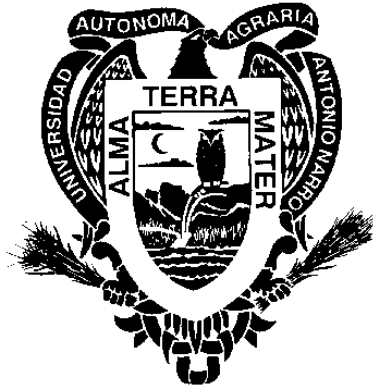


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**



Respuesta Bioquímica de los Carbohidratos en Agave (Agave tequilana Weber) a Diferente Concentración de Sodio y Potasio

Por:

ARTURO BARRAGÁN NARANJO

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

**BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO
DICIEMBRE DEL 2002**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

Respuesta Bioquímica de los Carbohidratos en Agave (Agave tequilana Weber) a Diferente Concentración de Sodio y Potasio

POR:

ARTURO BARRAGÁN NARANJO

T E S I S

Que somete a consideración del H. Jurado Examinador como
requisito parcial, para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA

APROBADA POR:

Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Presidente del Jurado

M.C. Rosalinda Mendoza Villarreal

Sinodal

M. C. Alberto Sandoval Rangel

Sinodal

M. C. Reynaldo Alonso Velasco

Sinodal

M. C. Leopoldo Arce González

Coordinador de la División de Agronomía

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO. DICIEMBRE DEL 2002

AGRADECIMIENTOS

A Díos, por brindarme paz y tranquilidad y que no permite que desfallezca en los momentos más difíciles de mi vida.

A mi ALMA TERRA MATER, por haberme permitido que terminara mi formación como profesionista dentro de sus aulas.

A mis asesores por todo el apoyo y sugerencias para la terminación de mi trabajo, y de manera en especial al Dr. Adalberto Benavides Mendoza a quien guardo gran estimación y admiración, M. C. Rosalinda Mendoza Villareal, M. C. Alberto Sandoval Rangel y M. C. Reynaldo Alonso Velasco.

A la M. C. Elizabeth Galindo Cepeda por su amistad y consejos durante mi estancia en la universidad.

A. T. L. Q. Ma. De Jesús Sánchez Velásquez por su amistad y valiosa ayuda en el laboratorio.

A los grupos de la especialidad de horticultura de la generación XCIV y de manera especial a los compañeros: Sesar Ojeda, Luis Alberto Solano, Juan Mendoza y Roberto Gómez.

DEDICATORIA

Primero quiero agradecer de manera muy en especial a mis padres y a mi familia por haberme permitido ser quien yo quise; por su confianza, amor y apoyo. Mis mas grandes agradecimientos.

Sr. Arturo Barragán Arreola

Sra. Yolanda Naranjo Ojeda

A MIS HERMANOS. Que siempre los amare y recordare toda la vida.

Pablo
Hugo
Patricia
Edmundo

Armando
Olivia
Yolanda

A MIS TIOS. Ma. Luisa, Mario, Juan, Baudelio, Cecilia, Beatriz, Ezequiel y Armida.

A TODOS MIS PRIMOS. Ezequiel, Julio Rodolfo, Belén, Ma. Magdalena, Daniela, Brenda, Rebeca, Luis, Fernando, Maria, Lily, Mario, Cristina, José, Juan Luis y Andrés.

A MI NOVIA. Ma. De Los Ángeles, que con su cariño y apoyo incondicional logré superar muchas cosas. Mil gracias por haberme permitido compartir contigo momentos inolvidables, de los cuales tengo muy bonitos recuerdos.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS.....	i
DEDICATORIA.....	ii
ÍNDICE DE CUADROS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos.....	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Origen e Historia.....	3
Importancia Económica.....	3
Situación Actual del Agave en México.....	3
Manejo en la Fertilización.....	5
Importancia del Sodio.....	6
Importancia del Potasio.....	8
Comportamiento de los Azúcares y Almidones en las Plantas.....	10

MATERIALES Y MÉTODOS.....	11
Localización Geográfica del Área Experimental.....	11
Diseño Experimental.....	11
Tratamientos.....	11
Establecimiento del Experimento.....	13
Riegos.....	14
Control fitosanitario.....	14
Control de plagas.....	14
Control de enfermedades.....	15
Control de malezas.....	15
Variables Evaluadas.....	16
Variables bioquímicas.....	16
Glucosa y Almidón (%).....	16
Azúcares solubles (%).....	17
Carbono orgánico (%).....	18
Variable de biomasa.....	18
Peso seco de la planta (g).....	18
Variables morfológicas.....	19
Diámetro de corona (cm).....	19
Cobertura de la planta (cm ²).....	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	20
Variables Bioquímicas.....	20
Glucosa.....	20

Almidón.....	21
Azúcares solubles.....	22
Carbono orgánico.....	22
Variables de Biomasa.....	24
Peso seco de la planta.....	24
Variables Morfológicas.....	25
Diámetro de corona.....	25
Cobertura de la planta.....	26
 CONCLUSIONES.....	 28
 LITERATURA CITADA.....	 29
 APÉNDICE.....	 31

