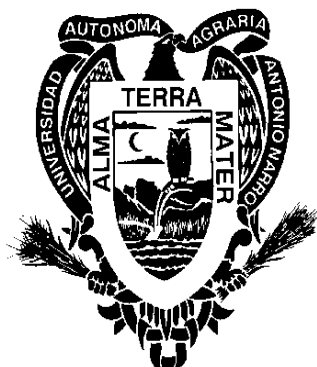


UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA



EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y BIOMASA, EN OREGANO MEXICANO (*Lippia Graveolens*) POR EFECTO DE INDUCCIÓN DE ESTRÉS POR SALINIDAD.

POR:

LEONEL CORTÉS CASTRO

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

SALTILLO, COAHUILA, MEXICO

DICIEMBRE DE 2010

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y BIOMASA, EN OREGANO MEXICANO (*Lippia Graveolens*) POR EFECTO DE INDUCCIÓN DE ESTRÉS POR SALINIDAD.

POR:

LEONEL CORTÉS CASTRO

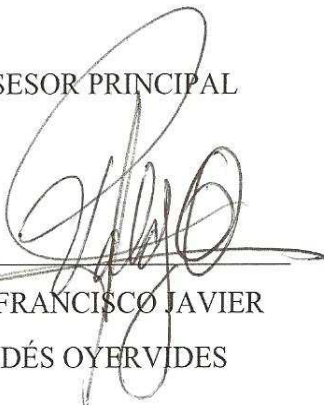
TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

APROBADA:

ASESOR PRINCIPAL



M.C. FRANCISCO JAVIER
VALDÉS OYERVIDES

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN
DE AGRONOMIA.



DR. MARIO ERNESTO VÁZQUEZ

BADILLO

Coordinación
División de Agronomía

SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO

DICIEMBRE DE 2010

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

**EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE ACEITES ESENCIALES Y
BIOMASA, EN OREGANO MEXICANO (*Lippia Graveolens*) POR EFECTO DE
INDUCCIÓN DE ESTRÉS POR SALINIDAD**

POR:

LEONEL CORTÉS CASTRO

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 MANUEL REYES SALAS

ASESOR.


ING. CARLOS RAMOS VELIS

SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO.

DICIEMBRE DE 2010

DEDICATORIAS

Quiero dedicar este trabajo en primer lugar a Dios, por ser el hombro que me ha sostenido y que me ha dado las fuerzas necesarias para continuar y terminar con mi carrera.

Lo dedico también a mi padre, el señor Gregorio Cortés Martínez, por ser la persona que más me ha apoyado en mi carrera y el hombre al que más amo y estimo.

A mi Madre la señora Amalia Castro González por que al igual que mi padre, ha sido parte de este proyecto siempre, por la tanto esto también es suyo.

A mis hermanos Dayan Cortés Castro y Ulises Cortes Castro dos grandes piezas de apoyo moral en esta campaña.

A mis a amigos en especial al Ing. Carlos Ramos Velis y el Ing. Orlando Guzmán Cardozo, ya que ustedes también son parte de este proyecto, y ya que sin su apoyo no lo hubiera logrado.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer principalmente a mi padre Dios por ser mi pilar y quien me ha sostenido en este caminar durante toda mi carrera.

Agradezco a mis padres los señores Gregorio Cortés Martínez y la Señora Amalia Castro González, por ser mis primeros maestros y formadores en la vida y por apoyarme he impulsarme para continuar con mis estudios.

A mi Alma Terra Mater, mi formadora y madre, la que me brindo la oportunidad de crearme como un profesionista y hombre.

Hago un merecido reconocimiento a agradecimiento a todos mis maestros, por haberme brindado sus conocimientos y haberme dejado compartir y aprender de sus experiencias y conocimiento.

Agradezco también al Dr. Francisco Javier Valdez Oyervides, por brindarme la oportunidad de aprenderle y aconsejarme no solo como mi asesor si no como un amigo.

Agradezco a mis hermanos Dayan Cortés Castro y Ulises Cortés Castro. Gracias por estar conmigo y por ser mi motor en los momentos difíciles.

A mis amigos el Ing. Carlos Ramos Velis y el Ing. Orlando Guzmán Cardozo, gracias por compartir momentos buenos y malos, ayudarme, aconsejarme y apoyarme. Gracias por convertirse en mi familia.

