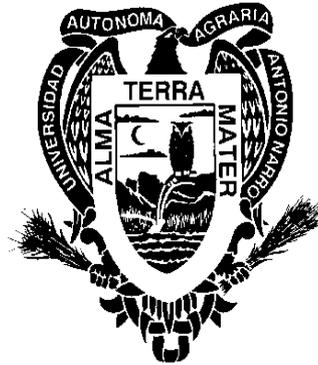


UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA



**PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y DE ACEITES ESENCIALES EN PLANTULAS
DE ORÉGANO MEXICANO *Lippia graveolens* H.B.K. POR EFECTO DE
INDUCCIÓN ESTRÉS CON SALES (NaCl) Y METALES (Cu) y (Fe)**

POR:

JESUS RODOLFO FIGUEROA FUENTES

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

SALTILLO, COAHUILA, MEXICO

DICIEMBRE DE 2010

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE BIOMASA, VARIABLES FISIOLÓGICAS Y DENSIDAD ESTOMÁTICA EN OREGANO MEXICANO (Lippia Graveolens) POR EFECTO DE INDUCCIÓN DE ESTRÉS POR SALINIDAD.

POR:

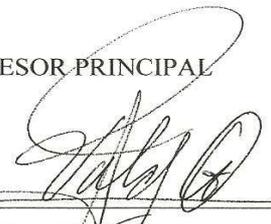
JESUS RODOLFO FIGUEROA FUENTES

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

APROBADA:

ASESOR PRINCIPAL


M.C. FRANCISCO JAVIER
VALDÉS OVERVIDES

COORDIANADOR DE LA DIVISIÓN
DE AGRONOMIA.


DR. MARIO ERNESTO VÁZQUEZ
BADILLO.



SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO

DICIEMBRE DE 2010

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

**PRODUCCIÓN DE BIOMASA Y ACEITES ESENCIALES EN PLANTULAS DE
ORÉGANO MEXICANO *Lippia graveolens* H.B.K. POR EFECTO DE
INDUCCIÓN ESTRÉS CON SALES (NaCl) Y METALES (Cu) y (Fe)**

POR:

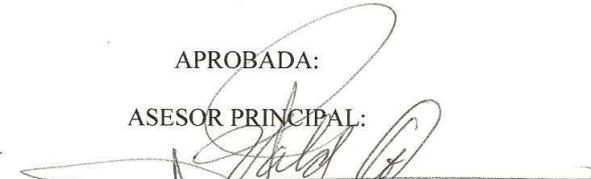
JESUS RODOLFO FIGUEROA FUENTES

TESIS PROFESIONAL

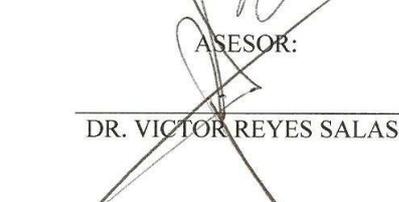
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA.

APROBADA:

ASESOR PRINCIPAL:


M.C. FRANCISCO JAVIER VALDÉS OYERVIDES.

ASESOR:


DR. VICTOR REYES SALAS.

ASESOR:


ING. GERARDO RODRIGUEZ GALINDO

SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.

DICIEMBRE DE 2010

DEDICATORIAS

A MIS PADRES

Por el apoyo incondicional durante mi formación profesional, gracias por su paciencia y comprensión en los momentos buenos y malos que se me presentaron durante mis estudios, muchas gracias.

A MI NOVIA

Por su gran apoyo y paciencia durante mi educación e insistencia, para elaborar este proyecto tan importante en mi desarrollo profesional, muchas gracias.

A MIS ABUELOS

Les dedico este título a ustedes cuatro ya que gracias a sus enseñanzas y a sus raíces yo decidí seguir este camino que ustedes me enseñaron a quererlo y a valorarlo muchas gracias lo que ustedes me enseñaron no se paga con nada

AGRADECIMIENTOS

Principalmente le doy las gracias a Dios nuestro señor por la oportunidad que me da de estar viviendo este momento tan importante de mi vida y tener la oportunidad de agradecer a las personas que me apoyaron a lo largo de mi carrera.

AL M.C. FRANCISCO JAVIER VALDÉS OYERVIDES. Por la oportunidad que me brindo para desarrollar este trabajo, sin dejar pasar los momentos en los que su apoyo fue fundamental para seguir con mis estudios.

AL DR. VICTOR MANUEL REYES SALAS. Por su enseñanza como maestro y por su participación en este trabajo.

AL DR. REYNALDO ALONSO VELASCO. Por su gran apoyo en los momentos más importantes que pase como alumno de la universidad.

AL ING. GERARDO RODRIGUEZ GALINDO. Por su participación y ayuda para realizar este trabajo.

AL ING. GUILLERMO GALBAN. Gracias por creer en mí ya que fue fundamental para poder culminar mis estudios con éxito.

A MI FAMILIA

Les agradezco a mis padres su ejemplo y sacrificio ya que sin esto no hubiese sido posible lograr mi desarrollo profesional.

A MI Hermana Lorena y a su familia por sus llamadas de apoyo.

A MI Hermana Analy y a su familia por los buenos consejos en todo momento.

A MI Novia ya que sin su empuje constante no hubiera sido posible culminar este trabajo, muchas gracias.

