

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA



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:

KARLA RAMIREZ LEYVA

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para
Obtener el Título de:

INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre de 2009.

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

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:

KARLA RAMÍREZ LEYVA

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



Asesor principal

M.C. Francisco Javier Valdés Oyervides

Aprobada:

Coordinador de la División de Agronomía

Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo
Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre de 2009.

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

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

Karla Ramírez Leyva

TESIS

Que se somete a consideración del H. Comité de Tesis, como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA

APROBADA

Asesor principal

M.C. Francisco Javier Valdés Oyervides

Vocal

Dr. Víctor Manuel Reyes Salas

Vocal

Dr. Reynaldo Alonso Velasco

Saltillo, Coahuila, México.

Universidad Autónoma Agraria
"ANTONIO NARRO"



DEPARTAMENTO
DE HORTICULTURA

Diciembre de 2009

DEDICATORIAS

A PAPÁ DIOS.

Por haberme dado la dicha de nacer, crecer y desarrollarme en la familia que tengo, por llenar mi vida de cosas lindas, por hacer que día a día mi vida se llene de bendiciones, por la salud que ahora gozo, por los bueno y lo malo, por hacerme aprender de mis errores, por todo gracias...Papá Dios.

A MI MAMÁ.

Sra. Angela Leyva Avilez.

Por todo el amor, por la paciencia, por la confianza, por los regaños, por besos, por los abrazos, por todas esas cosas lindas con las llenas mi vida, Mami me faltan palabras para describir todo lo que significas en mi vida, gracias por ser la fortaleza de la familia y de mi vida. Te amo Mamá.

A MI PADRE.

Sr. Carlos Ramírez y Ramírez.

Gracias por la paciencia y la confianza que pusiste en mi, por el apoyo que me brindaste durante todos estos años, perdón por los corajitos, pero es parte de la vida, mírame aquí estoy presentando este trabajo ante ustedes, lo logre y gracias por que sin ti y sin mi Mamá las cosas hubieran sido muy difíciles.

A MIS HERMANAS.

...Angela y Karina...

Por los momentos que hemos pasado juntas, los juegos, las peleas, los consejos, los abrazos, las sonrisas, todo; siempre llevare conmigo todas esas cosas lindas que han hecho que estemos más unidas, ya saben que hay algo en nosotras que nos hace únicas, las quiero mucho hermanitas Veneno.

A MIS ABUELOS.

+ Sra. María Avilez Díaz.

Sr. Emilio Leyva Nava.

Gracias por haber estado con nosotras cuando más los necesitamos, por el amor y dedicación que siempre le pusieron a nuestro cuidado, por las enseñanzas, por todo el cariño brindado, por hacernos ver la vida de manera distinta, tengo tantas cosas que decirles que no encuentro las palabras para agradecerles todo lo que hicieron por mis hermanas y por mi; por eso y mucho más los quiero mucho y siempre los llevare presentes.

A MIS NENAS.

María Yoali y Monserrat.

Hermosas han sido pieza fundamental para que pudiera desarrollarme como persona, ustedes vinieron a ocupar un lugar muy especial en mi corazón, son la luz de mi vida, las quiero muchísimo, gran parte de lo que hago es por ustedes, para que

se sientan orgullosas de mi, gracias por todos esos momentos que me llenan de dicha y alegría.

A MI PRIMO

Fernando Alcaraz Leyva.

Fer, fuiste la primer personita que lleno de dicha nuestro hogar, el primer NIÑO en la familia, gracias por ser el niño más hermoso del planeta, sigue así y llegarás muy lejos, sabes, quiero agradecerte mucho por se parte de mi vida, por ser mi hermanito, por llenar nuestra casa con risas y ahora con berrinches. Te quiero mucho.

A MI SUPER AMIGA.

Betsabé Abundis Martínez.

Amigui gracias por estar siempre conmigo, por apoyarme en todo, por ser mi confidente, mi cómplice, por los consejos, por todas las pato aventuras que hemos pasado juntas, no se que decir, eres casi mi hermana desde hace muchos años, y te quiero tanto.