INDICE

RESUMEN.....	i
INTRODUCCIÓN.....	1
OBJETIVO.....	3
HIPOTESIS.....	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Generalidades del cultivo.....	4
Clasificación taxonómica.....	5
Descripción botánica.....	6
Requerimientos climáticos y edáficos.....	6
Generalidades de los aceites esenciales.....	7
Composición química del Orégano.....	8
Concepto de estrés.....	8
Factores de estrés.....	8
Estrés inducido en plantas.....	9
Estrés de las plantas por salinidad.....	9
MATERIALES Y METODOS.....	10
Localización geográfica del experimento.....	10
Material vegetativo.....	10
Material de campo.....	10
Material de laboratorio.....	11
Establecimiento del experimento.....	12
Variables evaluadas.....	14
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	15
CONCLUSIONES.....	20
LITERATURA CITADA.....	21
ANEXOS.....	23

INDICE DE CUADROS

CUADRO 1. Tratamientos, dosis y repeticiones del trabajo de investigación de Orégano Mexicano (<i>Lippia Graveolens</i>).....	12
---	----

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Variables de Área Foliar en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (<i>Lippia graveolens</i> H.B.K).....	15
---	----

FIGURA 2 variables de peso fresco en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (<i>Lippia graveolens</i> H.B.K).....	16
--	----

FIGURA 3 Variables de peso seco en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (<i>Lippia graveolens</i> H.B.K).....	17
--	----

FIGURA 4 variables de peso fresco de tallos en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (<i>Lippia graveolens</i> H.B.K)....	17
---	----

FIGURA 5 variables de peso seco de tallos en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (<i>Lippia graveolens</i> H.B.K).....	18
--	----

Figura 6 variables de Aceites esenciales de tallos en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (<i>Lippia graveolens</i> H.B.K)....	19
--	----

RESUMEN

La investigación se llevo a cabo en el invernadero de Ornamentales del departamento de Horticultura, campus Saltillo, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con sede en Buenavista, Saltillo, Coahuila, ubicada en las coordenadas geográficas 25° 21' latitud norte, 101° 0 2' longitud oeste y a una altitud de 1760 msnm. El objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos que presenta la inducción de estrés a través de dosis de NaCl comparados con un tratamiento de solución nutritiva, en la producción de aceites esenciales y biomasa en orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*). Para esto se utilizaron 25 plantas las cuales se distribuyeron en cuatro tratamientos, con un testigo comercial al cual se le aplicaron 4 ml por litro de Fertiplus, un fertilizante foliar comercial con 7 repeticiones (T2); un T3 aplicando 5 grs. de NaCl por litro de agua, con 7 repeticiones; un T4 aplicando 7.5 grs. De NaCl por cada litro de agua, con 7 repeticiones y por último un testigo absoluto con solo agua (T1), contando con 4 repeticiones. Las aplicaciones se realizaron cada tercer día para todos los tratamientos y al termino de la quinta semana se realizó la cosecha manual de las plantas recolectándose para su posterior secado y extracción. Las plantas fueron secadas y posteriormente trituradas para extraerles el aceite. Previo a esto las plantas fueron pesadas para obtener sus pesos en seco y en fresco tanto con hojas como sin hojas. De las variables evaluadas de biomasa, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, no así para la producción de aceite encontrándose una diferencia en los tratamientos T2 y T3, al aplicar el producto comercial y el tratamiento con sales más bajo, con una producción de aceite de 3.125% por cada 100 grs. de producción de aceite y 3.75% respectivamente, demostrándose que el efecto de estrés en las plantas de orégano favorecen la activación del metabolismo intermedio

Palabras clave: *Lippia Graveolens*, orégano, aceites esenciales, Estrés.

INTRODUCCIÓN.

Orégano es el término que se utiliza en la República Mexicana para referirse a cerca de 40 especies de plantas herbáceas pertenecientes a cuatro familias botánicas. Las plantas de las diferentes familias de orégano mexicano se encuentran en estado silvestre, en regiones áridas y semiáridas del país. Su hábitat principal son los suelos pedregosos de cerros, laderas y cañadas entre los 400 y 2000 metros de altitud, siendo más abundante entre los 1400 y 1800 metros de altitud. Los principales estados productores son Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Durango, Tamaulipas, Zacatecas, San Luis Potosí, Jalisco, Guanajuato, Querétaro y Oaxaca.

El orégano molido se utiliza como saborizante en alimentos frescos, procesados y envasados. Debido a que la mayoría de las especies de orégano poseen propiedades medicinales, también tienen usos en la práctica terapéutica de herbolaria por sus propiedades para el control del asma, alivio de cólicos, control de la tos, contra lombrices, acción específicamente contra *Staphylococcus aureus*, regulador de la menstruación y fungicida. El aceite esencial de orégano se utiliza en la elaboración de perfumes, jabones y cosméticos (CONAFOR, 2007).

Por otro lado, si bien es cierto nuestro país es el segundo exportador anual de este producto con 4000 ton. Anuales de las cuales un 50 por ciento son empaquetados y vendidos, también es cierto que existe una amplia problemática dentro de los eslabones de la cadena. Por un lado, la gran discrepancia entre los agentes que participan con una amplia diferencia entre los márgenes de comercialización y por otro lado la falta de elementos técnicos que den soporte a la producción.