INDICE

RESUMEN.....	i
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	4
HIPOTESIS.....	4
REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
Generalidades del cultivo.....	5
Clasificación taxonómica.....	6
Descripción botánica.....	7
Requerimientos climáticos y edáficos.....	7
Composición química del Orégano.....	8
Concepto de estrés.....	9
Factores de estrés.....	9
Estrés inducido en plantas.....	9
Estrés de las plantas por salinidad.....	10
MATERIALES Y METODOS.....	11
Localización geográfica del experimento.....	11
Material vegetativo.....	12
Material de campo.....	12
Material de laboratorio.....	13
Establecimiento del experimento.....	13
Variables evaluadas.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	16
CONCLUSIONES.....	20
RECOMENDACIONES.....	20
LITERATURA CITADA.....	21
ANEXOS.....	23

INDICE DE CUADROS

Tabla 1. Tratamientos y número de repeticiones evaluados por efecto de inducción de estrés con sales y minerales en exceso en (*Lippia graveólens*. H.B.K). Letras diferentes denotan diferencia significativa.

Tabla 2. Desarrollo vegetativo por efecto de inducción de estrés salino y minerales en orégano Mexicano (*Lippia graveólens*. H.B.K). Letras diferentes denotan diferencia significativa.

3. Biosíntesis de clorofila y absorción de CO₂ por efecto de inducción de estrés salino y minerales en orégano Mexicano (*Lippia graveólens*. H.B.K). Letras diferentes denotan diferencia significativa.

Tabla 4. Biosíntesis de aceite esenciales por efecto de inducción de estrés salino y minerales en orégano Mexicano (*Lippia graveolens*. H.B.K).

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Rendimiento de peso verde y seco de Orégano Mexicano por efecto de inducción de estrés salino y minerales (*Lippia graveolens*. H.B.K).

RESUMEN

El estrés inducido tiene como factor común un efecto en el rendimiento de biomasa, metabolismo y fisiología de las plantas. Para ello se probaron en 96 plántulas los siguientes tipos y niveles de estrés: A) testigos, sin y con solución nutritiva, salinidad B), (NaCl) 85 y 170 mM, C) Cobre (Cu) 1.30 y 2.60 mM, y D) Hierro (Fe) 0.90, 1.80 Mm Biomasa, clorofila, asimilación de CO₂ síntesis de aceites esenciales fueron evaluadas. Los resultados de biomasa muestran que los tratamientos a base de Cu y Fe fueron significativamente superiores a los de NaCl y testigos respectivamente. La clorofila total fue mayor en los tratamientos con Cu y Fe que los tratamientos a base de NaCl, y similares a testigos. En asimilación de CO₂ el estrés salino mostró una baja eficiencia. La biosíntesis de aceites esenciales presentó resultados contrastantes, los tratamientos sometidos a estrés salino produjeron más que los tratamientos testigos y de Cu y similar a los de Fe. Aparentemente el estrés salino no afectó la biosíntesis de aceites, lo cual podría representar un mecanismo de defensa del metabolismo intermedio en la planta.

Palabras clave: Orégano, estrés, aceites esenciales

INTRODUCCIÓN.

Las plantas aromáticas y medicinales constituyen una alternativa de salud para la población mundial en especial para los países más pobres que no tienen acceso a los medicamentos alópatas, muchas de estas plantas se encuentran en uso desde hace miles de años pero por algunas razones son aún desconocidas y en otras no se ha encontrado explicación a sus propiedades curativas.

La existencia de las plantas medicinales no constituye una casualidad, sino que fueron puestas en la creación para el bien del hombre y que estos medios tan sencillos y naturales fueron usados con fe por nuestros antepasados desde hace miles de años. A pesar de que en México se tiene una gran cantidad de plantas que se utilizan como medicinales (cerca de 5.000), no en todas las estaciones del año las podemos encontrar. Frecuentemente la situación de escasez y no existencia de las plantas en su área de distribución natural o en lugares de venta; por tal motivo es importante tener disponible plantas medicinales, en cualquier época del año, en cualquier lugar y al alcance de todas las personas, sobre todo las personas de bajos recursos económicos, de ahí la importancia de la introducción a cultivos de plantas medicinales.

La investigación agrícola en México ha dirigido su enfoque al desarrollo agrícola de especies cultivadas, como son los básicos y hortalizas; al aumento de rendimiento de producción, al obtener cosechas adecuadas, a hacer eficiente el uso de insumos y lograr una adecuada combinación entre cultivos hortícolas e inocuidad; y se ha dejado de lado el estudio de especies que no han sido domesticadas como es el caso del Orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*) utilizado por su biomasa como materia prima sin transformación y por lo que no se le ha dado un valor agregado en el mercado, y es aquí donde el productor recibe menor parte de los beneficios económicos.

El orégano es una planta considerada como aromática y por algunas razones reconocidas como de uso medicinal, rica en aceites esencial y con amplio potencial de aprovechamiento en el campo de la alimentación y de la farmacología, el aprovechamiento de este, es una gran oportunidad para lograr mayor interés en el desarrollo de programas de investigación.

El nombre "orégano" comprende más de dos docenas de diferentes especies de plantas, con flores y hojas que presentan un olor característico a "especioso". Las hojas secas del *Origanum vulgare*, nativo de Europa y del *Lippia graveolens*, planta nativa de México son de uso culinario común. El género *Origanum* pertenece a la familia Lamiaceae, mientras que el *Lippia graveolens*, pertenece a la familia Verbenacea. La hoja del orégano se usa no solo como condimento de alimentos sino también en la elaboración de cosméticos, fármacos y licores; motivos que lo han convertido en un producto de exportación. Adicionalmente, la Organización Mundial de la Salud estima que cerca del 80% de la población en el mundo usa extractos vegetales o sus compuestos activos, por ejemplo los terpenoides, para sus cuidados primarios de salud (Arcila, 2005).