A MIS AMIGOS DE LA NARRO.

Silviano, Tokiche, Mich, Jorge, Yessi, Chepe, Regis, Olga, Gaby, Leonel, Gordito, Emanuel, Isaac, Armando, Vic&boy, Miguel, Yess, Oscar...

Gracias, por abrirme las puertas de su corazón, por brindarme su amistad incondicional, por los consejos, por compartir alegrías y tristezas, por estar ahí cuando más los he necesitado, por las buenas convivencias...jajaja...por los corajes que hemos pasado juntos y no nos separan, en verdad los quiero mucho.

Si se me paso alguien, lo siento...!!! Pero me rodean tantas personas lindas que la tesis entera no me alcanzaría para mencionarlos a todos.

A MIS COMPAÑEROS DE GENERACIÓN.

Fue muy lindo conocerlos, compartir salones, maestros y experiencias con ustedes; me llevare los mejor de cada uno, siempre es bueno tener compañeros de batalla y creo que nuestra Generación es una de ellas, y vamos para delante que nuestro camino aún no termina.

A todas esas personas que me han llenado de cariño, que me han regalado una ilusión, que me han soportado y querido tanto, que me han hecho reír, llorar, soñar y vivir momentos inolvidables, no se siempre es bueno estar bien sentimentalmente hablando, la verdad tengo q agradecerles todo lo que hicieron por mi, pues nada seria como es, sino hubiera caminado al lado suyo, gracias por enseñarme el significado del amor.

ESTO ES POR Y PARA USTEDES

¡¡..LOS AMO..!!

AGRADECIMIENTOS

A MI ALMA MATER. Por haberme dado la oportunidad de pertenecer a esta casa de estudios, por haberme permitido realizar mis estudios profesionales dentro de sus instalaciones, por haberme regalado maestros y compañeros ejemplares.

AL M.C. FRANCISCO JAVIER VALDÉS OYERVIDES. Por fungir como asesor principal de esta tesis, por haberme permitido realizar el presente trabajo de investigación con él, gracias por el trabajo y el tiempo invertidos en mí.

AL DR. VICTOR MANUEL REYES SALAS. Por haber aportado sus comentarios y observaciones para el fortalecimiento de esta tesis.

AL DR. REYNALDO ALONSO VELASCO. Por participar como asesor en esta tesis y aportar observaciones interesantes para el mejoramiento de la misma.

AL ING. JUAN MANUEL RAMÍREZ. Por haberme apoyado en las prácticas de campo que se realizaron para la elaboración de este trabajo, gracias por el tiempo, la paciencia y los consejos.

A LA T.L.C. MARÍA GUADALUPE PERÉZ OVALLE. Por el apoyo brindado en las prácticas de laboratorio, gracias por el tiempo invertido en mi.

AL ING. ELISEO SALVADOR GONZALEZ SANDOVAL. Por haber sido uno de los maestros que más me ayudo en la carrera, gracias por sus enseñanzas, por su apoyo y sus consejos.

A TODOS LOS PROFESORES DE LA CARRERA. Gracias a todos y cada uno de ustedes, ya que sin sus enseñanzas, tiempo y paciencia no estaría donde ahora me encuentro, gracias por su interés.

ÍNDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN	2
2. OBJETIVO.....	5
2.1. Hipótesis de trabajo	5
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
3.1. Generalidades del cultivo	6
3.2. Clasificación Taxonómica	8
3.3. Descripción Botánica	8
3.4. Requerimientos Edafoclimáticos.....	9
3.5. Composición química del Orégano mexicano (<i>Lippia graveolens</i>).....	10
3.6. Concepto de Estrés.....	10
3.7. Factores de Estrés.....	10
3.8. El estrés inducido en plantas.....	11
3.9. Estrés de las plantas por salinidad.....	12
4. MATERIALES Y MÉTODOS	13
4.1. Localización geográfica del experimento	13
4.2. Material vegetativo	13
4.3. Material de campo	13
4.4. Material de laboratorio	14
4.5. Establecimiento del experimento	14
4.6. Variables evaluadas.....	15
4.6.1. BIOMASA. Peso fresco y seco de la planta.....	15
4.6.2. CLOROFILA.....	15
4.6.3. FOTOSÍNTESIS.....	16
4.6.4. AREA FOLIAR.....	16
4.6.5. DENSIDAD ESTOMÁTICA.....	17
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	18
5.1. PESO FRESCO.....	18
5.2. PESO SECO.....	19
5.3. CLOROFILA.....	20
5.4. FOTOSÍNTESIS.....	21
5.5. AREA FOLIAR.....	22
5.6. DENSIDAD ESTOMÁTICA.....	23
6. CONCLUSIONES.....	24
7. RECOMEDACIONES	25
8. LITERATURA CITADA	26
9. ANEXOS.....	28

ÍNDICE DE CUADROS

Página

<i>Cuadro 1 Tratamientos, dosis y repeticiones del experimento en Orégano Mexicano (Lippia graveolens).....</i>	<i>14</i>
<i>Cuadro 2 Comparación de medias de la variable peso fresco entre los tratamientos por el factor salinidad en Orégano Mexicano (Lippia graveolens).....</i>	<i>18</i>
<i>Cuadro 3 Comparación de medias de Clorofila total, por el factor salinidad en Oregano Mexicano (Lippia Graveolens).....</i>	<i>20</i>
<i>Cuadro 4 Asimilación de CO2 por efecto de inducción de estrés salino en Orégano Mexicano. (Lippia Graveolens).....</i>	<i>21</i>

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

<i>Figura 1. Diferencias numericas para la variable peso seco, entre los tratamientos, por el efecto de salinidad en Oregano Mexicano (Lippia Graveolens).....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 2. Diferencia numérica de los tratamientos en cuanto al área foliar por el factor salinidad en Oregano Mexicano (Lippia Graveolens).....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 3. Influencia de salinidad En longitud de tallos.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 4. Influencia de salinidad En el número de hojas.....</i>	<i>22</i>
<i>Figura 5. Comparación numérica de los tratamientos en la variable densidad estomatica, en Oregano Mexicano (Lippia Graveolens) por el factor salinidad.....</i>	<i>23</i>

RESUMEN

Las plantas aromáticas y medicinales constituyen una gran alternativa para la salud humana, pero por algunas razones no se les ha dado la importancia que se debería en cuanto a su estudio, es por ello que en el presente trabajo se pretende obtener información para lograr mejorar la productividad de Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*). En el presente trabajo de investigación se sometieron plantas adultas de Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*) en condiciones de invernadero, bajo diferentes tratamientos, el T1 es el testigo absoluto; el T2 tiene una dosis de 4cc de solución nutritiva en 1 litros de agua; el T3 se encuentra a una dosis de 30grs de NaCl en 10 litros de agua; y el T4 se halla a una concentración de 60grs de NaCl en 10 litros de agua (Estos últimos serán los tratamientos inductores de estrés salino). Todo esto con la intención de evaluar el efecto que estos tienen en la producción de biomasa. Se evaluarán biomasa, clorofila, fotosíntesis, área foliar y densidad estomática; esto nos ayudara a probar si la hipótesis planteada se acepta o se rechaza, para esto se utilizó un ANVA por el diseño completamente al azar con diferente número de repeticiones por tratamiento y una prueba de comparación de medias por el método de Tukey al 0.05% de confiabilidad. Para las variables de rendimiento, los resultados obtenidos nos señalan que el T2 supera a los demás tratamientos, esto se debe a que las plantas de dicho tratamiento tenían las mejores condiciones nutricionales. En cambio la variable fisiológica Fotosíntesis el ANVA nos arrojó resultados favorables para el T4, a base de NaCl, esto significa que al inducir las plantas a estrés por salinidad estas asimilan mayor cantidad de CO₂.

