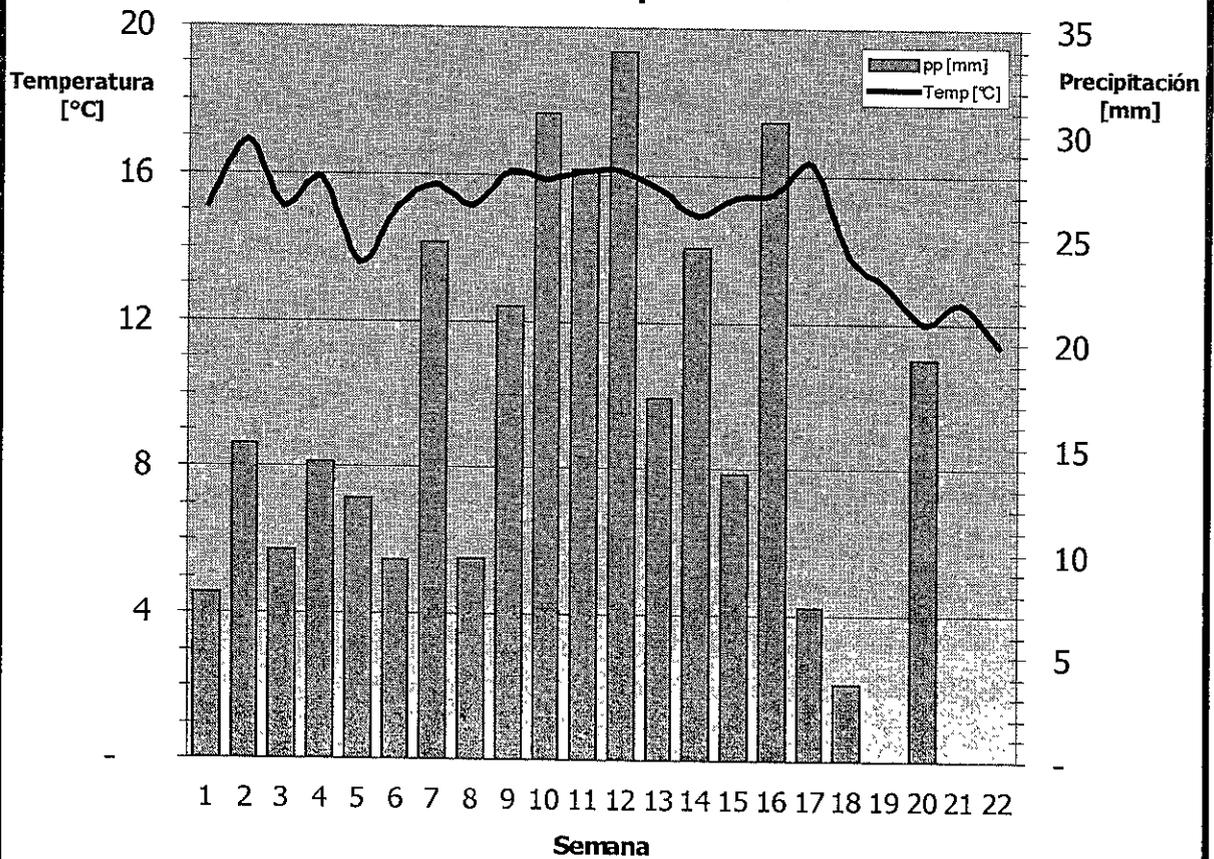
En cuanto a la precipitación pluvial, esta más bien fue escasa durante el periodo de cultivo 344.5 mm (1996), época de mayor precipitación, los reportes teóricos de la precipitación promedio anual la establecen en 800 mm (Franco, 1992), dato superior comparado con el periodo del cultivo. En las principales zonas productoras de México, antes mencionadas la precipitación promedio anual va de 520.9 a 977.6 mm Martínez, (1990).

Como se observa en el climograma Gráfica (VI.2.2), la precipitación pluvial al inicio de la siembra fue muy escasa, aumentó hacia finales del segundo y tercer periodo de desarrollo de la planta. Los datos registrados en el período de junio a octubre de 1996, corresponden a la estación de San Lucas, en Chalco, Estado de México, siendo la más próxima a la región.

Las observaciones que se hicieron con respecto al desarrollo de la planta de cempasúchil son los siguientes: una vez germinada la semilla, el desarrollo de la plántula fue similar, conforme fue avanzando, se observó que el crecimiento fue mayor en las unidades experimentales situadas en la parte central e inferior del terreno, esto pudo ser debido a la ligera inclinación del terreno y al mayor escurrimiento de agua; mientras que las unidades situadas en el extremo superior izquierdo (2F₁b y 1F₂c) mostraron un menor desarrollo y un ligero amarillamiento -- café en los bordes de la hoja.

La flor del híbrido Hawai B tiende a decolorarse, si la luz es muy intensa Martínez, (1990), sin embargo, éste fenómeno no se presentó.

Gráfica VI.2.2. Temperatura y precipitación durante el experimento



↓ ↓ ↓ ↓ ↓
 Siembra Aclareo Aplic. Fert. 1ª Cosecha 2ª
 Junio Julio Agosto Septiembre Octubre



Figura VI.2.1. Comparación del control con estiércol, tratamiento N° 10.



Figura VI.2.2. Comparación del control con el fertilizante, tratamiento N° 7.

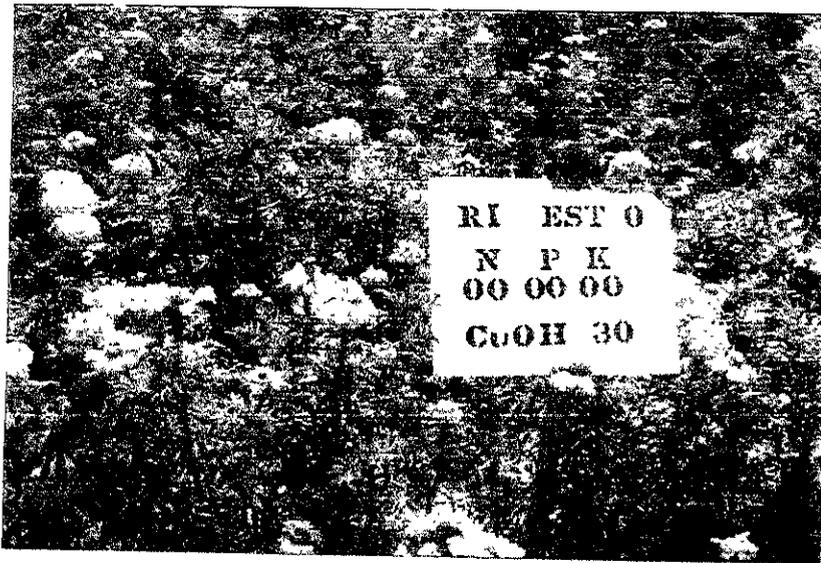


Figura VI.2.3 Comparación del control con el cupravit, tratamiento N° 3.