Algunas propiedades de los extractos del orégano han sido estudiadas debido al creciente interés por sustituir los aditivos sintéticos en los alimentos. El orégano tiene una buena capacidad antioxidante y antimicrobiana contra microorganismos patógenos como *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, entre otros. Estas características son muy importantes para la industria alimentaria ya que pueden favorecer la inocuidad y estabilidad de los alimentos, así como también protegerlos contra alteraciones lipídicas.

Existen además algunos informes sobre el efecto antimutagénico y anticarcinogénico del orégano sugiriendo que representan una alternativa potencial para el tratamiento y/o prevención de trastornos crónicos como el cáncer.

México es uno de los países con mayor producción y exportación de orégano en el mundo, superado sólo por Turquía. Debido a la composición química de sus aceites esenciales el orégano mexicano es considerado como el de más alta calidad, lo que le ha permitido un mayor despegue a su comercialización en los últimos años.

Se estima que en el 2002, las exportaciones de orégano seco no manufacturado con destino a los Estados Unidos fueron de 6'648,313 kilogramos; México participó con una cantidad de 2'143,377, sólo por debajo de Turquía.

Los estados de Chihuahua, Durango, Coahuila y Tamaulipas son los que comercializan el 50% o más del total del país. Donde Chihuahua participa con el 21%. Se recolectan alrededor de 4000 toneladas y este volumen en su mayoría es dirigido a Estados Unidos, en 1996, en el Norte del estado de Jalisco, el precio establecido por los acaparadores fue de alrededor de \$6.00 por kilogramo, mientras que en los mercados locales llegó a cotizarse hasta en \$25.00 por Kg. Una vez envasado y con una marca comercial llega a valer hasta \$250.00 por Kg.

OBJETIVO.

Evaluar los efectos que presenta la inducción de estrés através de dosis de NaCl Cu y Fe comparados con un tratamiento de solución nutritiva, en la producción de biomasa, área foliar, aceite esencial en plántulas de n Orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*).

HIPOTESIS.

La aplicación de estrés por salinidad (NaCl) y minerales Cu y Fe tendrá influencia sobre la productividad en plántulas de Orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*).

REVISION DE LITERATURA.

Generalidades del cultivo.

Orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*).

El Orégano es una planta aromática, en las zonas más cálidas el aroma es de mayor intensidad, el sabor más picante y el perfume más persistente. Los aceites esenciales que se obtienen de él, se emplean en la industria farmacéutica, de licores y cosmético, además de la industria de enlatados. Su uso práctico en la cocina es el de aromatizante por excelencia de los platillos Mexicanos. También se consume ampliamente, por sus propiedades tónicas, digestivas, estomacales y antiasmáticas.

El nombre orégano proviene de la palabra griega “origanum” y se deriva de dos raíces “oros” montaña y “ganos” alegría, en alusión a la apariencia festiva que le da a las laderas de las montañas donde crece (Oliver, 1997).

Según Martínez (2005), el orégano es originario de Europa y de Asia occidental pero se cultiva en todo el mundo, crece en pastizales secos y al lado de los bosques, sobre todo en las colinas y montañas, hasta 2000 msnm, sin embargo, se le halla en mayor abundancia entre los 1400 y 1800 msnm.

El Orégano pertenece a la categoría de productos no maderables, es una planta que se localiza en zonas áridas y semiáridas del país. en un hábitat de vegetación caracterizado por matorral desértico chihuahuense, matorral micrófilo, matorral rosetófilo, izotal matorrales halófilo y gisófilo, matorral tamaulipeco, matorral submontano, bosque de montaña, bosque de encino, bosque de pino, bosque de oyamel (CONABIO, 2005).

El orégano se asocia con comunidades donde destacan especies como: Agave lechuguilla, Larrea tridentata, Flourenzia cernua, Acacia rigidula, Opuntia ratrera Patherum incanum, Leucphy frutences, Agave sp (Berlanga, et al, 2005).

El principal producto derivado de las hojas de Orégano es el aceite esencial, el cual tiene usos en las industrias licoreras, refresqueras, farmacéuticas y de cosmetología. Al igual que las hojas secas de Orégano son exportadas a EUA, Italia y Japón. (CONAFOR, 2007)

El orégano comprende varias especies de plantas que son utilizadas con fines culinarios, siendo las más comunes el *Origanum vulgare*, nativo de Europa, y el *Lippia graveolens*, originario de México, (Pierce, 1999) Todas ellas silvestres, se distribuyen en casi todos los estados de la Republica, pero fundamentalmente en las regiones áridas y semiáridas, ocupando una superficie aproximada de 35.5 millones de Has (Maldonado, 1998).

Silva (2004) aporta referencias de la distribución silvestre del orégano mexicano en Guerrero, San Luis Potosí, Puebla, Hidalgo, Zacatecas, Chihuahua, Oaxaca, Coahuila, Durango, Nuevo León, Sonora, México Tamaulipas, Puebla y Yucatán.

Dentro de la clasificación del orégano se han identificado 11 especies de oréganos pertenecientes a 4 familias y 9 géneros. Tan solo en México existen 6 especies de la familia Labiatae, 3 especies de la familia Compositae, 1 especie de la familia Leguminoseae (Quintero, 1991).