El orégano no es un producto nuevo en nuestro país y en otros países, pero a pesar de todo esto y del amplio mercado que con el que cuenta, no existe información sobre el cultivo y los aspectos técnicos que mejoren la calidad de los procesos de producción, cosecha, limpiado, empaquetado y además que le den valor agregado.

Una de las características que dan mayor valor comercial a un producto es el caso de su calidad. Para el caso del orégano, la calidad esta referida al contenido de aceite del

producto, pues ya sea vendido a granel o empaquetado, gran parte del producto se utiliza para procesarse y producir medicamentos, cosméticos, perfumes e incluso se ha empezado adentrar en otras áreas, como lo es el caso de fungicidas e insecticidas. Pero todo esto se ha visto afectado por la falta de investigación al tema que de un soporte técnico.

La presente investigación va enfocada al aspecto técnico y en este caso específicamente a la producción de aceites esenciales, así como un análisis de las condiciones de salinidad en las que favorece la producción, aportando herramientas que permitan en un futuro mejorar los procesos y ayudar a los productores a consolidarse y desarrollar conocimientos en los que se pueda practicar una agricultura sustentable.

OBJETIVO.

Evaluar los efectos que presenta la inducción de estrés a través de dosis de NaCl comparados con un tratamiento de solución nutritiva, en la producción de aceites esenciales y biomasa en orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*).

HIPOTESIS.

La aplicación de estrés por salinidad (NaCl) tendrá influencia sobre la producción de aceites esenciales y otras variables, en 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 cosméticos, 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 rastrera* *Parthenium 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 República, 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 Leguminosae (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.

GENERALIDADES DE LOS ACEITES ESENCIALES

Son mezclas líquidas de compuestos orgánicos principalmente monoterpenos y sesquiterpenos, altamente volátiles y aromáticos definidos como lípidos que son inmiscibles en agua, pero que se diferencian, por no dejar mancha sobre papel. Son los principios odoríferos de las plantas que han definido su evolución ecológica en concomitancia con ciertos animales. (López, 1991)

Los aceites esenciales son metabolitos secundarios de las plantas por lo que un metabolismo más activo puede asociarse con una mayor producción de aceites (Willkins 1998). Los aceites esenciales son caracterizados por su alto contenido de monoterpenos (70-87.2%) se han encontrado importantes diferencias entre el contenido de carvacrol (44.8%) y 7.4% de timol. (Salgueiro, 2003) han hecho pruebas de efectividad en bacterias Gram- positivas y Gram- negativas, así como contra hongos y los resultados han sido significativos con la aplicación de carvacrol mejor que el timol. Así mismo se han encontrado contenidos de timol superiores al 30% en muestras de orégano (*L. graveolens* Kunth) recolectadas en el estado de Jalisco (Uribe, 1992).

COMPOSICION QUÍMICA 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 FIGURA 1.

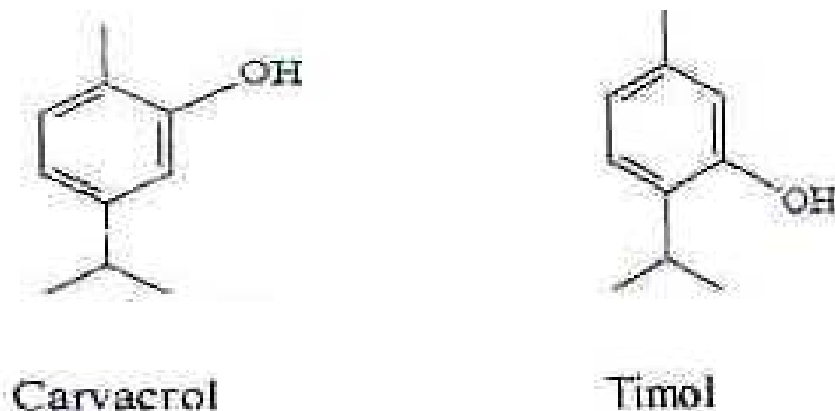


Figura 1. Estructura de carvacrol y timol.

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. La explicación en términos físicos es la siguiente: la energía libre del agua se conoce como potencial químico, el agua fluye espontáneamente desde un sitio de alta energía hacia uno de baja energía libre hasta que se llega al equilibrio termodinámico (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. En la espinaca los rendimientos se incrementan con niveles moderados de salinidad (Benavides, 2002).

MATERIALES Y METODOS.

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 Buenavista, Saltillo, Coahuila, ubicada en las coordenadas geográficas 25° 21' latitud norte, 101° 02' longitud oeste y a una altitud de 1760 msnm.