Figura VI.2.4. Comparación del control con dos factores, tratamiento N°11.

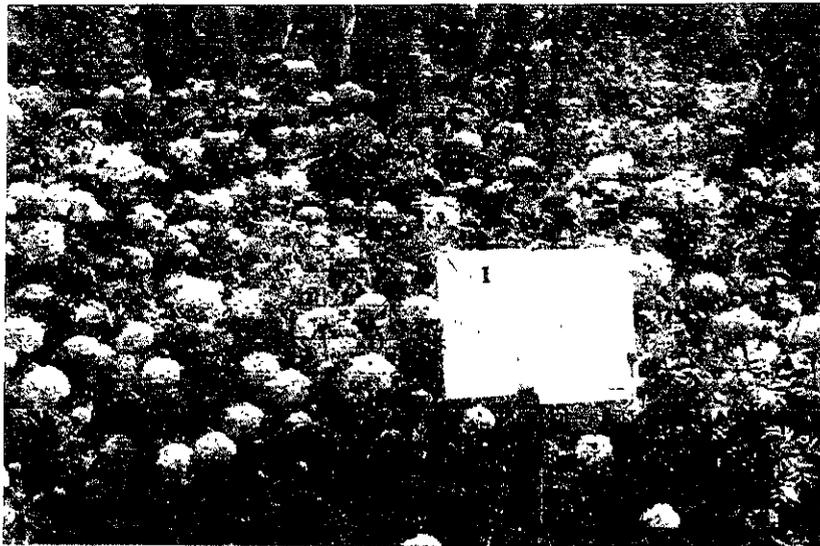


Figura VI.2.5. Comparación del control con dos factores, tratamiento N°9.



Figura VI 2.6. Comparación del control con dos factores, tratamiento N° 16



Figura V1.2.7. Desarrollo de la Planta de Cempazúchitl. Tratamiento N° 18 (2Cc)

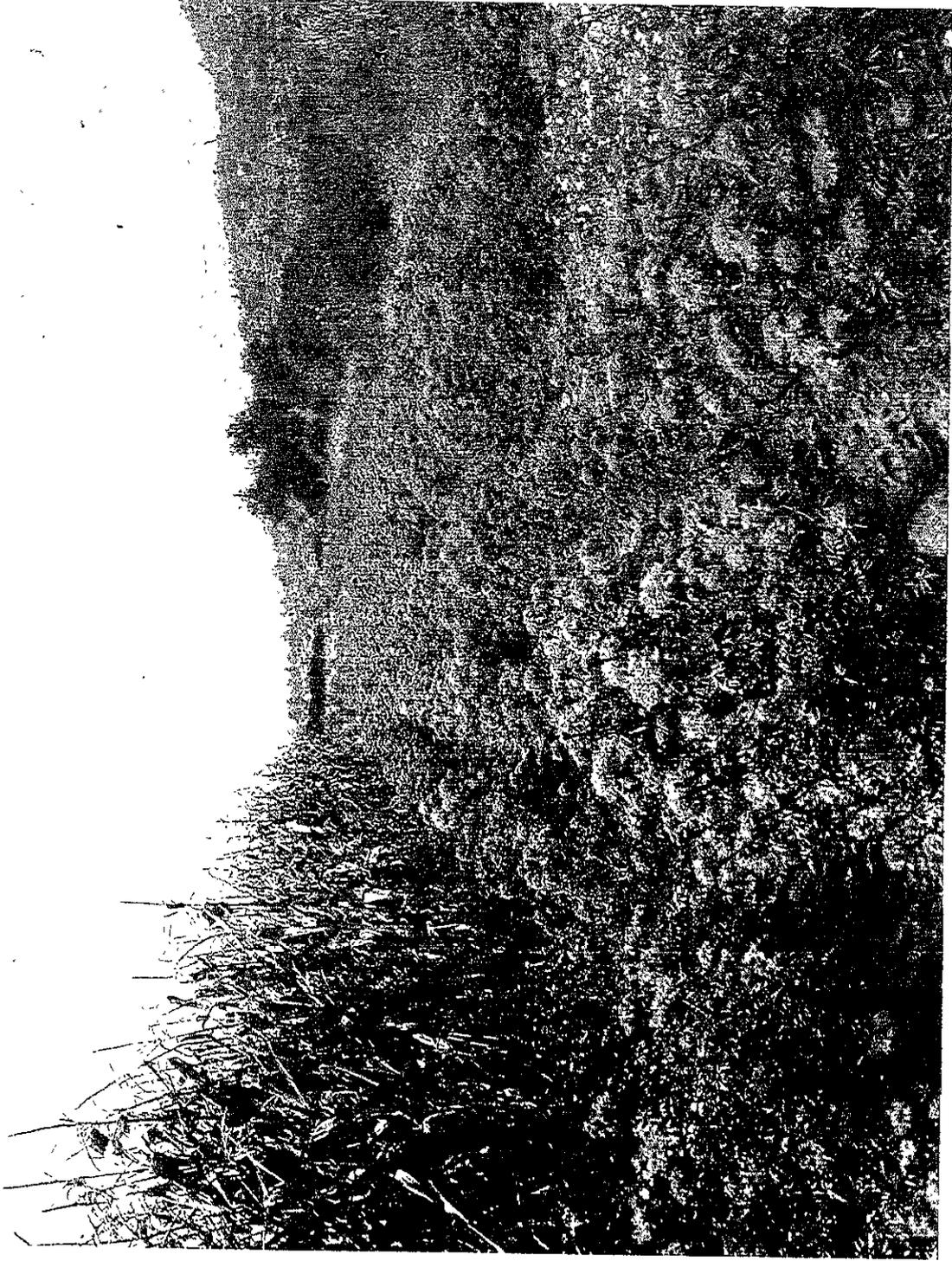


Figura VI.2.8.. Vista Panorámica del Florecimiento del Cemazúchitl.