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tratamiento 1. Solución Douglas.....	12
Cuadro 2. Tratamiento 2. Solución Douglas+Na.....	12
Cuadro 3. Programa de aplicación de insecticidas.....	14
Cuadro 4. Programa de aplicación de funguicidas y bactericidas.....	14
Cuadro 5. Prueba de comparación de medias en el tejido de la corona realizado en 2 muestreos, en <i>Agave tequilana</i> Weber.....	23
Cuadro 6. Prueba de comparación de medias en el tejido foliar realizado en 2 muestreos, en <i>Agave tequilana</i> Weber.....	24
Cuadro 7. Prueba de comparación de medias del peso seco de raíz, corona y hojas en <i>Agave tequilana</i> Weber.....	25
Cuadro 8. Prueba de comparación de medias en el diámetro de corona en <i>Agave tequilana</i> Weber.....	26
Cuadro 9. Prueba de comparación de medias para la variable cobertura en <i>Agave tequilana</i> Weber.....	27
Cuadro A1. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de glucosa en tejido de la corona.....	32
Cuadro A2. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de almidón en tejido de la corona.....	32
Cuadro A3. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de azúcares solubles en tejido de la corona.....	32
Cuadro A4. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de carbono orgánico en tejido de la corona.....	32
Cuadro A5. Cuadrado medio del análisis de varianza en el	

contenido de glucosa en tejido foliar.....	33
Cuadro A6. Cuadrado medio del análisis de varianza en el Contenido de almidón en tejido foliar.....	33
Cuadro A7. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de azúcares solubles en tejido foliar.....	33
Cuadro A8. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de carbono orgánico en tejido foliar.....	33
Cuadro A9. Cuadrado medio del análisis de varianza en diámetro de corona de la planta.....	34
Cuadro A10. Cuadrado medio del análisis de varianza en cobertura de la planta.....	34
Cuadro A11. Comparación de medias en el peso seco de raíz.....	34
Cuadro A12. Comparación de medias en el peso seco de corona.....	34
Cuadro A13. Comparación de medias en el peso seco de las hojas.	34
Cuadro A14. Comparación de medias del peso seco total de la planta.....	35

FIGURAS

Figura 1. Croquis de la distribución de los tratamientos.....	13
---	----

INTRODUCCIÓN

El agave en los últimos años se ha utilizado para la producción de tequila, razón por la cual genera una fuente de divisas para el país y empleo rural. Aproximadamente el 9 % de los costos de producción se derivan de la mano de obra.

En estudios recientes se ha comprobado que al tener una nutrición balanceada con sodio en cultivos como tomate, remolacha y especies del desierto, se han obtenido buenos rendimientos en la producción. Esto es dado que el sodio puede reemplazar en cierto porcentaje al potasio sobre todo en frutos carnosos.

Una adecuada nutrición, especialmente con potasio repercute en un mayor rendimiento en cultivos como mandarina y ajo. El aumento en rendimiento se debe a que el potasio es necesario para activar enzimas que catalizan reacciones para formar almidones, azúcares y proteínas además de regular el potencial osmótico de las células e intervenir en el metabolismo del N.

El agave a diferencia de otros cultivos requiere de ocho a diez años para su maduración y existe una demanda insatisfecha de este producto.

Consideramos que al manejar la nutrición y específicamente al agregar y mantener la relación sodio:potasio, se puede incrementar la síntesis de carbohidratos en el agave y reducir el tiempo a cosecha de este cultivo y de esta manera abastecer a este mercado.

Por lo tanto los **objetivos** de este trabajo son:

1. Estudiar el efecto del balance Na/K en la solución nutritiva sobre la acumulación de carbohidratos en las hojas y corona de plantas de *Agave tequilana* Weber.
2. Determinar la respuesta morfológica de las plantas a los mencionados cambios en la fertilización.

Hipótesis.

Al elevar el valor del cociente Na/K se incrementará la cantidad de carbohidratos solubles y por lo tanto el crecimiento de la planta.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen e Historia.

El agave (*Agave tequilana* Weber) es originario de mesoamérica. Dos razas fueron las que poblaron la región de los agaves durante los últimos 10 a 15 mil años. La primera plantación registrada fue la establecida por Pedro Sánchez de Tagle, en el estado de Jalisco cerca del año 1600. El principal productor de agave ha sido la *Casa Cuervo* desde 1758, para la producción del tequila.

Importancia Económica.

En México las regiones de mayor importancia donde se explota esta especie son: Jalisco, Nayarit, Guanajuato, Michoacán y Tamaulipas. Siendo Jalisco el que tiene mayor superficie cultivada con 21,132 has y con un rendimiento de 135 ton/ha registradas para 1999 (Claridades agropecuarias, 2000).

Situación Actual del Agave en México.

El agave enfrenta hoy en día una crisis productiva, por su excesiva

explotación por la demanda en la elaboración del tequila y el largo periodo de producción. Así como la falta de conocimientos en relación a los minerales que son indispensables como nutrientes esenciales, además de las pérdidas de plantas por la incidencia de plagas y enfermedades; todo esto es resultado de la escasa investigación y falta de transferencia de tecnología.

En cuanto a la investigación sobre genética se está trabajando principalmente en la reproducción por métodos biotecnológicos para reducir el periodo de producción (8 a 10 años).

La Universidad Autónoma de Chapingo después de 23 años de investigación logró producir plantas por medio de técnicas biotecnológicas de clonación en plantas madre de Amatitlán Jalisco. Obtuvieron una producción del 500 % por hectárea al pasar de 75 a 375 ton/ha, con un peso promedio por piña de 150 kg. y un contenido de azúcares de 50 % (Salinas, 2000).

Uno de los problemas que enfrenta el agave, son las enfermedades, tal es el caso del Sida del agave provocado por *Fusarium oxysporium* y anillo rojo por *Erwinia* sp. Dado este problema en el CINVESTAV de Irapuato Guanajuato, han sido desarrollados métodos de detección molecular específicos, que permiten saber si los rizomas seleccionados son portadores de la enfermedad (Martínez, 2000).

La Universidad de Guadalajara por un lado investiga sobre los efectos de la temperatura ambiental en la tasa fotosintética y respiratoria y su relación

con la acumulación de azúcares en el Agave (Claridades Agropecuarias, 2000).

Manejo en la Fertilización.