MATERIAL VEGETATIVO.

Se utilizaron 25 plantas adultas de Orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*) bajo condiciones de invernadero.

MATERIAL DE CAMPO.

Cloruro de sodio (NaCl).

Ferti- plus. (B, N, P, Fe, K, Cu, Ca, Zn, A, Mo, Mg, Mn.)

Vaso de precipitado.

1 cubeta.

Cámara fotográfica.

Tijera para podar.

Regla (30cm).

Marcadores.

Bolsas de papel de straza.

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.

Tubo condensador

Mangueras

Tubos de conexión.

METODOLOGÍA

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*).

TRATA.	CONCENTRACION	DOSIS	REP.
T1	Testigo absoluto	Agua corriente	4
T2	Solución nutritiva	4ml/1L de agua	7
T3	NaCl	5grs/1L de agua	7
T4	NaCl	7.5grs/1L de agua	7

SIEMBRA:

Ésta investigación inició con la siembra de la semilla, en 2 charolas de poliestireno de 200 cavidades para asegurar el mayor número de plantas germinadas. La siembra se efectuó el 15 de septiembre del 2004 en forma manual, dejando caer una semilla por cavidad, a una profundidad de menos de 0.5 cm, ya que la semilla posee la característica de ser muy pequeña. Las semillas antes de sembrarlas fueron tratadas con manitol al 8% durante 30 minutos. Se utilizó como sustrato de germinación una mezcla de peatmoss, perlita y vermiculita para la buena aireación del sustrato.

Después de la germinación en un sistema de camas flotantes se fueron haciendo observaciones continuas de germinación de la semilla. Conforme fueron emergiendo las plantas, tomando en cuenta los riegos necesarios en dos diferentes modalidades, 2 semanas con agua corriente y la tercera semana con una solución Douglas, hasta que la raíz alcanzara un tamaño adecuado para ser trasplantada.

TRASPLANTE

Una vez alcanzada la altura adecuada, el trasplante se realizó el 12 de Noviembre del 2004, en macetas de 10 L.

Lo que respecta al primer tratamiento las 36 macetas fueron llenadas con sustrato A peatmoss (100%) al igual que en el segundo tratamiento las 36 macetas fueron llenadas con una mezcla de peatmos (75%) y perlita (25%) sustrato B. El sustrato fue previamente humedecido con agua corriente.

Las macetas se colocaron a una distancia de 0.7 m entre hileras y de 0.3 m entre plantas

RIEGOS

Para dar los riegos necesarios, se prepararon las diferentes soluciones nutritivas de Douglas modificadas en toneles de 200 L con 100 L de agua en el tonel, se agregaron los macroelementos previamente pesados para cada dosis, y posteriormente, de una solución madre se tomó la cantidad correcta de micro elementos aforando con agua los 200 L en el tonel.

Para el primer riego de trasplante, inicialmente se midió el pH y la conductividad eléctrica, manteniendo un pH de 7.65 y una C.E. de 715 microS/m. Se realizó el primer riego con solución nutritiva comercial fertiplus aplicando ml/planta. Los riegos fueron cada tercer día en los junio y julio , regándose las plantas cada tercer día con la solución.

La presente investigación se inició con la aplicación de los tratamientos, sobre las plantas adultas de Orégano Mexicano (*Lippia Graveolens*), el día 29 de abril del 2010, las aplicaciones se realizaron cada lunes y se finalizaron el día 7 de junio del 2010, con un total de 8 aplicaciones por tratamiento.

ANALISIS ESTADISTICO.

Para evaluar el comportamiento con las sales y la producción de aceites se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y dos repeticiones por tratamiento. Las comparaciones de medias se realizaron por el método de Tukey con ($p \geq 0.01$) y el modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

μ = Media general o efecto general que es común en cada unidad experimental.

τ_i = Efecto del tratamiento i.

ε_{ij} = Error experimental.

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

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 cm^2 .

Cabe destacar que al realizar esta prueba también se realizo 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.