Las siguientes figuras muestran la comparación del desarrollo del cempasúchil entre el control y uno de los factores en estudio: (VI.2.1) control–estiércol 15 t ha^{-1} ; (VI.2.2) control - fertilizante 120 80 00; (VI.2.3) control – cupravit 30 g L^{-1} . Las siguientes muestran el comportamiento de dos factores comparado con el control: (VI.2.4) control – estiércol 15 t ha^{-1} y cupravit 15 g L^{-1} ; (VI.2.5) control – fertilizante 120 80 00 y cupravit 30 g L^{-1} ; (VI.2.6) control – estiércol 15 t ha^{-1} y fertilizante 120 80 00. La figura (VI.2.7) corresponde al tratamiento 18, al cual se le aplico: estiércol 15 t ha^{-1} , fertilizante 120 80 00 y cupravit 30 g L^{-1} en este se observa la influencia positiva de los tres factores en dosis altas, no se observo ningún antagonismo entre ellos además, la figura (VI.2.8) muestra una vista panorámica del florecimiento del cempasúchil. En general, se observa que existieron diferencias en el desarrollo de la planta y los diferentes tratamientos, como se puede constatar con la prueba de Tukey.

En cuanto a la productividad, el rendimiento promedio fue de 14 t ha^{-1} . Las referencias que se tiene es de 4 a 25 t ha^{-1} , obteniéndose un promedio de 15 t ha^{-1} (Martínez, 1990).

VI. 3. Efecto del Estiércol de Bovino, Fertilizante y Cupravit hidro, con Respecto a las Variables de Estudio.

VI. 3.1. Altura de la Planta

Los resultados obtenidos de la altura de la planta en los diferentes tratamientos no mostraron diferencia estadísticamente significativas con ninguno de los tres factores: estiércol, fertilizante e hidróxido cúprico (cupravit hidro).

VI. 3. 2. Peso Fresco de la Planta

En los resultados obtenidos en el análisis de varianza se puede observar: que existe una diferencia significativa en el peso fresco de la planta de cempazúchitl cuando fue tratada con estiércol de bovino; altamente significativa al tratarse con fertilizante y la interacción abono orgánico – fertilizante produjo únicamente diferencias significativas. (Cuadro VI. 3.1.), es decir, que el fertilizante fuente de N influyo en el crecimiento vegetativo, concuerda con lo reportado por Bould (1974), propiciando una mayor formación de hojas aumentando así el área de captación de luz y como consecuencia una elevación en la tasa fotosintética de la planta, lo cual repercute en el peso de la planta Shoemaker (1978), esto es debido a que los nutrimentos inorgánicos son rápidamente incorporados a la solución del suelo, cuando la humedad es adecuada y pueden estar disponibles para la planta, a diferencia de los nutrimentos de origen orgánico. Así mismo, Arnold *et al.*, (1993) señalan que el $Cu(OH)_2$ influye también en el desarrollo vegetativo.

Cuadro VI.3.1. Resultados obtenidos en el análisis de varianza para peso fresco de la planta de cempasúchil.

Código	Fuente	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Promedio
2	A	1	26106.13	26106.125	4.8 *
4	B	2	54980.53	27490.264	5.05 **
6	AB	2	35035.08	17517.542	3.22 *
8	C	2	1527.86	763.931	0.14 NS
10	AC	2	3856.58	1928.292	0.35 NS
12	BC	4	4029.64	1007.410	0.19 NS
14	ABC	4	9749.08	2437.271	0.45 NS
-15	ERROR	54	293941.75	5443.366	

A = Estiércol de bovino B= fertilizante C = Cupravit

*significativo al 0.05

NS no significativo

** altamente significativo al 0.01

Prueba de Tukey

Puesto que la variable peso fresco presentó diferencias significativas, los datos se sometieron a la prueba de comparación de medias de Tukey, para determinar las diferencias entre de los tratamientos (Cuadro VI.3.2).

Cuadro VI.3.2. Prueba de Tukey

Tratamiento	Peso fresco		Peso seco		No. botones / p		No. flores / p	
1	146.5	CDE	24.51	DE	15.07	EF	7.25	CD
2	98.25	E	17.05	E	11.75	F	4.74	E
3	139.5	CDE	24	DE	16.65	CDE	6.5	DE
4	156	CD	28.45	CD	18.1	BCDE	6	DE
5	130.5	CDE	23.08	DE	16.4	CDE	5.25	DE
6	150	CDE	24.57	DE	15.4	DEF	7.5	BCD
7	145.5	CDE	25.01	D	15.8	DE	6.5	DE
8	145.25	CDE	24.51	DE	16.2	CDE	7.25	CD
9	157	CD	25.88	D	19.3	BCD	6.25	CD
10	147	CDE	25.45	D	18.5	BCDE	6.15	DE
11	151	CD	25.2	D	16.4	CDE	6.25	DE
12	139.5	CDE	223.35	DE	18.5	BCDE	6.15	DE
13	118.25	DE	23.65	DE	18.25	BCDE	6.5	DE
14	173.5	BC	28.75	CD	19.9	BC	5.25	DE
15	137	CDE	27.55	CD	18	BCDE	6.75	DE
16	276	A	48.85	A	26.15	A	9.75	B
17	225	AB	35.05	BC	19.25	BCD	9.25	BC
18	244.75	A	42.6	AB	21.5	B	12.25	A

Las medias seguidas de la misma letra son iguales, $\alpha = 0.01$

Con la prueba de Tukey, se observa que los tratamientos 16, 17 y 18 tuvieron el mismo efecto con respecto al peso fresco de la planta, estos tratamientos contenían abono, la dosis alta de fertilizante inorgánico y la diferencia fue el cupravit, el tratamiento 16, al cual no se le adicionó el cupravit, presentó el mismo comportamiento que cuando se agregó, por lo tanto, lo más conveniente sería utilizar únicamente el estiércol de bovino y fertilizante, para disminuir los costos del cultivo.

VI.3.3. Peso Seco de la Planta

El análisis de varianza mostró una diferencia significativa en el peso seco de la planta cuando se aplicó estiércol de bovino y fertilizante. La interacción abono orgánico – fertilizante no mostró diferencias significativas en esta variable. (Cuadro VI. 3.3).

Cuadro VI.3.3. Resultados obtenidos en el análisis de varianza para peso seco de la planta de cempasúchil.