Palabras clave: Plantas aromáticas y medicinales, Orégano Mexicano, Estrés, Salinidad.

1. 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 *Verbenaceae*. 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.

2. OBJETIVO

Evaluar los efectos que presenta la inducción de estrés através de dosis de NaCl comparados con un tratamiento de solución nutritiva, en la producción de biomasa, área foliar, fotosíntesis, clorofila y densidad estomática en Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*).

2.1. Hipótesis de trabajo

La aplicación de estrés por salinidad (NaCl) tendrá influencia sobre la producción de biomasa, área foliar, fotosíntesis, clorofila y densidad estomática en Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*).

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. 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, Flouencia 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).

3.2. Clasificación Taxonómica

REINO: Vegetal

SUBDIVISION: Angiospermae

CLASE: Dicotiledóneas

ORDEN: Tubiflorae

FAMILIA: Verbenáceas

GENERO: *Lippia*,

ESPECIE: *Graveolens sin. Berlandieri*

3.3. Descripción Botánica

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).

3.4. Requerimientos Edafoclimáticos

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.

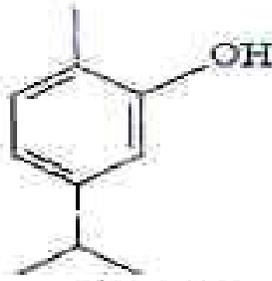
Las altitudes varían entre 700 y 2900 msnm, existiendo condiciones de fisiografía que varía desde 7 a 100% de pendiente.

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.

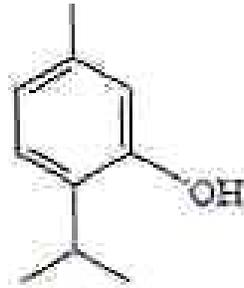
Suelos: El cultivo del orégano tiene éxito en todos los tipos de terreno ricos en materia orgánica, sueltos, silíceos arcillosos, francos, humíferos, calcáreos, arcilloso - arenosos e incluso en lugares áridos. Los mejores resultados, tanto cualitativos como cuantitativos, se obtienen en las zonas cálidas.

3.5. Composición química del Orégano 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

3.6. 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).

3.7. 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).

3.8. 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).

3.9. 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 4Ms cm^{-1} (4000 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).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Localización geográfica 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.

4.2. Material vegetativo

Se utilizaron 36 plantas adultas de Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*) bajo condiciones de invernadero.

4.3. 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 destreza.

Pegamento para PVC.

Cinta adhesiva SCOTCH.

4.4. 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 Spectromic 20.
- 1 Molino THOMSOM modelo 3383-L10.
- 1 microscopio.
- 12 portaobjetos.

4.5. 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	8
T2	Solución nutritiva	4cc/1L de agua	8
T3	NaCl	30grs/10L de agua	10
T4	NaCl	60grs/10L de agua	10

La presente investigación se inició con la aplicación de los tratamientos, sobre las plantas adultas de Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*), el día 29 de junio del 2009, las aplicaciones se realizaron cada lunes y se finalizaron el día 17 de agosto del 2009, con un total de 8 aplicaciones por tratamiento.

Para el mismo experimento se utilizó el diseño completamente al azar 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.

4.6. Variables evaluadas.

4.6.1. BIOMASA. Peso fresco y seco de la planta.

Para dicha variable se tomaron 3 plantas al azar de cada tratamiento y se tomó 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.

4.6.2. 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 agregó acetona al 85% hasta cubrir la muestra, se tapó con papel aluminio y se dejó 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 colocó 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 calculó el contenido de clorofila total, mediante la siguiente fórmula.

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

Donde:

A= Absorbancia.

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

P= Peso de la muestra.