ACEITES

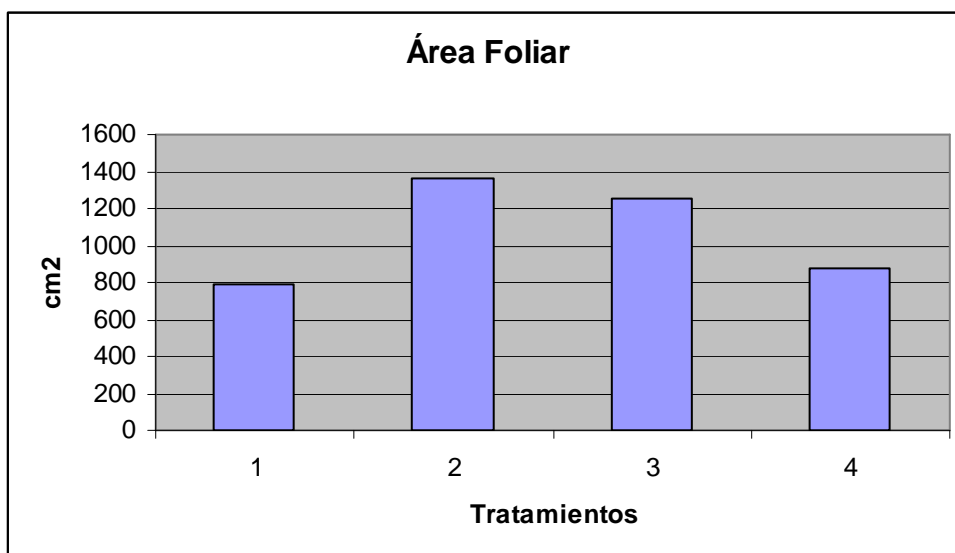
Para el caso de esta variable se tomaron 50 grs. De muestra y el aceite esencial se extrajo mediante el método de arrastre por vapor, utilizando solo 20 ml de muestra por tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIONES.

1.- AREA FOLIAR.

La variable área foliar no mostro diferencias estadísticas significativas entre los diferentes tratamientos, sin embargo en el tratamiento agua corriente el cual fue el testigo absoluto con agua se observo una mínima discrepancia siendo el de menor área foliar. Estos datos corroboran lo obtenido por Ramírez Leyva en 2009, al no encontrar efectos de las sales sobre las variables de biomasa.

Figura 1.- variables de Área Foliar en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (*Lippia graveolens* H.B.K).



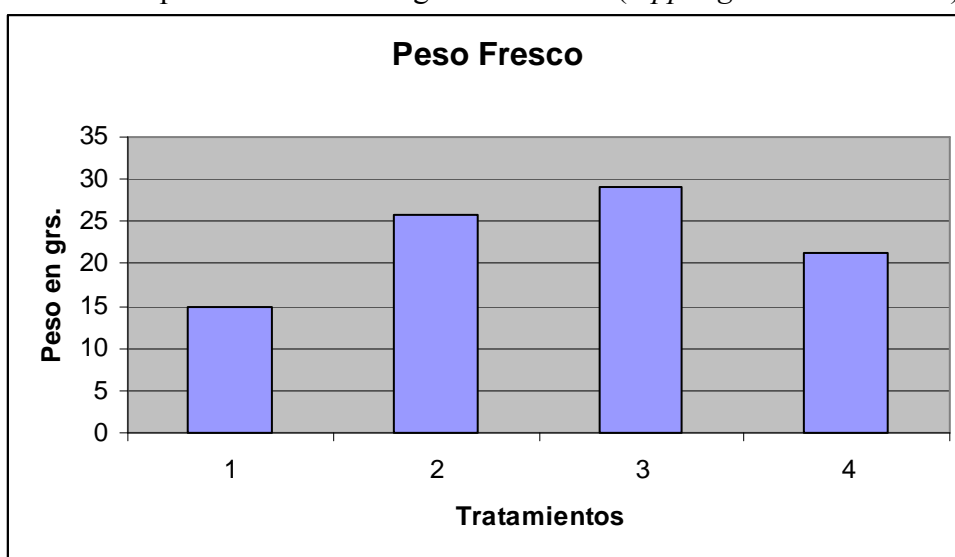
(T1. Testigo absoluto Agua corriente., T2. Solución nutritiva (Fertiplus) 4ml/1L de agua., T3.NaCl 5.0 g/L., T4. NaCl 7.5 g/L)

2.- PESO FRESCO.

Para esta variable los resultados obtenidos fueron 1364.065, para el tratamiento con fertiplus, 1250.305 para el tratamiento con sales en baja dosis, 877.69 para el

tratamiento con dosis alta de sales y 793.535 para el testigo absoluto con agua, observándose a simple vista una diferencia en la producción de volumen foliar a diferencia de los demás tratamientos, sin embargo, el análisis estadístico no nos muestra diferencia significativa al aplicar la comparación de medias, pero los datos coinciden con lo obtenido por Ramírez Leyva 2009, el cual al aplicar un tratamiento del fertilizante comercial obtuvieron mayor volumen de biomasa y al igual que en este trabajo.

Figura 2 variables de peso fresco en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (*Lippia graveolens* H.B.K).