Código	Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Promedio	
2	A	1	893.24	893.235	5.76	*
4	B	2	1390.90	695.449	4.49	*
6	AB	2	905.37	452.685	2.92	NS
8	C	2	170.08	85.084	0.14	NS
10	AC	2	10.74	5.368	0.35	NS
12	BC	4	100.33	25.084	0.19	NS
14	ABC	4	372.70	93.176	0.45	NS
- 15	ERROR	54	8371.68	155.031		

A = Estiércol de bovino B = Fertilizante químico

*significativo al 0.05

C = Cupravit hidro

NS no significativo

En la Prueba de Tukey (Cuadro VI.3.2) se puede observar que los tratamientos 16 y 18 tuvieron el mismo efecto para peso seco, por lo tanto, es mejor utilizar abono orgánico y fertilizante.

VI. 3.4. Número de Botones en la Planta de Cempasúchil

El análisis de varianza mostró un efecto altamente significativo cuando la planta de cempasúchil fue tratada con estiércol de bovino; con los otros factores el efecto no fue significativo (Cuadro VI.3.4).

Cuadro VI.3.4. Resultados obtenidos en el análisis de varianza para número de botones en la planta de cempasúchil.

Código	Fuente	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Promedio	
2	A	1	224.37	224.367	7.25	**
4	B	2	152.57	76.284	2.47	NS
6	AB	2	29.59	14.793	0.48	NS
8	C	2	53.13	26.564	0.86	NS
10	AC	2	18.01	9.006	0.29	NS
12	BC	4	60.35	15.088	0.49	NS
14	ABC	4	82.18	20.546	0.66	NS
- 15	ERROR	54	1670.86	30.942		

A = Estiércol de bovino

****** altamente significativo al 0.01

B = Fertilizante químico

NS no significativo

C = Cupravit hidro

La prueba de Tukey (Cuadro VI.3.2) mostró que el mejor tratamiento para el número de botones fue el número 16, que contenía estiércol y dosis alta de

fertilizante, seguido por el número 18 que contenía estiércol, dosis altas de fertilizante y cupravit.

VI. 3. 5. Número de Flores por Planta de Cempazúchitl

En el análisis de varianza el fertilizante fue el único que mostró un efecto significativo en el número de flores, los otros factores no tuvieron efecto (Cuadro VI.3.5).

Cuadro VI.3.5. Resultados obtenidos en el análisis de varianza para el número de flores en la planta de cempasúchil.

Código	Fuente	Grados libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	Promedio	
2	A	1	22.894	22.894	2.02	NS
4	B	2	100.67	50.336	4.43	*
6	AB	2	47.20	23.602	2.08	NS
8	C	2	24.09	12.044	1.06	NS
10	AC	2	0.62	0.311	0.03	NS
12	BC	4	9.24	2.311	0.20	NS
14	ABC	4	17.08	4.269	0.38	NS
- 15	ERROR	54	613.27	11.357		

A = Estiércol de bovino

B = Fertilizante químico

C = Cupravit hidro

* significativo al 0.05

NS no significativo

La prueba de Tukey (Cuadro VI.3.2) muestra que el tratamiento 18, que contenía estiércol de bovino, dosis alta de fertilizante y dosis alta de cupravit, fue el que tuvo un mayor efecto en el número de flores, el número 16 y 17 tuvieron en efecto semejante, la diferencia entre estos es la dosis de 30 gL^{-1} de hidróxido cúprico.

El efecto del cobre está de acuerdo con lo reportado por Robson *et al.*, (1981), mencionan que la deficiencia de este elemento conduce a disminuir el número de botones e impide la apertura de las flores en *Crisantemo morifolium*, por lo tanto, cuando el tratamiento contiene cobre el número de botones y de flores por planta aumenta considerablemente al igual que la actividad enzimática de la polifenoloxidasas, IAA oxidasa y la peroxidasa (Cuadro III.3.3).

VI.3.6. Diámetro de la Flor de Cempasúchil

En el análisis de varianza los factores estudiados no presentaron ningún efecto significativo en el diámetro de la flor de cempasúchil.

El diámetro de la flor en el testigo fue 9.2 cm, el promedio general del diámetro de la flor del cultivo fue de 9.0 cm, sin embargo, se observó que éste fue mayor (9.7 cm) al testigo sin llegar a existir una diferencia significativa cuando la planta se trató únicamente con abono y ligeramente superior al testigo cuando se aplicó abono 15 tha^{-1} y dosis 30 gL^{-1} de cupravit $\text{Cu}(\text{OH})_2$, o abono 15 tha^{-1} , dosis alta de fertilizante 120 80 00 y dosis alta de cupravit 30 gL^{-1} , desde el punto de vista económico lo más conveniente es aplicar estiércol únicamente, sin embargo la interacción abono – cupravit y fertilizante - cupravit guardan cierta relación con el

diámetro de la flor. Bandypadhay y Das (1994), comprobaron que al tratar a *Tagetes erecta* con sulfato de cobre o la mezcla de sulfato de cobre - sulfato de zinc a nivel foliar, se obtuvo un efecto relativamente mayor en el tamaño de la flor y el peso de cien semillas. INIA (1983) citado por Anaya, (1988), menciona que la dosis de fertilización equivalente a 120 kg ha^{-1} de N, en *Tagetes spp*, en la región del Bajío, produjo el mayor rendimiento en flor; Belorkar *et al.*, (1992), obtuvieron la mayor producción de flores con un diámetro de 6.52 cm, con la combinación de 90 kg ha^{-1} de N.

VI.3.7. Concentración de Carotenoides

Los factores: estiércol de bovino, sulfato de amonio - superfosfato de calcio simple, no presentaron ningún efecto significativo en la concentración de carotenoides en la flor del cempasúchil.

El cupravit (hidróxido cúprico) no mostró ningún efecto significativo en las variables estudiadas y tampoco se observó un relación entre las dosis establecidas y la concentración de carotenoides presentes en la flor de cempasúchil.

El rendimiento relativo de carotenoides obtenido de acuerdo al peso de los pétalos varió de 2 a 4 mg g^{-1} de muestra seca, el mayor se obtuvo cuando la planta se trato con abono y dosis alta de cupravit o bien cuando se adiciono abono y dosis media de fertilizante.

VI.3.8 Espectro de Absorción.

Los Carotenoides son identificados fácilmente por sus propiedades físicas, particularmente por su espectro de absorción. La diferencia en la luz absorbida depende del número de dobles enlaces conjugados y de la configuración cis – trans.

Todos los compuestos carotenoides tienen un espectro de absorción típico de tres picos, con el máximo y mínimo bien definido. La Figura VI.3.6 muestra el espectro de absorción teórico de β – carotenos en solución de hexano (Frear, 1950).