El Agave, es un cultivo capaz de adaptarse a suelos delgados poco profundos, pedregosos e inapropiados para otros cultivos; sin embargo no por ello se debe creer que es una planta con bajo requerimiento de nutrientes. En suelos con alto contenido calcáreo y provistos con buen contenido de nutrientes, se alcanza alta calidad y rendimiento. Suelos arenosos muy pobres, pueden proporcionar rendimientos remunerativos solo si se fertilizan adecuadamente con potasio y cal.

Aun cuando el agave puede sobrevivir a largos periodos de sequía, un adecuado abastecimiento de humedad, ya sea riego rodado o por goteo, asociado con una fertilización balanceada, son imprescindibles para lograr una buena cosecha. Así mismo esta planta es sensible al exceso de agua, razón por la cual los suelos pesados deficientemente drenados no son adecuados para la explotación de este cultivo.

Chirinos (2000) llevó a cabo un estudio en la extracción de nutrientes de la planta de *Agave tequilana* Weber durante su periodo de aprovechamiento (6 años) en una población de 3200 plantas/ha, menciona que requiere por hectarea 284 kg de N, 108 kg de P, 614 kg de K, 84 kg de Mg y 780 kg de Ca, para el sano desarrollo de las plantas y para tener buenos

rendimientos. Además recomienda realizar análisis foliares dado que es difícil encontrar una deficiencia visual.

Importancia del Sodio.

Salisbury y Ross (1994) mencionan que el sodio en las plantas C_4 es esencial para el transporte de CO_2 a las células de la vaina del haz para ser reducido a carbohidratos, sobre esta base podría decirse que el sodio es casi con seguridad esencial para especies C_4 en especial cuando crecen en las concentraciones de CO_2 relativamente bajas que existen en el aire normal. Pero si no se aplica sodio a las plantas en atmósferas con concentraciones altas de CO_2 , no se observa ninguna deficiencia, al igual se aplica sodio con atmósferas con concentraciones altas de CO_2 , las plantas muestran poca o ninguna respuesta dado que el CO_2 penetra por difusión en las células de la vaina del haz, evitando así la ruta C_4 .

El sodio (Na) no se considera un macronutriente pero si se puede considerar un micronutriente, ya que existen evidencias que sugieren que el sodio es necesario para numerosas especies del desierto, como *Atriplex vesicaria*. (Brownell y Crossland 1972) investigaron y revisaron la nutrición por sodio de 32 especies y concluyeron que las que tienen la ruta fotosintética C_4 probablemente necesitan Na^+ como micronutriente.

Los valores muy altos de sodio se relacionan negativamente con la productividad y calidad, sin embargo la respuesta depende de cada especie.

En algunas especies (sobre todo las que forman frutos carnosos) el sodio puede reemplazar en cierto porcentaje al potasio. (Benavides, 1999).

Un estudio de campo realizado en el norte de Alemania y Dinamarca (Haneklaus *et al.*, 1998) para fortalecer la importancia del equilibrio de sodio y potasio en el suministro de la remolacha. Se llevó a cabo para cuantificar el efecto de las aplicaciones de sodio respecto al rendimiento y calidad de la remolacha. Y se determinó que la fertilización con sodio, disminuyó los contenidos de potasio en las hojas de remolacha. El suministro de sodio adicional produce aumentos de rendimiento arriba de 87 dt ha⁻¹.

Papadopoulos *et al.* (1999) realizaron un trabajo donde evaluaron dos sales K₂SO₄ y NaCl, como materiales para complementar la solución nutritiva en el sistema NFT, y ver los rendimientos, crecimientos y calidad de fruta de tomate en invernadero, utilizaron una solución con CE de 1500 µS cm⁻¹ a un pH de 6.2. En 1995 el temprano rendimiento comercial fue significativamente bajo cuando se uso K₂SO₄ y la biomasa contenida en la fruta fue alta en el tratamiento de NaCl. En 1996 se determinó que la acumulación de peso de fruta no fue afectada y que el cloruro de sodio puede ser un sustituto parcial de macronutrientes en la solución recirculada del sistema NFT, mejorando la calidad de la fruta.

Importancia del Potasio.

Salisbury y Ross (1994) y Marschner (1986) mencionan que el K^+ activa una enzima llamada *almidón sintasa* que cataliza la síntesis de la formación de almidones en los cloroplastos a partir de difosfoglucosa de adenina (ADPG), siendo una de las razones por las cuales dicho ion es esencial para las plantas y que probablemente sean azúcares solubles y no almidones los que se acumulan en las plantas con deficiencia de K^+ .

Beridze (1988) aplicó fertilizantes en base a potasio a un cultivo de mandarina (*Citrus reticulata*) con lo cual aumentó su rendimiento de 16.2 a 24.8 ton/ha, además obtuvo mayor porcentaje de materia seca, mayor cantidad de carnosidad del fruto y un mayor contenido de vitamina C.

Ozawa y Tazuke (1990) sometieron varias especies de hortalizas a diferentes concentraciones de potasio (0.02, 0.3 y 1.0 ppm) observando la respuesta máxima en rendimiento al aplicar 1.0 ppm.

Hilman *et al.* (1988) reportaron un incremento en el peso seco de bulbos de ajo (*Allium sativum*) con un aumento de producción de 19.38 % al aplicar cloruro de potasio.

Demolon (1972) menciona que los papeles fisiológicos del potasio se relacionan, entre otras cosas, con la transpiración, el metabolismo de la presión osmótica y la turgencia celular. Esta ultima disminuye fuertemente

cuando falta el potasio, incluso en presencia de buenas cantidades de agua. Al parecer el efecto benéfico del potasio se manifiesta sobre todo en condiciones de aporte limitado de agua. Se ha observado, sobre todo en tierras ligeras que la aportación del potasio confiere a la planta cierta resistencia al marchitamiento y a la desecación precóz.