4.6.3. FOTOSINTESIS.

Se realizó en 2 ocasiones, durante la etapa de desarrollo, se eligieron 3 plantas al azar de cada tratamiento, dicha prueba se llevó a cabo en días soleados que no presentaran nubosidad, se midió la asimilación de CO₂ en las hojas más 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.

4.6.4. 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.

4.6.5. DENSIDAD ESTOMÁTICA.

La toma de muestras se realizó el 26 de agosto del 2009, donde se eligieron 3 plantas al azar por tratamiento con 3 repeticiones de cada uno, dando un total de 36 muestras. En cada planta se tomaron impresiones foliares del haz de la hoja totalmente expandida con orientación hacia el oriente utilizando cemento PVC común transparente. El cemento en forma líquida se aplicó sobre la superficie foliar y se dejó secar. La muestra se extrajo con un trozo de cinta adhesiva transparente Scotch, la cual se adhiere posteriormente sobre un portaobjetos de vidrio y se realizó la observación al microscopio en el Laboratorio de Citogenética ubicado en el Departamento de Fitomejoramiento de la UAAAN.

En cada impresión foliar se realizaron conteos de estomas en 3 campos en el microscopio con un aumento de 40X. Para calcular la densidad estomática, se utilizó una fórmula que consiste en dividir el promedio del número de estomas observadas entre el área plana del objetivo del microscopio (0.049 mm) obteniéndose de esta manera la densidad estomática para cada tratamiento.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. PESO FRESCO

Los resultados del análisis de varianza indican que si hay diferencia significativa entre los tratamientos, por el factor salinidad, al realizar la comparación de medias por la prueba de Tukey (0.05), se observó que el tratamiento T2 con 157.87grs está por encima de los demás tratamientos (Cuadro 2).

Cuadro 2 Comparación de medias de la variable peso fresco entre los tratamientos por el factor salinidad en Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*).

TRATAMIENTO	MEDIA
1	156.5625 A*
2	157.8750 A
3	124.1900 B
4	106.9800 B

*Medias representadas con la misma letra indican que son estadísticamente iguales de acuerdo a la Prueba de Tukey (0.05).

5.2. PESO SECO.

El análisis de varianza para la variable “peso seco” indica que no hay diferencia significativa entre los tratamientos, sin embargo, el T2 fue el mejor con 74.37grs de muestra seca (Figura 1).