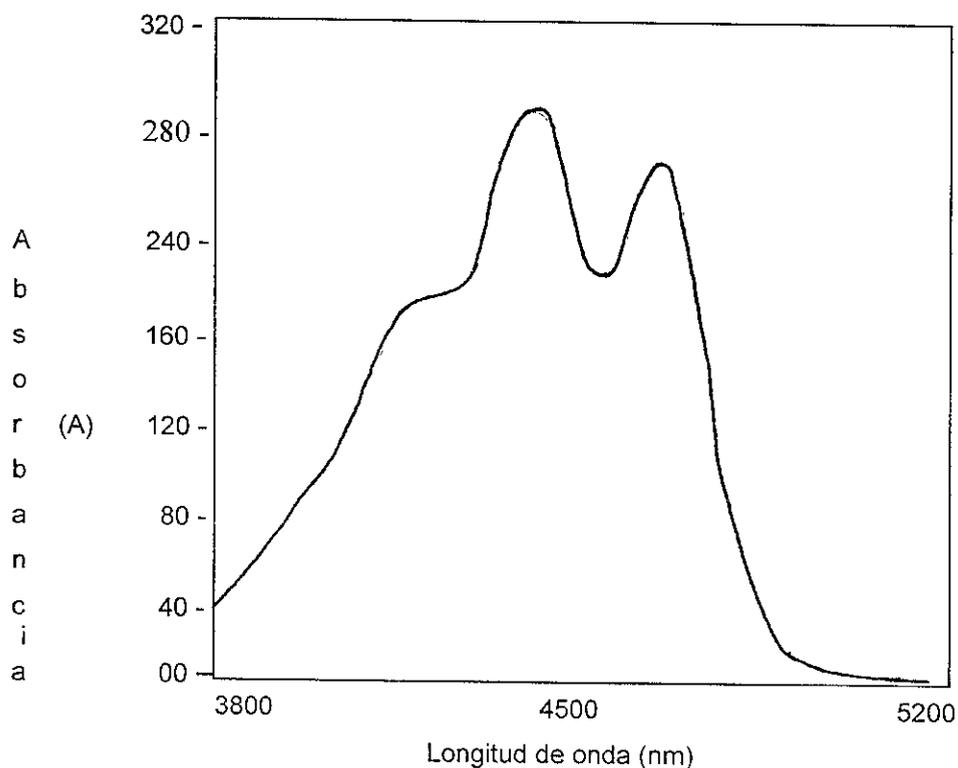


Figura VI.3.6. Espectro de absorción teórico de β - carotenos en hexano.

La Figura VI.3.7, muestra el espectro de absorbancia experimental obtenido en el tratamiento RII 18 2F_{2c}. Como se puede observar este espectro presenta los tres picos característicos de los carotenoides en la región ultravioleta y visible del espectro, principalmente en la región del azul (430 – 470 nm), en el azul – verde (470 – 500 nm).

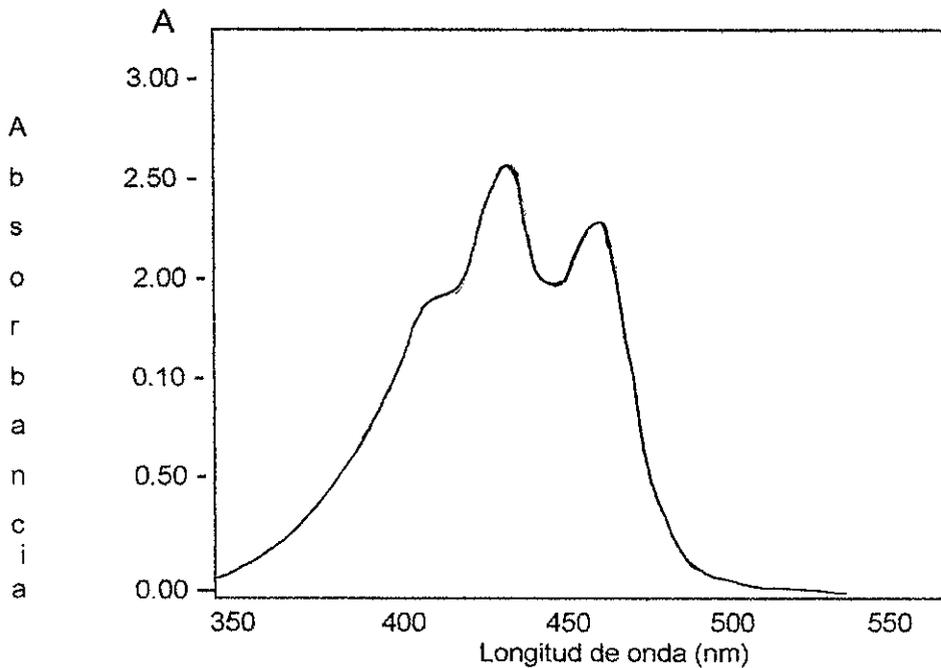


Figura VI.3.7. Espectro de absorbancia experimental muestra RII 18 2F_{2c}

VI.3.9. Matriz de Correlación

La matriz de correlación permite correlacionar una variable con otra y ésta, muestra que existe una correlación entre el número de flores y la talla de la planta, peso fresco y seco de la planta. El número de botones por planta se correlaciona con el peso fresco y seco de la planta, por último el peso seco de la planta está en función del peso fresco de la planta (Cuadro VI.3.8).

Cuadro VI.3.8. Matriz de Correlación

	Talla	Peso fresco	Peso seco	No.botones/ p	Diámetro flor	No, flores / p
Talla	1.000					
Peso fresco	0.796	1.000				
Peso seco	0.775	0.974	1.000			
No.Botones/ p	0.645	0.837	0.884	1.000		
Diámetro flor	0.388	0.176	0.158	0.064	1.000	
No. Flores/ p	0.836	0.836	0.828	0.615	0.196	1.000

Con respecto al número de flores, al existir un incremento en la tasa fotosintética, se puede promover una mayor formación de yemas axilares lo cual repercute en un incremento en la ramificación y una mayor producción floral, por lo tanto se incrementa el peso fresco, lo cual concuerda con lo mencionado por Bould (1974). Por otro lado, (Robson *et al.*, 1981) señalan que la disminución en la actividad de la polifenol oxidasa, enzima de la cual forma parte el cobre, puede ser indirectamente responsable del retraso en la floración y maduración de las plantas.