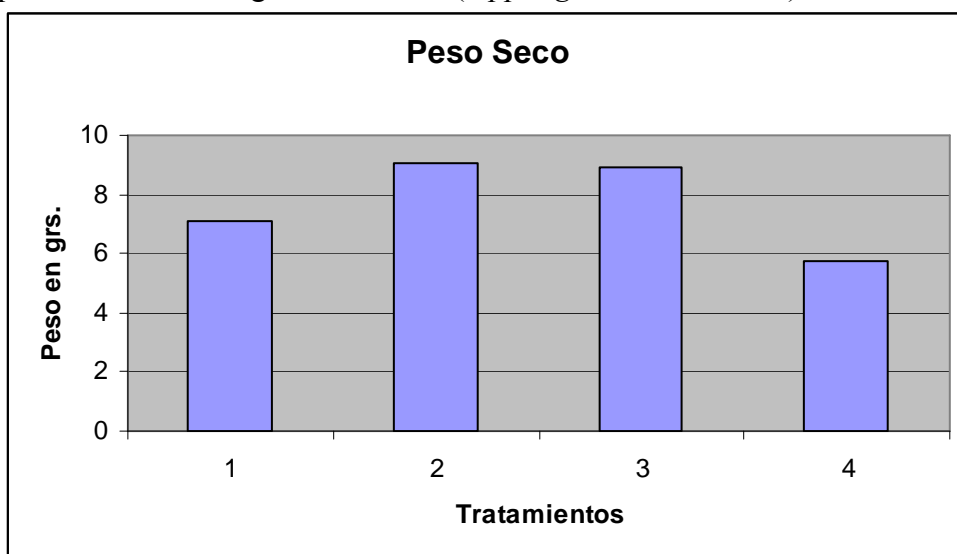


(T1. Testigo absoluto Agua corriente., T2. Solución nutritiva (Fertiplus) 4ml/1L de agua., T3.NaCl 5.0 g/L., T4. NaCl 7.5 g/L)

3.- PESO SECO

. Los resultados obtenidos para esta variable fueron 9.05 gr. para fertiplus, 8.95 gr. Para el tratamiento de moderada salinidad, 5.75 para alta salinidad y 7.1 para el tratamiento testigo con agua. Al realizar el análisis estadístico y la comparación de medias no se obtuvo diferencia significativa por lo que estadísticamente todos los tratamientos son iguales, sin embargo es de notarse que el tratamiento de fertiplus es que arroja mayor volumen en biomasa, dato que coincide con lo obtenido con Ramírez Leyva en 2009 quien al comparar su trabajo de sales con un testigo comercial encontró mayor volumen en la producción de biomasa.

Figura 3 Variables de peso seco en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (*Lippia graveolens* H.B.K).

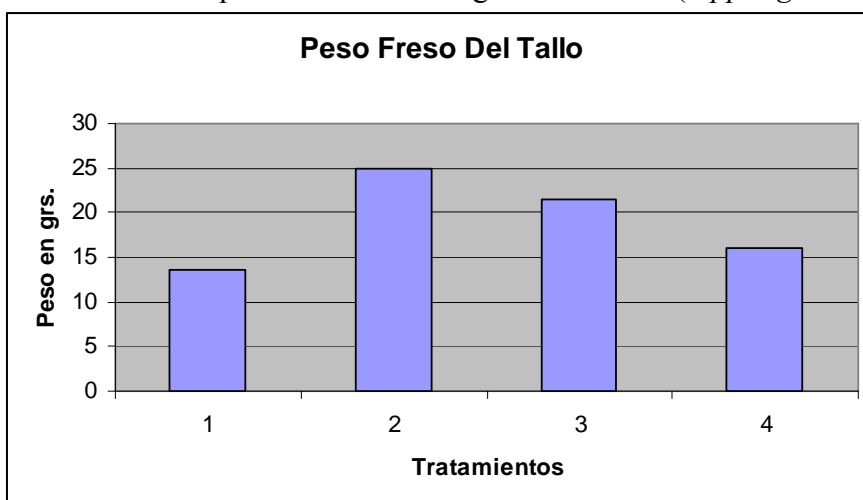


* (T1. Testigo absoluto Agua corriente., T2. Solución nutritiva (Fertiplus) 4ml/1L de agua., T3.NaCl 5.0 g/L., T4. NaCl 7.5 g/L)

PESO FRESCO DEL TALLO

En esta variable se considero solo los tallos frescos sin follaje. Los resultados obtenidos fueron 24.95 gr. para fertiplus, 21.5 gr. para sales bajas, 16gr para sales altas y 13.65 para el testigo absoluto. El análisis estadístico, junto con la comparación de medias no mostró diferencia entre los tratamientos, dato que no discrepa con lo obtenido para otras variables en las cuales tampoco se encontró respuesta al tratamiento con sales.

Figura 4 variables de peso fresco de tallos en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (*Lippia graveolens* H.B.K).