Tisdale y Nelson (1970) afirmaron que el potasio es imprescindible para las siguientes funciones fisiológicas:

- ♦ Interviene en la formación y transportación del almidón.
- ♦ Interviene en el metabolismo del nitrógeno y síntesis de proteínas.
- ♦ Controla y regula las actividades de varios elementos minerales esenciales.
- ♦ Promoción del crecimiento de los tejidos meristemáticos.
- ♦ Ajusta la apertura de los estomas y regulación hídrica.

El potasio (K^+) es muy soluble y está presente en el suelo y en la planta como (K^+ y K_2O). No forma parte de ninguna molécula estructural o reguladora, pero su presencia es necesaria para activar muchas enzimas que participan en la fosforilación oxidativa, tales como las de síntesis de fosfatos de alta energía y las de la respiración. Regula además el potencial osmótico, sobre todo en células oclusivas. Los valores altos se relacionan positivamente con la productividad y calidad. En particular valores altos de potasio y calcio determinan alta calidad nutricional y un buen desempeño en poscosecha. Debe cuidarse no tener un nivel muy alto de potasio respecto al sodio ya que origina restricciones en el transporte y excesiva acumulación de almidones

foliares con la siguiente susceptibilidad a plagas y patógenos. El manejo de la relación K/Na es clave en el manejo integrado de plagas como el ácaro de dos manchas (*Tetranychus urticae*) en el cultivo de la fresa. (Benavides, 1999).

Comportamiento de los Azúcares y Almidones en las Plantas.

En un estudio que se llevó a cabo en plantas de fresa en vivero destinadas a la reproducción clonal se observaron cambios ocurridos en la degradación y síntesis de almidones en corona, raíz, peciolo y tallos estoloníferos, se encontró que antes de plantar la fresa; hubo alta concentración de almidones en la médula de la corona y raíces, a partir de este punto la degradación de almidones en azúcares se desarrolló de manera lenta en un mes, presentándose baja en la reserva de almidones. Por tanto no tubo efecto sobre la producción de raigones hojas o raíces. Los aumentos se empezaron a observar dos meses y medio después, primero en raíces, médula de la corona, estolones y en el cortex apical (Benavides, 1999).

Nobel (1998) menciona que los azúcares se distribuyen como sacarosa por el floema, de las hojas hacia la raíz en plantas de agave y cactus y estos son utilizados por la mitocondria para producir ATP por vía de la respiración en los cloroplastos de las células del clorénquima durante la fotosíntesis o bien se pueden convertir en compuestos que llegan a ser parte del peso seco de la planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización Geográfica del Área Experimental.

El trabajo se realizó de septiembre del 2001 a mayo del 2002, en un invernadero. del Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. En Buenavista, Saltillo, Coahuila. México. El cual se localiza a una latitud norte de 55° 22' y una longitud oeste de 101° 00' a una altura de 1742 msnm.

Diseño Experimental.

Para el presente trabajo se utilizó el Diseño Completamente al Azar con la prueba de Diferencia Mínima Significativa (DMS) ($P \leq 0.05$) con 2 tratamientos y 8 repeticiones por tratamiento, cada repetición constituida de 5 plantas dando un total de 40 plantas por tratamiento. Las variables se evaluaron con el programa Statistica.

Tratamientos.

Para el primer tratamiento fue la solución Douglas baja en sodio y alta en potasio **siendo el testigo** y en el segundo tratamiento se utilizó la solución

Douglas alta en sodio. La dosis de cada tratamiento se muestran en los siguientes Cuadros:

Cuadro 1. Tratamiento 1. Solución Douglas.

Compuesto	Dosis (g/100 l agua)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	8.75
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	1.25
KNO_3	6.25
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0025
H_3BO_3	0.0125
$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.05
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.0125
$\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.000025
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.0125
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.25

Cuadro 2. Tratamiento 2. Solución Douglas+Na.

Compuesto	Dosis (g/100 l agua)
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	1.25
KNO_3	5
NaNO_3	3.75
$\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	5.75
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.0025
H_3BO_3	0.0125

$\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.05
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.0125
$\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.000025
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.0125
$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	1.25

La concentración en la solución alta en sodio se extrajo en base a un estudio preliminar realizado con tomatillo donde esta concentración resultó ser la que promovió mas acumulación de biomasa en las plantas (Benavides, datos no publicados.).)

Establecimiento del Experimento.

El área de la superficie utilizada en este experimento fue de 25.37 m², con una distancia entre hileras de 0.7 m y entre macetas de 0.2 m. Las plantas de agave se colocaron en bolsas con peat moss, la distribución de los tratamientos fue la siguiente:

-  = Tratamiento 1 Solución Douglas.

 = Tratamiento 2 Solución Douglas+Na

					2	1					
					1	2					
					2	1					
					1	2					
					2	2					
					1	2					
					1	1					
					2	1					

Figura 1. Croquis de la distribución de los tratamientos.

Riegos.

La tratamientos se aplicaron en los riegos, preparando la solución en 100 litros de agua por tratamiento y aplicando 2.5 l/planta estos se dieron cada 8 días durante todo el periodo del experimento.

Control Fitosanitario.

Control de plagas.

Para el control de *Maconellicoccus hirsutus* se aplicaron los productos que se muestran en el siguiente Cuadro:

Cuadro 3. Programa de aplicación de insecticidas.

Producto	Fecha de aplicación	Dosis
Furadan 300	25 de septiembre 2001	4 ml/ l
	25 de noviembre 2001	
Temik	15 de octubre 2001	3 g/ l
	15 de noviembre 2001	

Control de enfermedades.

Para el control de *Erwinia carotovora*, *Fusarium sp.* se utilizaron los productos que se encuentran en el siguiente Cuadro:

Cuadro 4. Programa de aplicación de funguicidas y bactericidas.