CLASIFICACION TAXONOMICA.

REINO: Vegetal

SUBDIVISION: Angiospermae

CLASE: Dicotiledóneas

ORDEN: Tubiflorae

FAMILIA: Verbenáceas

GENERO: *Lippia*,

ESPECIE: *Graveolens* sin. *Berlandieri*

DESCRIPCION BOTANICA

Toda la planta desprende un particular aroma. Su sabor, por el contrario, es amargo; en regiones más cálidas el aroma es de mayor intensidad, el sabor más picante y el aroma más persistente. (INFOAGRO 2004). El orégano comercial son arbustos que alcanzan hasta 2.5 m de alto y desarrollan en promedio 1.20 m de follaje.

TALLOS. Ramificados de consistencia leñosa, con gran cantidad de hojas, que constituyen la parte aprovechable.

HOJAS. De 1 a 3cm de largo y 0.5 a 1.5 cm. de ancho son opuestas, alternas y de forma ovalada con bordes dentados y tienen una textura rugosa y con ligeras vellosidades.

FLORES. Son pequeñas, de color blanco y forman inflorescencias en racimos (Huerta, 2005).

FRUTO. Es una cápsula pubescente que tiene 0.47 mm guarda 4 semillas de color café con un ancho de 0.8 mm y con un largo de 1.7 mm, de forma oval, en un gramo hay de 20000 a 30000 semillas.

RAIZ. El sistema radicular es modificado, con raíces laterales entre los 30 y los 80cm (Maldonado, 1998).

REQUERIMIENTOS CLIMATICOS Y EDAFICOS.

Esta región se caracteriza por:

Clima: muy seco, que comprende extensas llanuras desérticas de la provincia de sierras, llanuras del norte y algunas otras; el centro y sur; en las que se asocian climas desde los muy secos y secos semicálidos de sus bolsones, hasta los semisecos templados y los templados subhúmedos de las cumbres serranas, con predominancia de climas secos,

y que coincide con lluvias de verano, concentradas en los meses de junio a septiembre, precipitación media anual que fluctúa entre 400 y 800 mm y temperatura media anual de 25° C.

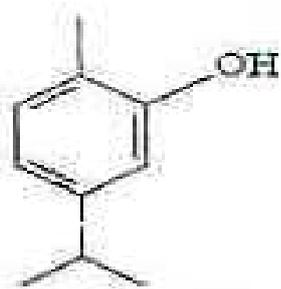
Las altitudes varían entre 700 y 2900 msnm, existiendo condiciones de fisiografía que varía desde 7 a 100% de pendiente.

Los diversos sistemas topográficos son: Superficies disectadas de gran meseta, asociadas a cañadas, lomeríos, que se encuentran como pequeños grupos aislados en los pisos de valle generalmente amplios; los mayores rendimientos en aceite esencial, tanto cuantitativamente como cualitativamente, se obtienen en zonas bien soleadas y cuya altitud no sea excesiva.

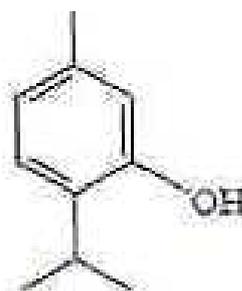
Suelos: El cultivo del orégano tiene éxito en todos los tipos de terreno ricos en materia orgánica, sueltos, silíceos arcillosos, francos, humíferos, calcáreos, arcilloso - arenosos e incluso en lugares áridos. Los mejores resultados, tanto cualitativos como cuantitativos, se obtienen en las zonas cálidas.

COMPOSICION QUIMICA DEL OREGANO MEXICANO (Lippia Graveolens).

Los compuestos más comunes en el orégano son el ácido carioptosídico, naringenina, pinocembrina, o -felandreno, carvacrol, 1,8-cineol, o -cimeno, metil timol, y timol, a continuación se muestran las estructuras del carvacrol y timol.



Carvacrol



Timol

CONCEPTO DE ESTRÉS

Se ha definido el estrés como una desviación significativa de las condiciones óptimas para la vida. Como respuesta a dicha desviación se inducen cambios en todos los niveles funcionales del organismo, pudiendo ser cambios reversibles o permanentes. Partiendo de lo anterior, la definición de estrés puede definirse como: “el conjunto de respuestas bioquímicas o fisiológicas que definen un estado particular del organismo diferente al observado bajo un rango de condiciones óptimas” (Benavides, 2002).

FACTORES DE ESTRÉS

Los factores adversos son los que impiden su crecimiento y desarrollo de los organismos vivos, como son las temperaturas extremas, la salinidad, el exceso y la falta de luz, el déficit hídrico, la contaminación por metales pesados y una enorme variedad de infecciones por patógenos como virus, bacterias, hongos o herbívoros. Esto desencadena procesos fisiológicos donde destaca el metabolismo intermedio de los vegetales y por consecuencia la biosíntesis de metabolitos (Benavides, 2002).

Los metabolitos secundarios o principios activos de los vegetales se pueden presentar en toda la planta. Estos principios pueden variar a lo largo en una misma especie y en una misma planta de acuerdo a muchos factores tales como: época del año, características del suelo, etc. La composición y la cantidad de los metabolitos secundarios de estas plantas dependen de factores climáticos, la altitud, la época de cosecha, y su estado de crecimiento. Por lo tanto el estudio de dichos factores y su efecto en el cultivo es importante para su mejor aprovechamiento y explotación (Kokkini et al, 1997), (Martínez, 1993).