El número de botones o flores no únicamente dependen de los nutrimentos, sino también de la programación genética que no se expresa hasta el tiempo conveniente. Algunas plantas empiezan su floración cuando están maduras para florecer, es decir que han alcanzado un cierto estado de desarrollo, en tanto que otras tienen artificios que determinan cuando llega la estación de floración, la cual está determinada por dos requerimientos importantes: la longitud del día apropiada (fotoperiodo) y el requerimiento de frío (termoperiodo), (Bidwell, 1979).

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS

VII. CONCLUSIONES

A partir del análisis estadístico ANDEVA, se puede concluir que el estiércol de bovino y el fertilizante no tuvieron efecto sobre la altura de la planta, diámetro de la flor y contenido de carotenoides en la flor.

La fertilización (sulfato de amonio y superfosfato de calcio simple) en la dosis de 120 kg ha^{-1} , tuvo un efecto muy significativo $\alpha = 0.01$ en el peso fresco y un efecto significativo $\alpha = 0.05$ en las variables: peso seco y número de flores por planta.

El estiércol de bovino dosis 15 t ha^{-1} tuvo efecto significativo $\alpha = 0.05$ en peso fresco, peso seco y número de botones.

La interacción abono – fertilizante sólo tuvo un efecto significativo $\alpha = 0.05$ en el peso fresco de la planta.

De acuerdo con la prueba de Tukey, los tratamientos que tuvieron un impacto favorable en las variables: peso fresco, peso seco, número de botones y número de flores fueron:

- El tratamiento 16, al cual se aplicó estiércol de bovino 15 t ha^{-1} , dosis $120 \text{ 80 00 kg ha}^{-1}$ de fertilizante.
- El tratamiento 18, estiércol de bovino 15 t ha^{-1} , fertilizante en la dosis $120 \text{ 80 00 kg ha}^{-1}$ y cupravit (hidróxido cúprico) en la dosis de 30 g L^{-1} .

- El tratamiento 17 donde se aplicó estiércol de bovino 15 t ha^{-1} , dosis fertilizante $120 \text{ 80 00 kg ha}^{-1}$ y cupravit 15 g L^{-1} .

Uno de los objetivos a probar en esta investigación fue determinar si existía alguna relación entre la dosis de Cu(OH)_2 y la concentración de carotenoides, al respecto no se encontró ninguna relación significativa estadísticamente con las dosis utilizadas, pero existe la posibilidad de aplicar una dosis mayor a nivel foliar de este compuesto o bien su forma quelatada en el suelo, para obtener una mayor concentración del pigmento.

VIII. LITERATURA CITADA

- Anaya, H., Ma. del R. 1988. Efecto de la Aplicación de Diferentes Niveles del Nitrógeno en Cempasúchil. Tesis de Licenciatura. UACH. Chapingo, México. p. 15
- Ariza, E. L. 1967. Las Especies de *Tagetes (compositae)*, de la Región Central de Argentina. *Kurtziana*, **4**: 51 – 71
- Arnold, M. A., Airhart, D. L., Davis, W. E. 1993. Cupric hidroxide – Treated Affect Growth and Flowering of Annual and Perennial Bedding Plants. *J. Environ., Hortic.* 1993, **11** (3), 106 – 110.
- Arora, J. S., and Singh, J. 1981. Effect of N y P_2O_5 on Growth and Flower Production of Marigold (*Tagetes erecta*). *Horticultural Abstract* 789.
- Arutmozhiyan, R., Pappaiah, C.M. 1989. Studies on the Effect of Nitrogen , Phosphorus and Ascorbic Acid on the Growth and Yield of Marigold (*Tagetes erecta L.*). *South Indian Horticulture*. **37**: 3, 169 – 172.
- Bandyopadhyay, P., Das. D. K., Chattopadhyayit.K. 1994. Effect of Micronutrients on Flower Character and Yield of Marigold (*Tagetes erecta*) Seed cv. *African giant* (Lemon). *Crop Research (Hisar)*. **7** (1): 13 – 16.
- Baszynski, T., Ruszkowska, M., Krol, M., Tukendorf, A. and Wolinska, D. 1978. The Effect of Copper Deficiency on the Photosynthetic Apparatus of Higher Plants. *Z. Pflanzen Physiol*, **89**: 207 – 216.
- Bayer de México S.A. de C.V. 1995. Cupravit. Folleto. México. p. 5
- Bauernfeind, J.C. 1981. Carotenoids as Colorants and Vitamin A Precursors. Technological and Nutritional Applications, Academic Press. New York. p. 903
- Becerril, G.M., Avila, G.E. y Vázquez, P.C. 1988. Efecto Pigmentante de luteína y Capsantina en Aves. *Síntesis Avícola*. **6**(10): 26 –31

- Belorkar, P.V., Patil, B.N., Gollinar, V.J., Kathare, A.J. 1992. Effect of Nitrogen Levels and Spacings on Growth, Flowering and Yield of African Marigold (*Tagetes erecta* L.). *Journal of Soils and Crops*. **2**: 1, 62 – 64.
- Bidwell, R.G. 1979. *Fisiología Vegetal*. AGT Editor, S.A. México. p. 38
- Black, C.A., 1973. *Methods of Soil Analysis Agronomy No. 9. Part. I*. Ed. American Society of Agronomy Inc. USA.
- Bould, C, 1974. Mineral Nutrition of Plants. Proc. of the XIX Inter. Hort Cong, Vol. III p 260.
- Britton, G. 1982. Carotenoid biosynthesis in Higher Plants. *Physiol. Veg.* **20**: 735 – 755.
- Caffini, N.O., Natalucci, C.L. 1980. Carotenoides de Origen Floral de Plantas Argentinas. *Phyton*. **38** (2): 129 – 135.
- Carrera, V. J. A. 1989. Perfil Agroindustrial del Cempazúchitl (*Tagetes lúcida*). Dpto. Fitotecnia. UACH. Chapingo, México.
- Chan, G.F., Towers, Q.G.H. y Mitchell, J.C. 1975. Ultraviolet Mediated Antibiotic Activity of Thiophene Compound of *Tagetes*. *Phytochemistry* **14**: 2295 –2296.
- Davis, J.N., Adams, P., and Windsor, G. W. 1978. Bud Development and Flowering of *Chrysanthemum morifolium* in Relation to Some Enzyme Activities and to the Copper, Iron and Manganese Status. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **9**, 249 –264.
- De Las Rivas, J. 1989. Reversed – Phase High – Performance Liquid Chromatographic Separation of Lutein and Lutein Fatty Acid Esters from Marigold Flower Petal Powder. *J. Chromatogr. V.* **464** (2): 442 –447.
- Delgado, V.F., Paredes, L.O. 1997. Effects of Enzymatic Treatments on Carotenoid Extraction from Marigold Flowers (*Tagetes erecta*). *Food Chemistry. Mar. V.* **58** (3): 255- 258.
- Duchaufour, P. 1984. *Edafogénesis y Clasificación*. Ed. Masson, S.A. España. p. 217, 319