Producto	Fecha de aplicación	Dosis
Oxicloruro de cobre	30 de agosto 2001	30 ml/10 l de agua
	6 de septiembre 2001	
	15 de septiembre 2001	
	20 noviembre 2001	
	15 de enero 2002	
	20 de marzo 2002	
Tecto 60	30 de agosto 2001	10 g/10 l de agua
	20 de noviembre 2001	
	15 de enero 2002	
Prozycar 50 PH	6 de septiembre 2001	15 g/10 l de agua
	15 de septiembre 2001	
Tetraciclina	12 de octubre 2001	4 g/4 l de agua
	20 de enero 2002	

Control de malezas.

Se estableció un acolchado plástico como piso para evitar que las malezas emergieran. Las malezas que salieron en cada maceta, se realizó el deshierbe manualmente.

Variables Evaluadas.**Variables bioquímicas.**

Se tomaron 4 plantas al azar por tratamiento, se separaron las hojas de la corona y de cada planta se tomaron dos hojas intermedias, las cuales se colocaron en bolsas de papel e igual para la corona para luego llevarlas a analizar al laboratorio de apoyo a Investigación del Departamento de Ciencias Básicas. Se realizaron dos muestreos, uno el 23 de octubre del 2001 y el segundo el 15 de abril del 2002, donde se analizaron las siguientes variables:

Glucosa y Almidón (%).

Se analizaron de cada tratamiento y repetición las hojas y las coronas, pesando un gramo de muestra picada y fresca, al cual se le adicionaron 40 ml de HCl al 50 % en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se calentó por 60 minutos a ebullición y se filtró, el líquido se recibió en un matraz volumétrico de 100 ml, el matrás que contenía la muestra se lavó para remover todo el almidón que estaba adherido a las paredes del matrás hasta que se completó un volumen de 100 ml. Se determinó la glucosa en el filtrado, indirectamente por medio de la cuantificación de los azúcares reductores utilizando el Método de Felhing. Se tomaron 20 ml de solución (filtrado) y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, se añadieron 27 ml de CuSO_4 y 25 ml de tartrato de sodio y potasio (Sal de Rochelle), el matrás se cubrió con un vidrio de reloj y se calentó con un mechero Bunsen a ebullición (apareció un precipitado rojo) y enseguida se dejó por 2 minutos más a ebullición. Se filtro la solución poco a poco a través de un crisol de vidrio

previamente puesto a peso constante, de capa porosa. Se lavó el precipitado de Cu_2O con agua destilada. Posteriormente se colocó el crisol en una estufa a 100°C hasta que se obtuvo el peso constante. Los resultados se obtuvieron por medio de los siguientes cálculos:

Por diferencia de peso se obtuvo el Cu_2O y se convirtió a glucosa utilizando la tabla 52.019* de Hammer (AOAC), la glucosa que se obtuvo se multiplicó por 0.925 para convertirla en almidón. (AOAC, 1980).

Azúcares solubles (%).

Se pesaron 2 g de muestra (corona y hoja) de *Agave tequilana* Weber en una balanza analítica, previamente picados. Se depositaron en un dedal dentro de un sifón en un extractor Soxhlet, que se conectó a un matraz bola fondo plano de 250 ml de capacidad. Antes de conectar el matrás bola con el sifón debió estar a peso constante. Después se le añadieron 200 ml de alcohol al 80 %. Se conectó el aparato extractor al agua para enfriar el refrigerante, se encendieron las mantas de calentamiento para llevar a cabo el reflujo del material. Se extrajeron los azúcares solubles por 8 horas continuas. Se desconectó el matraz y sifón. Luego se eliminó el dedal con la muestra y se evaporó el solvente que contenía el matraz en un rotavapor hasta que se obtuvo el residuo de azúcares.

Se colocaron los matraces en la estufa a 80°C durante toda la noche, después en un desecador y se dejaron enfriar por 30 minutos y se pesaron en una balanza analítica. El proceso de pesada se llevó a cabo varias veces hasta obtener el peso constante. Se determinó la concentración por medio de la siguiente formula:

$$\% \text{ Azúcares solubles} = \frac{\text{PCMEA} - \text{PCMS}}{\text{GMS}} \times 100$$

Donde:

PCMEA = peso constante del matríz mas extracto de azúcares

PCMS = peso constante del matríz solo

GMS = gramos de muestra seca

Carbono orgánico (%).

Se pesaron 0.5 g de muestra (corona y hoja) en una balanza analítica, y se colocaron dentro de un crisol de porcelana tarado (a peso constante). Se marcó cada crisol para identificar las muestras. Cada crisol se colocó dentro de la mu  la fría, se subió gradualmente la temperatura hasta 470   C, cuando fue constante la temperatura, se dejo el crisol por una hora. Se apagó la mu  la y se dejó enfriar hasta una temperatura de 120   C. Se colocaron los crisoles que contenían las cenizas dentro de un desecador, se dejaron enfriar y se pesaron. La materia orgánica y carbono orgánico se calculó de la siguiente formula:

$$\text{Materia orgánica} = \frac{100 - (B - A)}{P} \times 100$$

$$\text{Carbono orgánico} = \% \text{ de Materia orgánica} \times 1.72$$

Donde:

B = Peso del crisol en gramos

A = Peso del crisol mas las cenizas obtenidas en gramos.

P = Peso de la muestra en gramos.

Variables de biomasa.

Peso seco de la planta (g).

Se eligieron al azar 8 plantas por tratamiento donde se separaron las hojas, corona y raíces de la planta. Las muestras se llevaron al laboratorio de Nutrición Animal, en donde se picaron y se colocaron por separado en papel aluminio para luego colocarlas en la estufa para el secado durante 72 horas para luego determinar el peso seco reportado en gramos.

Variables morfológicas.