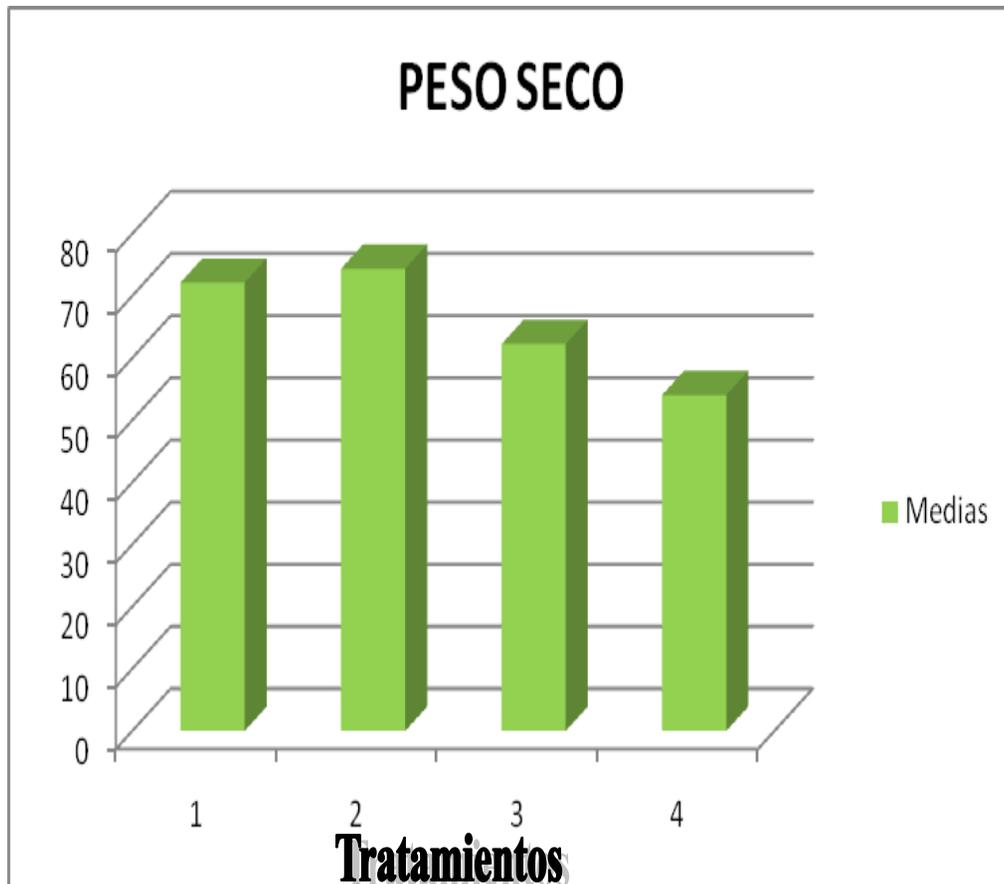


Figura 1. Diferencias numéricas para la variable peso seco, entre los tratamientos, por el efecto de salinidad en Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*).

5.3. CLOROFILA.

El análisis de varianza para la variable clorofila total, indica que hay diferencias significativas entre los tratamientos por el factor salinidad, la comparación de medias por la prueba de Tukey (0.05) indica que el T2 se encuentra por arriba del T4 y T3, con 1.5307mg/g. (Cuadro 3).

Cuadro 3 Comparación de medias de Clorofila total, por el factor salinidad en Oregano Mexicano (*Lippia graveolens*).

TRATAMIENTO	MEDIA
1	0.6720 C*
2	1.5307 A
3	0.9441 B
4	0.9495 B

*Medias representadas con la misma letra indican que son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05).

5.4. FOTOSINTESIS.

En esta variable el análisis estadístico indica que si hay diferencia significativa entre los tratamientos por el factor salinidad, y al realizar la comparación de medias por la prueba de Tukey se puede observar que el T4 y T3 superan a los demás con 37.23 $\mu\text{MolCO}_2.\text{m}^2.\text{s}^{-1}$ y 31.66 $\mu\text{MolCO}_2.\text{m}^2.\text{s}^{-1}$ respectivamente. (Cuadro 4).

Cuadro 4 Asimilación de CO₂ por efecto de inducción de estrés salino en Orégano Mexicano. (*Lippia graveolens*)

TRATAMIENTO	MEDIA
1	12.4833 C
2	23.0667 BC
3	31.6667 AB
4	37.2333 A*

*Medias representadas con la misma letra nos indican que son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey (0.05).

5.5. AREA FOLIAR.

El análisis de varianza para esta variable indica que no hay diferencia significativa entre los tratamientos, sin embargo, las diferencias numéricas indican que el T1 (testigo) obtuvo el mejor resultado con 3629.206cm². (Figura 2).