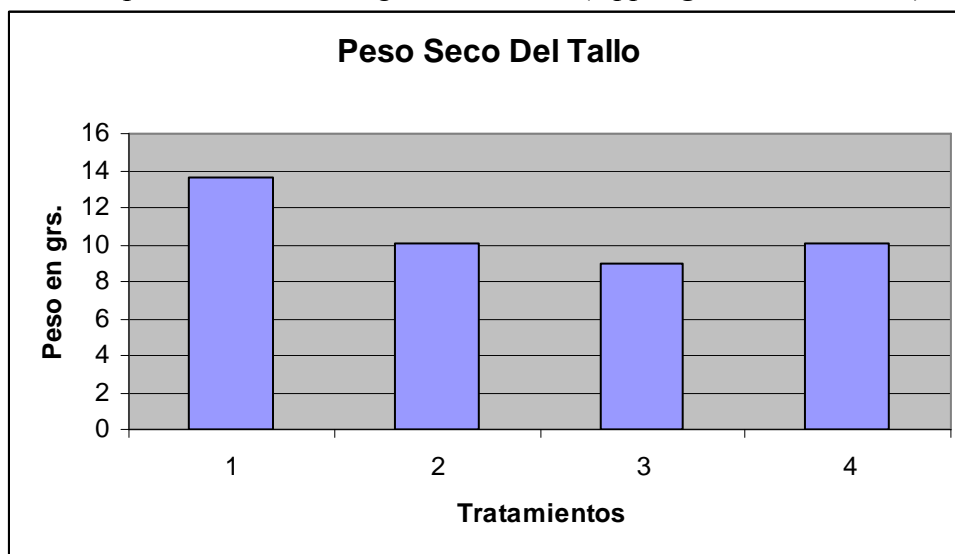


* (T1. Testigo absoluto Agua corriente., T2. Solución nutritiva (Fertiplus) 4ml/1L de agua., T3.NaCl 5.0 g/L., T4. NaCl 7.5 g/L)

PESO SECO DEL TALLO

El análisis estadístico, junto con la comparación de medias no mostró diferencia entre los tratamiento sin y con inducción de salinidad. esta variable se considero solo los tallos secos sin follaje. Los resultados obtenidos fueron 10.05 gr. para fertiplus, 8.95 gr. para sales bajas, 10.1gr para sales altas y 13.65 para el testigo absoluto.

Figura 5 variables de peso seco de tallos en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (*Lippia graveolens* H.B.K).

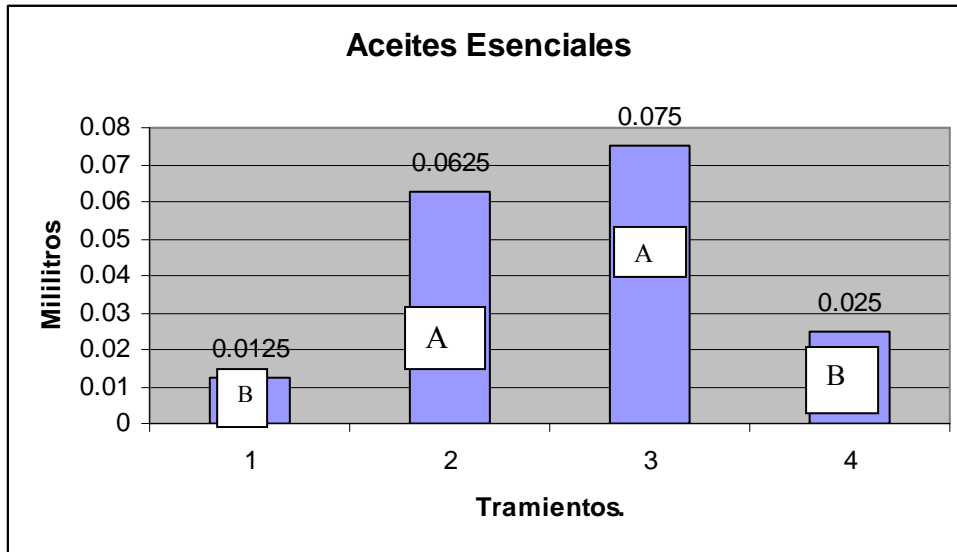


(T1. Testigo absoluto Agua corriente., T2. Solución nutritiva (Fertiplus) 4ml/1L de agua., T3.NaCl 5.0 g/L., T4. NaCl 7.5 g/L)

ACEITE ESENCIAL

Para la variable aceite esencial, el analisis estadistico nos muestra significancia dentro de los tratamientos, mostrando una respuesta diferente dentro de los tratamientos 2 y 3 Solución nutritiva (Fertiplus) 4ml/1L de agua y .NaCl 5.0 g/L. Respectivamente, notándose una diferencia en el tratamiento, con sales baja y el tratamiento con la solución nutritiva. La elevada producción de biomasa, pudiera favorecer la mayor cantidad de aceite dentro de la planta ya que la mayor cantidad de aceite en el tratamiento comercial se pudo haber visto favorecido por la producción de biomasa. Sin embargo los resultados también concuerdan con lo mencionado por Silva 2005 el cual menciona que para una mayor biosíntesis de aceites esenciales la planta de orégano tendrá que ser sometida a condiciones estresantes.