Los datos se tomaron cada 15 días por la tarde, para la evaluación de los caracteres morfológicos como: diámetro de corona, y cobertura de planta.

Diámetro de corona (cm).

Se midió con un vernier el diámetro, que fue tomado de la base de la corona en un solo sentido, dicha variable se midió en cm.

Cobertura de la planta (cm²).

Se marcaron cuatro hojas, dos de norte a sur y dos de este a oeste, se midió la distancia que había entre puntas y la cobertura de la planta se reportó en cm².

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variables Bioquímicas.

Glucosa.

Al realizar el cuadrado medio del análisis de varianza para esta variable no se encontró diferencia significativa entre tratamientos pero si entre muestreos para el tejido de la corona (Cuadro A1), pero al realizar la comparación de medias (DMS); $P \leq 0.05$, no se observó diferencia entre muestreos. Sin embargo el contenido de glucosa fue mucho menor en el segundo muestreo según se aprecia en el Cuadro 5. Por otra parte en el tejido foliar si se observaron diferencias altamente significativas tanto entre muestreos y significativo entre tratamientos según el cuadrado medio del análisis de varianza (Cuadro A5). Estas diferencias fueron notables para las plantas con la solución Douglas+Na como se aprecia en el Cuadro 6. Estas diferencias en los contenidos de glucosa en el tejido foliar, se deben probablemente al hecho reportado de que al aumentar el cociente Na/K se acumulan los azúcares respecto a los almidones (Marschner, 1986). En cuanto a la corona la respuesta observada aunque no significativa fue contraria a la de las hojas. Es probable que el tiempo de respuesta de la corona sea mayor al de las hojas, es decir, que se requiera más tiempo para observar la respuesta a la fertilización diferencial y que lo que se observa es

la tendencia natural de la corona a disminuir el contenido de reservas de carbono liberando azúcares como la sacarosa, tal como lo describió para la fresa (Benavides, 1999). Los muestreos se realizaron en el término de un año después de modificar la fertilización, es muy posible que se requiera más tiempo considerando que el tiempo normal de crecimiento de la corona puede tomar hasta 7 años.

Almidón.

Al lleva a cabo el análisis de varianza en el porcentaje de almidón, se encontró diferencia significativa entre muestreos y no entre tratamientos en el tejido de la corona (Cuadro A2). Sin embargo al llevar a cabo la comparación de medias con diferencia mínima significativa (DMS); $P \leq 0.05$, no se observó diferencia entre muestreos. El contenido de almidón en el segundo muestreo fue mucho menor como se aprecia en el Cuadro 5. En cuanto al tejido foliar se observaron diferencias altamente significativas entre muestreos y significativo entre tratamientos según el cuadrado medio del análisis de varianza (Cuadro A6). Estas diferencias fueron notables en las plantas donde se aplicó solución Douglas+Na (Cuadro 6). El aumento en el cociente Na/K en la solución, dio lugar a la acumulación de almidones en el tejido foliar, probablemente este efecto tenga que ver con el papel que desempeña el sodio en la fotosíntesis y en la transportación de CO₂ a la vaina del haz para ser reducido en carbohidratos como lo menciona Salisbury, 1994.

Azúcares solubles.

Al llevar a cabo el cuadrado medio del análisis de varianza se encontró diferencia altamente significativa entre muestreos y no entre tratamientos para el tejido de la corona (Cuadro A3). Esta diferencia fue notable en el segundo muestreo observándose una mayor cantidad de azúcares solubles (Cuadro 5). El incremento en el contenido de azúcares solubles en el tejido de la corona en el segundo muestreo, fue probablemente debido a la degradación de los almidones y como consecuencia la liberación de azúcares solubles. Conforme la planta fue creciendo los azúcares se incrementaron se fueron utilizando como energía en la respiración o bien se pudieron convertir en compuestos que llegan a ser parte del peso seco de la corona como lo menciona Nobel (1998). Por otra parte, se encontró diferencia significativa entre muestreos y no entre tratamientos en el tejido foliar como se aprecia en el cuadrado medio del análisis de varianza (Cuadro A7). Al realizar la comparación de medias (DMS); $P \leq 0.05$, no se encontró dicha diferencia entre muestreos. Sin embargo el contenido de azúcares solubles, se incrementó en el segundo muestreo como se aprecia en el Cuadro 6. A pesar de que las diferencias no se detectaron estadísticamente.

Carbono orgánico.

El cuadrado medio del análisis de varianza en esta variable, indica que se encontró una diferencia altamente significativa entre muestreos y no entre tratamientos en el tejido de la corona (Cuadro A4). Esta diferencia se observa en el segundo muestreo mostrando un mayor contenido de carbono orgánico como se muestra en el Cuadro 5. Así mismo, se observó diferencia

altamente significativa entre muestreos y significativo entre tratamientos en el tejido foliar (Cuadro A8). La diferencia fue notable en el primer muestreo, observándose al inicio mayor porcentaje de carbono orgánico y una disminución en el segundo muestreo como se muestra en el Cuadro 6. Es probable que las diferencias descritas reflejen cambios en el contenido de carbono estructural (dedicado a paredes celulares) y no en carbohidratos de reserva o energéticos como almidones, azúcares solubles y otros carbohidratos.

Cuadro 5. Prueba de comparación de medias en el tejido de la corona realizado en 2 muestreos, en *Agave tequilana* Weber.

Muestreos	Tratamientos	%			
		Glucosa	Almidón	Azúcares solubles	Carbono orgánico
1	1	0.043 a	4.05 a	8.02 b	9.75 b
	2	0.041 a	3.83 a	7.97 b	8.60 b
2	1	0.028 a	2.70 a	11.75 a	17.63 a
	2	0.024 a	2.30 a	12.81 a	16.65 a

DMS ($P \leq 0.05$)

Cuadro 6. Prueba de comparación de medias en el tejido foliar realizado en 2 muestreos, en *Agave tequilana* Weber.