EL ESTRÉS INDUCIDO EN PLANTAS

La manifestación fisiológica del estrés engloba el conjunto de respuestas moleculares que son inducidas o modificadas por uno o más factores ambientales. Una respuesta simple en la tasa de absorción de CO₂ o en el nivel de ciertos reguladores, es el resumen evidente de una gran cantidad de cambios en la actividad bioquímica y la expresión de genes. (Ramírez, 2001).

Los estados de estrés inducido por varios factores ambientales como la temperatura, sequía y salinidad tienen como factor común su efecto en el estado hídrico de la planta, el entendimiento de los mecanismos bioquímicos y moleculares por medio de los cuales las plantas sufren el estrés bióticos y abióticos son necesarios para lograr un incremento en la tolerancia de los cultivos. Investigando las plantas bajo estrés podemos aprender sobre la plasticidad y de los límites de las vías metabólicas, así como las formas de manejo que pueda inducir la óptima síntesis de metabolitos secundarios (Benavides, 2002).

ESTRÉS DE LAS PLANTAS POR SALINIDAD.

Desde el punto de vista agronómico la salinidad se expresa en términos de la conductividad eléctrica (CE), normalmente se determina en un extracto de pasta saturada suelo: agua, la CE y el potencial osmótico se relacionan en forma lineal ($\text{mS cm}^{-1} = \text{Mpa}$). La producción de las plantas sensibles a la salinidad si la CE del suelo se rebasa a los 4 Ms cm^{-1} ($4000: \text{S cm}^{-1}$) y por esta razón se recomienda que el agua de riego no rebase 2 Ms cm^{-1} , como referencia el agua de mar es de 44 Ms cm^{-1} (Epstein, 1983)

Desde un punto de vista fisiológico la salinidad se expresa como concentración de sales en unidades milimolares (mM) y se utiliza como referencia el efecto de una concentración particular sobre el proceso fisiológico. Como ejemplo una solución de 200 mM de NaCl inhibe totalmente la germinación de semillas de *Arabidopsis thaliana*. El problema central de las plantas sometidas a altas concentraciones de sal es la retención osmótica de agua y efectos iónicos de toxicidad específicos sobre proteínas del citoplasma y las membranas, el agua es retenida osmoticamente en las soluciones salinas de tal forma que conforme aumenta la concentración de sal el agua se encuentra cada vez menos disponible para la planta. (Benavides, 2002)

A pesar de que en la mayoría de los casos de especies cultivadas la salinidad ejerce efectos negativos, existen algunos reportes que indican efectos positivos.

MATERIALES Y METODOS.

El diseño experimental fue completamente al azar con diferente número de repeticiones. Se utilizaron macetas plásticas de color negro con una capacidad de 1.9 litros y 17.0 cm de diámetro, el sustrato usado fue mezcla de Peatmoss y Perlita. Durante el desarrollo del experimento en el invernadero se mantuvo una temperatura promedio de 26° C y humedad relativa entre 60 Y 70 %. Previamente se prepararon soluciones reactivas de NaCl, CuSO₄, FeSO₄ y solución nutritiva Douglas modificada, todas mezcladas con agua corriente. La aplicación de las soluciones se realizó semanalmente en forma de aspersión para los metales y al sustrato para sales y solución nutritiva. La duración del experimento fue de 60 días. Las variables que se evaluaron fueron. 1.- Producción de biomasa (Área foliar, peso verde y seco, numero de tallos y hojas), 2.- Parámetros fisiológicos (Clorofila, eficiencia fotosintética como absorción de CO₂), 3.- biosíntesis de aceites esenciales.

LOCALIZACION GEOGRAFICA DEL EXPERIMENTO.

El presente trabajo se llevo a cabo en el invernadero 1 de Ornamentales del departamento de Horticultura, campus Saltillo, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con sede en la ciudad de Saltillo, Coahuila, ubicada en las coordenadas geográficas 25° 27' latitud norte, 101° 02' longitud oeste y a una altitud de 1600 msnm.

MATERIAL VEGETATIVO.

Se utilizaron 80 plantulas de Orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*) bajo condiciones de invernadero.

MATERIAL DE CAMPO.

Cloruro de sodio (NaCl).

Solucion nutritive Hogglan

Vaso de precipitado.

1 cubeta.

Cámara fotográfica.

Tijera para podar.

Regla (30cm).

Marcadores.

Bolsas de papel destreza.

Pegamento para PVC.

Cinta adhesiva SCOTCH.

MATERIAL DE LABORATORIO.

1 Medidor de área foliar portátil, marca LI-cor. Modelo LI-3000A.

1 estufa de aire caliente MAPSA modelo HDP334.

1 Balanza analítica digital OHAUS modelo TS120, expresada en gramos.

1 lector de fotosíntesis LI6400 marca LICOR.INC.

1 Espectrofotómetro 20 marca Espectromic 20.

1 Molino THOMSOM modelo 3383-L10.

1 microscopio.

12 portaobjetos.

ESTABLECIMIENTO DEL EXPERIMENTO.

El área ocupada para dicho experimento fue de 20 m². La ubicación de los tratamientos se describe a continuación:

Cuadro 1. Tratamientos, dosis y repeticiones del experimento en Orégano Mexicano (Lippia Graveolens)

Tabla 1. Tratamientos y número de repeticiones evaluados por efecto de inducción de estrés con sales y minerales en exeso en (Lippia graveólens. H.B.K). Letras diferentes denotan diferencia significativa.