- Espinosa, A.S. 1981. Cromophyloro (*Tagetes erecta*) en Dieta Blanda como Pigmentador de la Piel de Pollos en Engorda en Tres Diferentes Edades. Tesis profesional: ITESM, Monterrey, N.L., México
- FitzPatrick, E.A. 1993. Introducción a la Ciencia de los Suelos. Ed. CECOSA. México. p. 217, 262 –266, 319.
- Franco, M.S. 1992, Atlas del Estado de México. Gobierno del Estado de México. UAEM. México.
- Frear, D.E.H. 1950. Agricultural Chemistry, Nostrand Company, Inc, N.Y.
- Fred, J. CH. 1963. *Tagetes*, in Dictionary of Gardening. The Royal Hort. Soc. IV: 2075.
- Garg, S.C. y Dengre, S.I. 1988. Antifungal Efficacy of Some Essential Oils. Horticultural Abstract, v. 58, No. 8 - 10
- Gayle, K. G., Tsung – Shan, Ch. Philip, T. 1986. Quantitative Analysis de Lutein Esters in Marigold Flowers (*Tagetes erecta*) by High Performance liquid Cromatography. J. of Food Science. Vol. 51, No. 4: 1093- 1094.
- Gómez, V. H. C. 1981. Estudios de Variabilidad en Algunas Colectas de Cempazúchitl (*Tagetes spp*). Tesis profesional. UACH. Chapingo. México.
- Graham, R. D. 1979. Anomalous Water Relations in Copper – Deficient Wheat Plants. Aust. J. Plant Phisiol. 3: 229 – 236.
- Gross, J. 1991. Pigments in Vegetables. Chlorophylls and Carotenoids. Published by Van Nostrand Reinhold, N. Y. p. 75 - 110
- Guerrero, G. A. 1996. El Suelo, los Abonos y la Fertilización de los Cultivos. Ediciones Mundi – Prensa. México. p.43 -96
- Hadden, W. L., Watkins, R.H., Levy, L.W., Regalado, D. M. , Van Breemen,R.B. Schwartz, S.J. 1999. Carotenoid Composition of Marigold (*Tagetes erecta*) Flower Extract as Nutritional Supplement. Journal of Agricultural & Food Chemistry. V. 47 (10); 4189 – 4194.

- Henriques, F. S. 1989. Effects of Copper Deficiency on the Photosynthetic Apparatus of Sugar Beet. *J. Plant Physiol.* **135**: 453 - 458
- Hodgson, J.F., Lindsay, W. L., and Trierweiler, J.T. 1966. Micronutrient Cation Complexing in Soil Solution. II Complexing of Zinc and Copper in Displaced Solution from Calcareous Soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **30**: 723 - 726.
- Hoppe, P.H. and Wiesche, H. 1988. Pigmenting Efficacy of Marigold Products Examined in Poultry Production. In: *Feedstuffs. USA.* May 2. p 25 -28.
- INIA. 1983. El Cemapasúchitl. La Lechuga Despegable. CIAB. Campo Agrícola Experimental Bajío. México. p. 86.
- INEGI. 1997. Cultivos Anuales de México. VII Censo Agropecuario. México. p. 393 - 398
- INEGI. 1980. Carta Edafológica 1: 50 000, Amecameca E14B41.
- Jackson, M.L., 1970. Análisis Químico de Suelos. 2ª Ed. Editorial Omega. Barcelona. P. 662
- Jacques, D. J.; Gouin, F.R.; Konjoian, P.S. 1992. Nitrate Fertilization and Root Media Effecta on Growth and Shelf - Life of Honeycomb Marigiolds and Novette *Red impatiens*. *Journal of Plant nutrition* **15** (5): 569 - 578.
- Kaplan, L. 1960. Historical and Ethnobotanical Aspects of Domestication in *Tagetes*. *Economic Botany.* **14**: 200 - 202
- Krinsky, N.I. 1971. Function. In *Carotenoids*. O. Isler. Ed. Birkhäuser Verlag, Basel. p. 669 -716
- León, A.R. 1991. Nueva Edafología. 2ª. Ed. Fontamara, S.A. México. p. 175 - 230: 248.
- Little, T. M.; Kantor, J. H. And Robinson, B. A. Jr. 1940. Early Marigolds. *Journal of Heredity* **31**: 73 - 78
- Lové, A. 1988. Los Microelementos en la Agricultura. Ediciones Mundi. Prensa. Madrid. p. 137 - 154
- Martínez, M. 1959. Plantas Útiles de la Flora Mexicana. Ed. Botas. México.

- Martínez, M. 1979. Catálogo de Nombres Vulgares y Científicos de Plantas Mexicanas. Ed. Fondo de Cultura Económica, México.
- Martínez, Q. C. 1990. Producción de la Flor de Cempazúchitl en los Estados de Guanajuato, México, Michoacán, Morelia, Puebla y Querétaro. Tesis Licenciatura. UACH. Chapingo. México. p. 23 – 30; 53 – 58.
- Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. 2ª. Ed. Academic press. New York. p. 333 - 347
- Mathews – Roth, M.M. 1985. Carotenoids and Cancer Prevention – Experimental and Epidemiological Studies. Pure Appl. Chem. **57** (5): 717
- Morrison, R.S., Brooks, R.D., Reeves, R.D. Malaise, F., Horowitz, P. 1981. The Diverse Chemical Forms of Heavy – Metals in Tissue Extracts of Some Metallophytes from Sheba Province, Zaire. Phytochemistry. **20**, 455 - 458
- Municipios del Estado de México. 1988, Colección Enciclopédica de los Municipios de México. Estado de México. p. 117 –122
- Munsell. 1975. Soil Color Chart of Munsell Color. Company Inc. Maryland. USA.
- Peech, M. 1947. Methods of Soil Analysis for Soil Fertility Investigation. U.S. Dep. Agr. Sci. p.757
- Quackenbush, F.W. y S.L. Miller. 1972. Composition and Analysis of the Carotenoids in Marigold Petals. J. Ass. Off. Anal. Chem. **55**: 617 – 621.
- Ramírez, N. (1986). Manual de Aditivos y Suplementos para la Alimentación Animal. Ed. Ramirez, R y Pascual de Anda. México. p. 21 – 29.
- Robson, A. D., and Reuter, D. J. 1981. Diagnosis of Copper Deficiency and Toxicity. In: Copper in Soils and Plants. Academic Press, London. p. 287 – 312.
- Sandmann, G. and Böger, P. 1983. The Enzymatological Function of Heavy Metals and their Role en Electron Tranfer Processes of Plants. In: Encyclopedia of Plant Physiology. New Series: v. 15 A, p. 563 – 596.