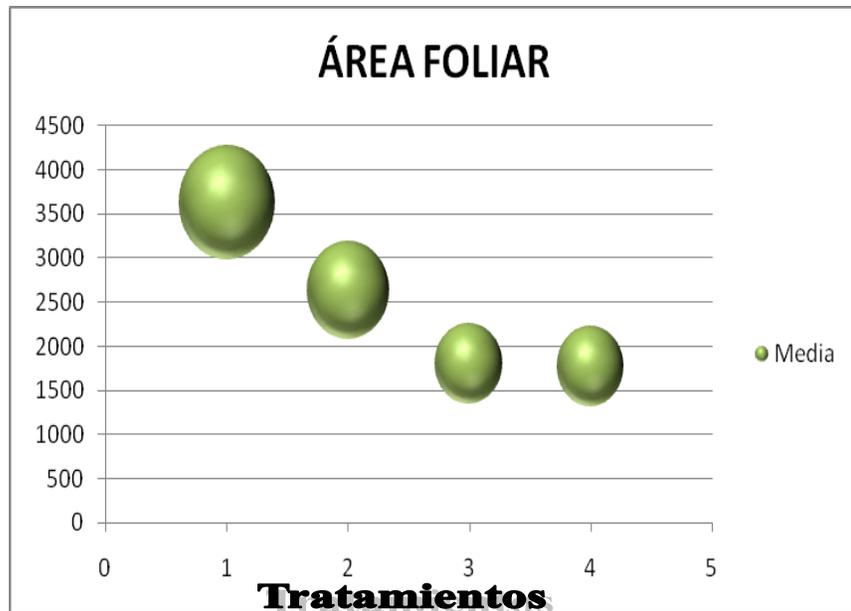


Figura 2. Diferencia numérica de los tratamientos en cuanto al área foliar por el factor salinidad en Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*).

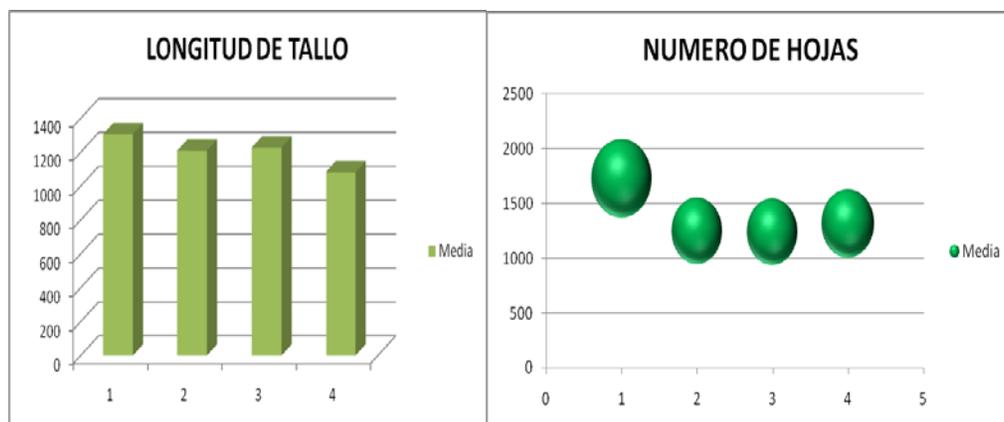


Figura 3. Influencia de salinidad En longitud de tallos.

Figura 4. Influencia de salinidad En el número de hojas.

Para longitud de tallo, se encontró que en el análisis de varianza no se hallaban diferencias significativas entre los tratamientos, aunque se puede hacer un énfasis en el T1 (testigo) con 1306.66cm que supera a los demás tratamiento. (Figura 3).

El análisis de varianza para numero de hojas nos indica que no hay diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, en las diferencias numéricas se halla que el T1 y T4 superan a los demás tratamientos con 1727.66 hojas y 1315.33hojas respectivamente. (Figura 4).

5.6. DENSIDAD ESTOMATICA.

Para dicha variable el análisis estadístico mostró que no se hallaron diferencias significativas entre los tratamientos, si embargo, las diferencias numéricas entre tratamientos indican que el tratamiento T1 (testigo) obtuvo el mejor resultado, con un 87.979561% de estomas. (Figura 5)