Figura 6 variables de Aceites esenciales de tallos en los diferentes tratamientos de inducción de estrés por salinidad en orégano mexicano (*Lippia graveolens* H.B.K).



(T1. Testigo absoluto Agua corriente., T2. Solución nutritiva (Fertiplus) 4ml/1L de agua., T3.NaCl 5.0 g/L., T4. NaCl 7.5 g/L)

CONCLUSIONES.

Las condiciones de estrés salino en las plantas de oregano no causaron efectos sobre las variables referidas a la biomasa como peso seco y fresco; no así para la producción de aceites que mostro un incremento en su producción con un nivel bajo de estres. Sin embargo, se recomienda realizar más investigaciones relacionadas con la producción de aceite y con los factores que favorecen su formación, puesto que las condiciones estresantes potencializan la producción de metabolitos secundarios.

Para el caso de la producción de aceites el tratamiento que mostro un nivel mayor fue 4gr/10 lt que fue el de estrés salino bajo, mostrando mayor producción de aceites en la planta.

Por lo tanto, podemos concluir que el estrés salino si modifica la producción de aceites dentro de la planta de oregano, sin embargo, se recomienda más investigaciones al respecto para desarrollar más información sobre el uso de las sales.

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, Salaiques 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, Salaiques 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 , Salaiques 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- 886

Maldonado 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, Salaiques Chihuahua, México.

ANEXOS

ÁREA FOLIAR

Análisis de varianza

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	464786.000000	154928.671875	3.0268	0.157
ERROR	4	204744.000000	51186.000000		
TOTAL	7	669530.000000			

C.V. = 21.12 %

Cuadro de medias

TRATAMIENTO	MEDIA
1	1364.0649 A
2	1250.3051 A
3	877.6900 A
4	793.5350 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

DMS = 1041.1150

PESO FRESCO

Análisis de Varianza

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	225.792969	75.264320	3.4638	0.131
ERROR	4	86.915039	21.728760		
TOTAL	7	312.708008			

C.V. = 20.46 %

Cuadro de medias

TRATAMIENTO	MEDIA
1	29.1500 A
2	1250.3051 A
3	21.3000 A
4	14.9500 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

TUKEY = 21.5566

VALORES DE TABLAS (0.05), (0.01) = 4.68, 6.54

PESO SECO

Análisis de Varianza

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	15.093719	5.031240	0.9424	0.500
ERROR	4	21.354950	5.338737		
TOTAL	7	36.448669			

C.V. = 29.96 %

Cuadro de medias

TRATAMIENTO	MEDIA
1	9.0500 A
2	8.9500 A
3	7.1000 A
4	5.7500 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

TUKEY = 10.6852

VALORES DE TABLAS (0.05), (0.01) = 4.68, 6.54

PESO FRESCO DEL TALLO

Análisis de Varianza

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	158.545166	52.848389	2.3675	0.212
ERROR	4	89.289551	22.322388		
TOTAL	7	247.834717			

C.V. = 24.83 %

Cuadro de medias

TRATAMIENTO	MEDIA
1	24.9500 A
2	21.5000 A
3	16.0000 A
4	13.6500 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

TUKEY = 21.8491

VALORES DE TABLAS (0.05), (0.01) = 4.68, 6.54

PESO SECO DEL TALLO

Análisis de Varianza

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	25.093689	8.364563	2.1761	0.233
ERROR	4	15.375000	3.843750		
TOTAL	7	40.468689			

C.V. = 18.34 %

Cuadro de medias

TRATAMIENTO	MEDIA
1	10.0500 A
2	8.9500 A
3	10.1000 A
4	13.6500 A

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.01

TUKEY = 9.0665

VALORES DE TABLAS (0.05), (0.01) = 4.68, 6.54

ACEITES ESENCIALES

Análisis de Varianza

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	3	0.005313	0.001771	56.6674	0.002
ERROR	4	0.000125	0.000031		
TOTAL	7	0.005438			

C.V. = 12.78 %

Cuadro de medias

TRATAMIENTO	MEDIA
1	0.0125 B
2	0.0625 A
3	0.0750 A
4	0.0250 B

NIVEL DE SIGNIFICANCIA = 0.05