- SARH. 1980. Agenda Técnica Agrícola de Guanajuato, Distrito de Temporal III Guanajuato; Experiencias Locales de Campo del Personal Técnico. SARH – DGPA. México.
- SEP. 1997. Suelos y Fertilización. Ed. Trillas. México. p.11 – 16; 47 - 54
- Shoemaker, J. 1978. Small Fruit Culture. The AVI Publising Co., Inc. Westport, Conn.
- Servicio Meteorológico Nacional. 1998. Datos Climatológicos de Chalco. Servicio Meteorológico Nacional. México.
- Suarez, P. A. 1987. Evaluación de Pigmentación por Medio de Reflectancia en dos líneas de Pollo de Engorda Comercial. XII Convención Anual ANECA. Ixtapa, Zihuatanejo. P. 59 - 63
- Tamhane, R. V., Motiramani, D.P., Bali, Y.P. 1978. Suelos: su Química y Fertilidad en Zonas Tropicales. Ed. Diana. México. p. 179 – 187; 309 – 328.
- Temple, N.J., and Basu, T.K. (1988). ¿Does Beta – Caroteno Prevent Cancer? A Critical Appraisal. Nutr. Res. 8, p. 685 - 701
- Tisdale, L. S. Nelson, L.W. 1982. Fertilidad de los Suelos y Fertilizantes. Ed. Montaner y Simón, S.A. Barcelona. P. 37 – 38; 634 - 646
- Tolman, D.A., Niemiera, R. X., Wright, R.D. (1990). Influence of Plant Age on Nutrient Absorption for Marigold Seedlings. HortScience. Alexandria, Va. : The American Society for Horticultural Science. Dec. V. 25: (12) 1612 – 1613.
- Towner, W. J. (1962), Cytogenetic of *Tagetes jalisciensis* x *Tagetes erecta*. Amar. Jour. Of Bot. 49: 1064 - 1067
- Trostle, N. R. (1968). The Etnobotany of *Tagetes*. Economic Botany. 22 (4): 317 – 325.
- Vázquez, A. A., Bautista, A. N., 1993. Guía para Interpretar el Análisis Químico de Suelo y Agua. Chapingo, México.

- Vázquez G. L. M., Normam N.H.T., 1985. Crónicas de la Evolución de la Floricultura en México. Universidad Autónoma del Estado de México. p. 28
- Vázquez, V. G. 1994. Producción de Cempazúchitl (*Tagetes erecta* L) Sólo y Asociado con Frijol (*Phaseolus vulgaris*) en Diferentes Fechas de Siembra, en Chapingo, México. Tesis Licenciatura, UACH. Chapingo, México. p. 8 – 15
- Vera, B. J., 1987. Efecto comparativo de Diferentes pigmentos Comerciales sobre el Pollo de Engorda. XII Convención Anual ANECA. Ixtapa, Zihuatanejo. P. 76 – 79
- Walkley, A. 1947. Critical Examination for Determining Organic Carbon in Soils. *Soil Science* **63**: 251 - 264
- West, O., Merrigan, I., Taylor, I., Collins, G. 1981. Fertilizer (N, P, K), Salinity and Growth of Bedding Plants. *Australian Horticulture* **79** (6): 11 - 12
- Williams, D.W. 1989. La Pigmentación en las Aves. *Avicultura Profesional*. 7(2): 60 -68
- Wootton, R.D., Gouin, F.R., and Stark, F.C. 1981. Composted, Digested Sludge as a medium for Growing Flowering Annuals. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* **106** (1): 46 –49.
- Zeven, H. C. and Zhukovsky, P. M. 1975. Dictionary of Cultivated Plant and the Center of Diversity. Wageningen Center for Agricultural. Publishing and Documentation. N.Y. p. 224.
- Zonta, F., Stancher, B., and Pertoldi, M.G. 1987. Simultaneous High – Performance liquid Chromatographic Analysis of Free Carotenoids and Carotenoid Esters. *Journal of Chromatography*, 403: 207 – 215.

ANEXO A

Extracción de Carotenoides y su Determinación Cuantitativa.

Técnica para la Extracción de Carotenoides (Gayle, *et al.* 1986):

1. Pesar de 2 – 3 g de pétalos frescos de flor de cempasúchil.
2. Moler los pétalos con 20 mL de alcohol isopropílico.
3. Filtrar al vacío con embudo Buckner.
4. El residuo se trata con 40 mL del solvente extractante (80 acetona + 20 hexano) durante 1 a 2 minutos y se filtra al vacío.
5. El residuo resultante se extrae nuevamente con otros 40 mL del solvente extractor y se filtra nuevamente.
6. El residuo se lava con 20 mL del solvente extractante.
7. El filtrado 120 mL se transfiere a un embudo de separación y se adiciona un volumen igual de agua destilada.
8. Se mezclan las fases con dos o tres movimientos y se deja reposar por 5 minutos. La capa superior más o menos de unos 15 mL contiene los carotenoides, la cual se utilizó para el análisis cuantitativo. El extracto de carotenoides se guardó en un frasco ámbar.

La determinación de la concentración de carotenoides dependió del volumen y del peso seco de la muestra. Puesto que los extractos no tuvieron el mismo volumen, se aforaron a 12 mL con hexano para tener un mismo volumen, como la coloración del carotenoide obtenido fue muy intensa, se realizaron las siguientes diluciones según la intensidad:

- a. Se tomó una alícuota de 0.1 mL del extracto y se aforó a 10 mL con hexano, lo que equivale a un volumen total de 1200 mL, de acuerdo con la dilución.
- b. Se tomó una alícuota de 0.1 mL del extracto, se aforó a 10 mL con hexano y de aquí se tomaron 3 mL y se aforó a 10 mL con hexano, que equivale a un volumen total de 4000 mL.

La valoración espectrofotométrica de las muestras se realizó en un espectrofotómetro UV 160 U visible Shimadzu, en el Instituto de Química de la UNAM.

De la primera o segunda dilución se tomó una muestra, que se colocó en la celda del espectrofotómetro para su lectura, previamente el aparato se calibró con hexano como blanco.