TRATA.	CONCENTRACION	REP.
T1	Agua corriente absoluto	10
T2	Solución nutritiva	10
T3	NaCl.- 85 mM,	10
T4	NaCl170 mM	10
T5	Cobre (Cu) 1.30, mM	10
T6	Cobre (Cu) 2.60 mM.,	10
T7	(Fe) 0.90 mM	10
T8	(Fe) 1.80.Mm	10

La presente investigación se inició con la aplicación de los tratamientos, sobre las plantulas de Orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*), la aplicación fu relizada cada semanahasta complatar 12 semanas. Para el mismo experimento se utilizó el diseño completamente al zar con diferente número de repeticiones por tratamiento para realizar el análisis de varianza. También se realizaron comparaciones de medias por la prueba de Tukey al 0.05% de confiabilidad.

VARIABLES EVALUADAS.

BIOMASA. Peso fresco y seco de la planta.

Para dicha variable se tomaron 3 plantas al azar de cada tratamiento y se tomo el peso fresco de la parte aérea, posteriormente las muestras fueron secadas en 1 estufa de aire caliente MAPSA modelo HDP334., y se procedió a pesar las muestras en 1 Balanza analítica digital OHAUS modelo TS120, expresada en gramos.

CLOROFILA.

Se tomaron 3 plantas al azar por tratamiento, de ellas se pesaron 2.5grs de cada una, finamente picada, se colocaron en un vaso de precipitado de 50ml. Se agrego acetona al 85% hasta cubrir la muestra, se tapo con papel aluminio y se dejo reposar por 24 horas en el refrigerador.

Posteriormente fueron colocadas en un mortero y fueron trituradas, se pasó el líquido obtenido a un matraz de Aforación de 100 ml, filtrados en un embudo y a través de una gasa. Al final se aforo con acetona al 85%.

Se coloco una porción de la muestra aforada en una celdilla para espectrofotómetro y se leyó la absorbancia a 642.5nm y 660nm, utilizando como blanco acetona al 85%.

Se calculo el contenido de clorofila total, mediante la siguiente formula.

$$ClorofilaTotal(mg / g) = \frac{(7.122A_{660}) + (16.8A_{642.5})}{10 * P}$$

Donde:

A= Absorbancia.

Sub. Índices (642.5 y 660)= Longitud de onda.

P= Peso de la muestra.

FOTOSINTESIS.

Se realizó en 2 ocasiones, durante la etapa de desarrollo, se eligieron 3 plantas al azar de cada tratamiento, dicha prueba se llevo a cabo en días soleados que no presentaran nubosidad, se midió la asimilación de CO₂ en las hojas mas jóvenes de algunas ramas que se hallaban orientadas al Oriente, entre las 10:00 y 12:00 horas del día. Dicha variable fue tomada con un equipo especial para lectura de fotosíntesis LI6400.

AREA FOLIAR.

Para esta variable se tomaron 3 plantas por cada tratamiento, las plantas fueron defoliadas manualmente, las hojas fueron colocadas en un acetato para posteriormente ser pasadas por el escáner del medidor de área foliar portátil, que midió el largo y ancho de cada hoja, a una escala en cm².

Cabe destacar que al realizar esta prueba también se realizó el conteo del número de hojas por planta y la longitud del tallo de cada una de ellas, para así reforzar los datos obtenidos anteriormente.

ACEITE ESENCIAL

Extracción de aceite esencial. En la extracción de aceite esencial de (*Lippia graveolens*) y el análisis cromatográfico, se hizo el siguiendo la Norma AOAC,1990. En la extracción se utilizó la técnica de destilación por arrastre de vapor, 50g de muestra y 75mL de agua destilada en un matraz de fondo plano, se calienta a temperatura constante por un lapso de 2 horas, posteriormente se obtuvo la lectura de la fase orgánica recolectada en la trampa de humedad o clavenger, que corresponde a los milímetros de aceite esencial por peso de la muestra que se emplea. El arrastre se separó de la fase acuosa y se recolectó en un tubo eppendorf, manteniéndola en refrigeración para su conservación

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La producción de biomasa (Grafico 1) muestra diferencias significativas, observándose que los tratamientos estresantes de minerales a base de Cu y Fe tienen un mayor rendimiento y superan ampliamente a los tratamientos con estrés salino, y similares estadísticamente a los tratamientos testigos, cabe destacar que en las plantas sujetas a tratamientos a base de NaCl mostraron poca tolerancia a reflejándose en poco desarrollo vegetativo. Los tratamientos a base de metales, no mostraron el efecto estresante esperado.

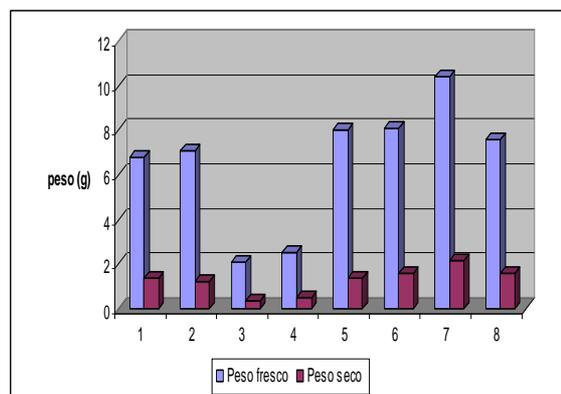


figura 1. Rendimiento de peso verde y seco de Orégano Mexicano por efecto de inducción de estrés salino y minerales (*Lippia graveolens*. H.B.K).