Muestreos	Tratamientos	%			
		Glucosa	Almidón	zúcares solubles	Carbono orgánico
1	1	0.042 b	3.94 b	5.48 a	7.03 a
	2	0.052 a	4.89 a	5.89 a	6.48 ab
2	1	0.009 c	0.92 c	7.27 a	6.07 bc
	2	0.013 c	1.16 c	7.43 a	5.66 c

DMS ($P \leq 0.05$)

Variables de Biomasa.

Peso seco de la planta.

Al realizar la comparación de medias (DMS); $P \leq 0.05$, indicó que hubo una diferencia significativa en el peso seco de la raíz (Cuadro A11) y no en corona y hojas (Cuadro A12 y A13). Esta diferencia fue notable para las plantas con la solución Douglas alta en potasio (Cuadro 7). Con respecto a lo mencionado por Papadopoulos *et. al.* (1999), de que el sodio aumentaba la biomasa de frutos de tomate y que al aplicar potasio no aumentó el peso, en esta investigación fue lo contrario por lo que la solución Douglas+Na mostró menor peso seco en la planta.

Cuadro 7. Prueba de comparación de medias del peso seco de raíz, corona y hojas en *Agave tequilana* Weber.

Tratamientos	Gramos			
	Raíz	Corona	Hojas	Total
1	27.63*	150.28NS	119.41NS	297.33NS
2	21.27	134.93	103.83	260.65
DMS ($P \leq 0.05$)				

Variables Morfológicas.

Diámetro de corona.

Al realizar el cuadrado medio del análisis de varianza se encontró una diferencia altamente significativa entre muestreos y no entre tratamientos para el diámetro de la corona (Cuadro A9). En donde el primer muestreo el diámetro fue menor que en los siguientes muestreos y siendo mayores estos e iguales entre sí (Cuadro 8). El aumento en el diámetro de la corona con respecto al tiempo, fue poco dado que solo se muestreó durante 3 meses. Es probable que se requiera mas tiempo para observar la respuesta a la fertilización y lo que se observa es la tendencia natural de la planta.

Cuadro 8. Prueba de comparación de medias en el diámetro de corona en *Agave tequilana* Weber.

Muestreos	Tratamientos	Diámetro (cm)
3	2	6.205 a
2	1	6.194 a
3	1	6.081 a
4	1	6.061 ab
4	2	6.035 abc
2	2	6.026 abc
1	2	5.576 bc
1	1	5.530 c

DMS ($P \leq 0.05$)

Cobertura de la planta.

Al realizar el análisis de varianza para esta variable se encontró diferencia altamente significativa tanto para muestreos como tratamientos (Cuadro A10). Esta diferencia es notable en el tercer y cuarto muestreo observándose un incremento de cobertura en la planta. Por otra parte se observó que la solución Douglas+Na incrementó la cobertura de la planta como se observa en el cuadro 9. El aumento en cobertura de la planta fue gradual en los dos tratamientos con respecto al tiempo. Es probable, que el sodio es requerido en el transporte del CO_2 al cloroplasto para ser reducido a carbohidratos. El sodio es esencial cuando las plantas crecen en concentraciones de CO_2 bajas que existen en el aire normal, como resultado se obtiene una mayor cobertura de la planta como ocurrió en el ensayo

“Función del Sodio como Micronutriente Vegetal” realizado por Browell P. F.
(Salisbury, 1994).

Cuadro 9.. Prueba de comparación de medias para la variable cobertura en *Agave tequilana* Weber.

Muestreos	Tratamientos	Cobertura (cm ²)
4	2	1434.88 a
3	2	1328.25 ab
4	1	1142.38 bcd
3	1	1045.61 cde
2	2	1037.55 de
2	1	874.12 ef
1	2	728.06 f
1	1	658.82 g
DMS ($P \leq 0.05$)		

CONCLUSIONES

La solución Douglas+Na (10.64 mg/l) produjo lo siguiente durante el experimento en relación al testigo (Douglas):

- En tejido de corona, no incrementó el contenido de glucosa y almidón; y provocó un incremento de 0.505 g de azúcares solubles /100 g de tejido, además el carbono orgánico disminuyó en 1.04 g/100 g de tejido.
- En tejido foliar, incrementó la glucosa en 7 mg/100 g de tejido; el almidón en 0.595 g/100 g y los azúcares solubles en 0.285 g/100 g, y el carbono orgánico disminuyó 0.48 g/100 g.
- En peso seco, disminuyó la raíz en 6.36 g, la corona en 15.35 g y las hojas en 15.58 g.
- No afectó el diámetro de la corona, durante los cuatro muestreos.
- En cobertura hubo un incremento de 201.5 cm² durante 3 meses.

LITERATURA CITADA

Association of Official Analytical Chemists. 1980. Methods of analysis 13th. Ed William Horwitz. Pp. 46 - 48; 125; 944 - 952.

Benavides, M. A. 1999. Bases fisiológicas de la nutrición de cultivos hortícolas.

<http://www.geocities.com/capecanaveral/runway/8787/bfisio.htm>

Beridze, Z. A. 1978. The effects of different rates of potassium on the chemical composition and mechanical and biochemical characteristics of mandarin fruits of different classes subtropics kultury. Pp. 111 - 116.

Brownell, P. F. and Crossland C. J. 1972. The requirement for Sodium as a micronutrient by species having the C₄ dicarboxylic photosynthetic path way. Plant Physiology 49: 794 - 797.

Claridades Agropecuarias. 2000. El agave tequilero pencas que abrazan al mundo. Revista de publicación mensual No. 87. SAGAR y ACERCA. México. D.F.