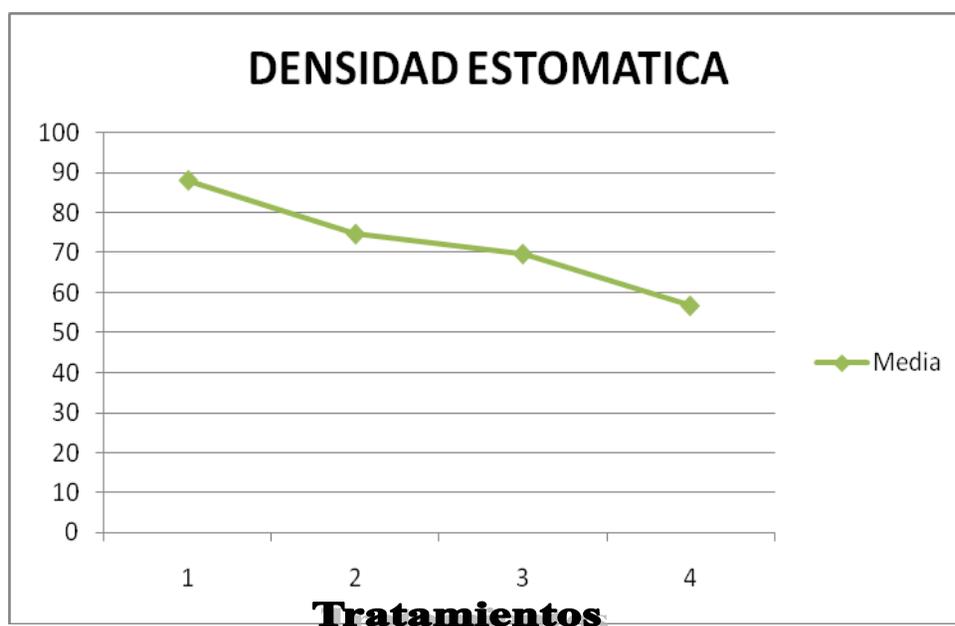


Figura 5. Comparación numérica de los tratamientos en la variable densidad estomatica, en Orégano Mexicano (*Lippia graveolens*) por el factor salinidad.

6. CONCLUSIONES

- En este apartado cabe mencionar que, para las variables de rendimiento, es decir, peso fresco y seco de la planta, el mejor tratamiento fue el T2 de la solución nutritiva (B, N, P, Fe, K, Cu, Ca, Zn, A, Mo, Mg, Mn), por su contenido de nutrientes supera considerablemente a los tratamientos que se hallaban bajo condiciones de estrés salino.
- Para la Variable Fotosíntesis los tratamientos T4 y T3 (NaCl), superaron a los demás tratamientos, ya que entre más estresada se halle la planta esta hará más asimilable el CO₂ disponible.
- En cuanto a la cantidad de estomas presentes, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, sin embargo, cabe mencionar que el tratamiento T1 (testigo absoluto) tuvo la mayor cantidad de estomas, esto es debido a que la planta de Orégano se desarrolla mejor en condiciones silvestres.

7. RECOMEDACIONES

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 des uniformiza la obtención de datos.

Otro punto que se le atribuye a este punto, es que se retrazaron las pruebas de fotosíntesis, puesto que las condiciones del tiempo no eran favorables para que esta fuera llevada a cabo.

8. 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, Salta Chihuahua, México.

9. ANEXOS.

ANVA

Peso fresco.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	16895.5000	5631.8334	6.5427	0.002*
Error	32	27545.0625	860.78320		
Total	35	44440.5625			

C.V. = 21.88%

Peso seco.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	2381.1250	793.7083	2.4813	0.078 NS
Error	32	10235.8593	319.8706		
Total	35	12616.9843			

C.V. = 27.57%

Clorofila.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	1.1776	0.3925	22.4647	0.001*
Error	8	0.1397	0.017		
Total	11	1.3174			

C.V. = 12.91%

Fotosíntesis.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	1048.6596	349.5532	7.9176	0.009*
Error	8	353.1904	44.1488		
Total	11	1401.8500			

C.V. = 25.45%

Área foliar.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	6952136.0	2317387.75	3.5530	0.067 NS
Error	8	5217792.0	652224.00		
Total	11	12169928.0			

C.V. = 32.89%

Densidad estomatica.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamientos	3	1506.9218	502.3072	1.4309	0.304 NS
Error	8	2808.4296	351.0537		
Total	11	4315.3515			

C.V. = 25.95%