Las variables vegetativas mantienen un comportamiento similar. Los tratamientos bajo estrés con NaCl presentan déficit de producción de follaje de dos a cuatro veces con relación a los testigos y minerales respectivamente (Tabla 2). Las dosis moderadas de Cu, y Fe que corresponden a los tratamientos 5 y 7 respectivamente muestran una mayor cantidad de tallos y hojas resultando en una mayor área foliar. Estos resultados son similares a los reportados por (da Silva, de Araujo y de Melo, 2008) que observaron decremento en el desarrollo vegetativo, después de exponer las plantas por encima de 50 mM de NaCl. Tabla 2. Desarrollo vegetativo por efecto de inducción de estrés salino y minerales en orégano Mexicano (*Lippia graveolens*. H.B.K). Letras diferentes denotan diferencia significativa

Tratamientos	No de tallos	No de hojas	Área foliar
1.- Agua corriente	59.0 bc	85.0 bc	190.0 bc
2.- Douglas modificada	78.0 abc	98.0 bc	234.0 b
3.- 85.5 mM NaCl	29.0 c	57.0 cd	67.0 cd
4.- 171 mM NaCl	29.0 c	45.0 d	36.0 d
5.- 85.5 mM Cu	77abc	77.0 ab	277.0 ab
6.- 85.5 mM Fe	77abc	77.0 ab	277.0 ab
7.- 85.5 mM Cu + 85.5 mM Fe	77abc	77.0 ab	277.0 ab
8.- 85.5 mM Cu + 171 mM Fe	77abc	77.0 ab	277.0 ab

5.- 1.30 mM CuSO ₄	73.0 b	113.0 a	226.0 b
6.- 2.60 mM CuSO ₄	119.0a	146.0 a	373.0 a
7.- 0.90 mM FeSO ₄			
8.- 1.80 mM FeSO ₄	76.0 b	80.0 ab	309.0ab

Letras diferentes denotan diferencia significativa

Con relación a las variables fisiológicas. Clorofila total muestra diferencias significativas entre tratamientos y se observa que las plántulas bajo esteres inducido con NaCl mostraron baja biosíntesis de clorofila. Los tratamientos base de Cu y Fe mostró mayor biosíntesis de clorofila lo que demuestra que el propósito de inducir estrés por este medio no tuvo el efecto esperado. (Tabla 3). Con relación a la absorción de CO₂, como un indicador de eficiencia fotosintética, los resultados muestran similar eficiencia fotosintética a excepción del tratamiento 4 con inducción de alta salinidad, el cual muestra la más baja eficiencia, contrastando con el tratamiento 6 con inducción moderada de estrés por Cu que presento la mayor eficiencia de absorción de CO

Tabla 3. Biosíntesis de clorofila y absorción de CO₂ por efecto de inducción de estrés salino y minerales en orégano Mexicano (*Lippia graveólens*. H.B.K). Letras diferentes denotan diferencia significativa.

Tratamientos	Clorofila (mg/g)	μmolCO ₂ .m ² .s ⁻¹
1.- Agua corriente.	0.94 a	5.8
2.- Douglas modificada	1.11 a	4.1
3.- 85.5 mM NaCl	0.40 b	4.7
4.- 171 mM NaCl	0.21 b	1.9
5.- 1.30 mM de CuSO ₄	1.30 a	5.5
6.- 2.60 mM CuSO ₄	1.06 a	7.2
7.- 0.90 mM FeSO ₄	1.15 a	5.7
8.- 1.80 mM FeSO ₄	1.19 a	3.7

Letras diferentes denotan diferencia significativa

Los resultados de biosíntesis de aceites esenciales, no muestran la misma tendencia que las variables de biomasa en virtud de que las condiciones de estrés inducido por salinidad, presentaron un rendimiento relativo igual y/o mayor al resto de los tratamientos tal como se señala en el (Tabla 4). Los tratamientos 3 y 7 con moderadas cantidades de NaCl y Fe muestran mayores porcentajes con 0.45 y 0.49 % respectivamente, estos resultados concuerdan con (Silva et al al, 2008) y (Silva y González, 2005) al comparar sistemas de cultivo con manejo en condiciones optimas y en condiciones desfavorables. El mineral hierro (Fe) muestra un efecto positivo en los rendimientos de biomasa y biosíntesis de aceites esenciales, sin manifestación de estrés fisiológico y metabólico aparente en las plántulas.

Tabla 4. Biosíntesis de aceite esenciales por efecto de inducción de estrés salino y minerales en orégano Mexicano (*Lippia graveolens*. H.B.K).

Tratamientos	Rendimiento de aceite esencial (%)
1.- 85.5 mM NaCl	0.450
2.- 171 mM NaCl	0.380
3.- Agua corriente.	0.325
4.- Douglas modificada	0.335
5.- 1.30 mM CuSO ₄	0.155
6.- 2.60 mM CuSO ₄	0.355
7.- 0.90 mM FeSO ₄	0.490
8.- 1.80 mM FeSO ₄	0.340

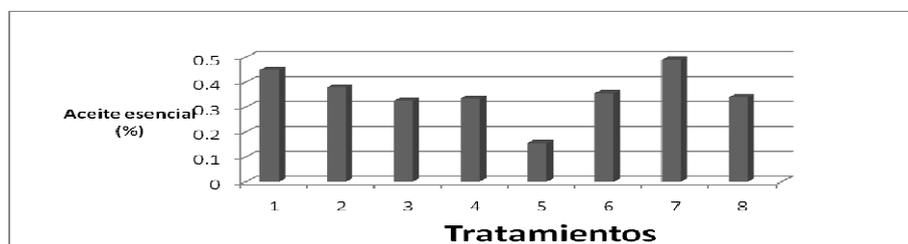


Figura 2. Biosíntesis de aceite esenciales por efecto de inducción de estrés salino y minerales en orégano Mexicano (*Lippia graveolens*. H.B.K).