Chirinos, U. H. 2000. Fertilización de Agave.

<http://www.al-labs.com.mx/DOC/2-13.htm>

Demolon A. L. (1972). Crecimiento de vegetales cultivados. Ediciones Omega. España. Pp. 92 - 113.

Hilman *et al.* (1988). Equilibrium n, and k. Fertilisation trial on garlic in a rice field. Penelitian horticultural. Pp. (1) 48 - 53.

Haneklaus, S.; Knudsen, L. and Schnug, E. 1998. Relationship between potassium and sodium in sugar beet. *Communications-in-soil-science-and-plant-analysis (USA)*. v. 29(11/14). Pp. 1793 - 1798.

Marschner, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. Academic press inc (London) Ltd. Pp. 674.

Martínez, S. J. P. 2000. El sida del agave, realidades y mentiras. En *investigación y desarrollo, suplemento*. 2p. México.

Nobel, P. S. (1998). Los Incomparables agaves y cactus. Primera edición en español. Ed Trillas. México. Pp. 182 - 183.

Ozawa, T. and Tazuke A. (1990). The effect of potassium and calcium concentration in the nutrient solution on copper toxicities in vegetable crops. *Horticultural science*. 59. Pp. 365 - 370.

Papadopoulos, A. P.; Pararajasingham, S. and Hao, X. 1999. Fertiliser substitutions in hydroponically grown greenhouse tomatoes. *Horttechnology* january-march 1999. (1). Pp. 59 - 65.

Salinas, C. J. y Ramón, A. R. 2000. Investigación de la Universidad Autónoma de Chapingo: Proponen la biotecnología para superar la escasez de agave. *La Jornada*. 4 de agosto de 2000.

Salisbury, F. B. and Ross, C. W. 1994. Fisiología vegetal. Grupo Editorial Iberoamerica. México. Pp. 133 - 135; 270 - 273.

Tisdale, S. L. y Nelson, W. L. (1970). Fertilidad de los suelos y fertilizantes. Montaner y Simon S. A. Barcelona, España.

APÉNDICE

Cuadro A1. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de glucosa en tejido de la corona.

FV	GL	CM	F	P>F
Muestreo	1	0.001	6.004	0.029*
Tratamientos	1	0.000	0.264	0.616NS
Error	13	0.000		
Total	15			

CV = 37.20 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A2. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de almidón en tejido de la corona.

FV	GL	CM	F	P>F
Muestreo	1	8.309	5.967	0.029*
Tratamientos	1	0.375	0.269	0.612NS
Error	13	1.392		
Total	15			

CV = 36.64 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A3. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de azúcares solubles en tejido de la corona.

FV	GL	CM	F	P>F
Muestreo	1	73.231	64.753	0.000**
Tratamientos	1	1.025	0.906	0.358NS
Error	13	1.131		
Total	15			

CV = 10.49 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A4. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de carbono orgánico en tejido de la corona.

FV	GL	CM	F	P>F
Muestreo	1	253.764	39.889	0.000**
Tratamientos	1	4.536	0.713	0.413NS
Error	13	6.361		
Total	15			

CV = 19.17 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A5. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de glucosa en tejido foliar.

FV	GL	CM	F	P>F
----	----	----	---	-----

Muestreo	1	0.005	148.353	0.000**
Tratamientos	1	0.000	4.721	0.048*
Error	13	0.000		
Total	15			

CV = 18.87 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A6. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de almidón en tejido foliar.

FV	GL	CM	F	P>F
Muestreo	1	45.529	151.270	0.000**
Tratamientos	1	1.434	4.764	0.047*
Error	13	0.301		
Total	15			

CV = 20.11 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A7. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de azúcares solubles en tejido foliar.

FV	GL	CM	F	P>F
Muestreo	1	11.089	5.444	0.036*
Tratamientos	1	0.331	0.162	0.693NS
Error	13	2.037		
Total	15			

CV = 21.89 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A8. Cuadrado medio del análisis de varianza en el contenido de carbono orgánico en tejido foliar.

FV	GL	CM	F	P>F
Muestreo	1	3.173	16.765	0.001**
Tratamientos	1	0.905	4.781	0.047*
Error	13	0.189		
Total	15			

CV = 6.89 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A9. Cuadrado medio del análisis de varianza en diámetro de corona de la planta.

FV	GL	CM	F	P>F
----	----	----	---	-----

Muestreo	3	5.6069	4.749	0.003**
Tratamientos	1	0.0069	0.006	0.938NS
Error	282	1.1805		
Total	286			

CV = 18.22 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A10. Cuadrado medio del análisis de varianza en cobertura de la planta.

FV	GL	CM	F	P>F
Muestreo	3	4964647	33.625	0.000**
Tratamientos	1	2559223	17.333	0.000**
Error	271	147647		
Total	275			

CV = 37.26 %

NS = no significativo, ** = altamente significativo, * = significativo.

Cuadro A11. Comparación de medias en el peso seco de raíz.

Tratamientos	F(1,14)=4.63; p<0.0493
1	27.637*
2	21.274
CV = 26.94 %	

DMS ($P \leq 0.05$)

Cuadro A12. Comparación de medias en el peso seco de corona.

Tratamientos	F(1,14)=.58; p<0.4605
1	150.287NS
2	134.937
CV = 27.96 %	

DMS ($P \leq 0.05$)

Cuadro A13. Comparación de medias en el peso seco de las hojas.

Tratamientos	F(1,14)=2.26; p<0.1547
1	119.412NS
2	103.837
CV = 19.32 %	

DMS ($P \leq 0.05$)

Cuadro A14. Comparación de medias del peso seco total de la planta.

Tratamientos	F(1,14)=1.60; p<0.2263
1	297.337NS
2	260.049

CV = 21.56 %

DMS ($P \leq 0.05$)