CONCLUSIONES

Las plántulas sometidas a la inducción de estrés por salinidad (NaCl) mostraron poca tolerancia reflejándose en los rendimientos de la biomasa, así como en la asimilación de CO_2 y biosíntesis de clorofila.

Las plántulas sometidas a la inducción de estrés por minerales (Fe) y (Cu) mostraron un mejor comportamiento ya que no afectó aparentemente las variables vegetativas así como las variables fisiológicas.

En lo que respecta a la biosíntesis de aceite esencial no se observó alguna diferencia importante en las plantas sometidas al estrés salino y con minerales, probablemente esto sea un mecanismo de protección antiestrés de la planta.

RECOMENDACIONES.

Para poder evaluar de mejor manera este tipo de variables es recomendable empezar las evaluaciones en el periodo Primavera- verano, ya que en esa época las plantas se hallan en pleno crecimiento, ya que cuando se realizaron las pruebas de este trabajo algunas de ellas ya se estaban defoliando y se desuniformiza la obtención de datos.

Otro punto que se le que se retrasaron las pruebas de fotosíntesis, puesto que las condiciones del tiempo no eran favorables

LITERATURA CITADA.

Arcila Lozano CC. G. Loarca, S. Lecona U. E. Gonzalez. 2005. El orégano propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes PROPAC. Memorias 2ª REUNION NAIONAL SOBRE OREGANO. CIRENA, Salaises Chihuahua Febrero 2005.

ARIAS, 1991, El orégano como un alternativa de producción agrícola sustentable para las zonas áridas y semiáridas, CIRENA, Folleto de productores No. 11, Salaises Chihuahua, México, Nov.1999

Benavides M. A., 2002. ECOFISIOLOGIA Y BIOQUIMICA DEL ESTRÈS EN PLANTAS. Primera ed. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuia México 209p

Berlanga R.C. A, E.E. Villavicencio G., O.U. Martínez B.Y A. CanoP.2005 Vegetación asociada al orégano *Lippia graveolens* (HBK) y sus características dasonómicas en algunas comunidades de Coahuila Memorias 2ª REUNION NACIONAL SOBRE OREGANO . CIRENA , Salaises Chihuahua Febrero 2005 Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (Primera edición) pp193 -195

CONABIO (Comisión Nacional de Biodiversidad) 2005. Orégano Mexicano Oro Vegetal.

Kokkini S, Karousou R. Dardioti A. Krigas N. Lanaras T. 1997 Autumn essential oils of Greek orégano. *Phytochem* 44 (5): 883- 886Maldonado Rodríguez, J.A. 1998. El orégano silvestre en México, Monografía Licenciatura UAAAN, Buenavista Saltillo Coahuila México.

Martínez Domínguez M.1993. Guía para el aprovechamiento del orégano *Lippia berlandieri* Schawer. En la zona norte de Jalisco. México. Campo experimental los Colomos México No.1 INIFAP. C.E. Forestal los Colomos.

Oliver, G. 1997 The World market of Orégano (en) Orégano. Proceedings of the IPGRI international workshop on oregano (Ed) padulosi, S. 141- 145.

Salisbury, F.B 1994. Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamérica pp.143-175

Salisbury J.1988, Botânica 2ª edición Utah State University

Salgueiro LR, Cavaleiro C, Goncalves MJ, Proenca de Cubha A, 2003. Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil of *Lippia graveolens* Guatemala.

Servaites,C, R. Geiges, A. Tucci and R.Fondy, 1989. Leaf carbon metabolism and metabolite level during a period of sinusoidal light. *Plant Physiology*-84 pp 403-408

Silva, V.R.1999 El orégano como un alternativa de producción agrícola sustentable para las zonas áridas y semiáridas, CIRENA, Folleto de productores No. 11, Salices Chihuahua, México.

ANEXOS.

ANVA

Peso fresco.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	5	23.611206	4.722241	0.3594	
ERROR	12	157.686646	13.140553		
TOTAL	17	181.297852			

C.V. = 45.25 %

Peso seco.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	7	7.773323	1.110475	1.3773	0.280
ERROR	16	12.899998	0.806250		
TOTAL	23	20.673321			

C.V. = 69.97 %

Clorofila.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	7	1.241982	0.177426	10.8991	0.000
ERROR	16	0.260464	0.016279		
TOTAL	23	1.502445			

C.V. = 12.73 %

Fotosíntesis.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	7	54.297485	7.756783	1.7804	0.160
ERROR	16	69.709717	4.356857		
TOTAL	23	124.007202			

C.V. = 43.32 %

Área foliar.

ANALISIS DE VARIANZA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	7	25350.625000	3621.517822	2.2907	0.080
ERROR	16	25295.328125	1580.958008		
TOTAL	23	50645.953125			

C.V. = 46.53 %