



Universidad Autónoma del Estado de México



PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS AGROPECUARIAS  
Y RECURSOS NATURALES  
CENTRO UNIVERSITARIO TENANCINGO

Actividad antioxidante y productividad en *Ocimum basilicum*  
L. y *Solanum tuberosum* L. acondicionadas con vermicomposta

**Tesis**

Que para obtener el grado de

**MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

Presenta

**Diana Yatzil Reyes Araujo**

TUTORA ACADÉMICA:  
DRA. MARTHA ELENA MORA HERRERA

TUTORES ADJUNTOS:  
DR. JORGE ALBERTO LUGO DE LA FUENTE  
DR. PEDRO DEL AGUILA JUÁREZ

TENANCINGO DE DEGOLLADO, ESTADO DE MÉXICO, 2018

*La vida no es fácil, para ninguno de nosotros. Pero... ¡Qué importa! Hay que perseverar y, sobre todo, tener confianza en uno mismo. Hay que sentirse dotado para realizar alguna cosa y que esa cosa hay que alcanzarla, cueste lo que cueste.*

*Marie Curie*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al CONACYT y COMECYT por haber financiado gran parte de mis estudios de Maestría.

A la Universidad Autónoma del Estado de México por permitirme desarrollar mi formación en el Centro Universitario UAEM Tenancingo.

A la Doctora Martha Elena Mora Herrera por la oportunidad de realizar este trabajo, por sus consejos, por su amabilidad y sobre todo por la paciencia y dedicación al guiarme en esta investigación.

A los Doctores Jorge Alberto Lugo de la Fuente y Pedro del Aguila Juárez, por ser parte en mi formación, y por todo el tiempo que dedicaron a este trabajo de investigación.

A Santa Mayra Alcántar Acosta por ser parte importante en esta investigación, por su apoyo y paciencia.

A mis compañeros del laboratorio Nareb, Mayra y Araceli (Yocko) por todo el apoyo que me brindaron durante el desarrollo del experimento.

A mi familia por toda su fortaleza, soporte y comprensión en los momentos más difíciles de mi vida

## **DEDICATORIAS**

Dedico este trabajo a mis padres, a quienes admiro profundamente; y a quienes agradezco todo al amor, empeño y dedicación, por darnos siempre lo mejor; porque nos han acompañado con su enseñanza y consejos para ser mejores personas. Gracias por permitirme experimentar triunfos y fracasos, sin dejarme sola ni un solo momento.

Hoy puedo decir que gracias a ustedes puedo concluir este trabajo.

# ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ÍNDICE DE FIGURAS .....	9
ÍNDICE DE ANEXOS.....	11
RESUMEN.....	12
1 INTRODUCCIÓN.....	13
2 ANTECEDENTES .....	15
2.1 Aguas residuales.....	15
2.2 Lodos residuales .....	16
2.3 Alternativas del uso de lodos residuales.....	17
2.3.1 Suelos .....	17
2.3.2 Aplicación de lodos residuales en suelos de cultivo .....	17
2.4 Metales pesados.....	18
2.4.1 Fuentes de metales pesados.....	18
2.4.2 Efecto de los metales pesados en las plantas.....	18
2.5 Estrés oxidativo.....	20
2.5.1 Especies reactivas de oxígeno (EROs).....	20
2.5.2 Mecanismos de las EROs en el estrés oxidativo .....	21
2.6 Actividad antioxidante .....	22
2.6.1 Antioxidantes enzimáticos.....	23
2.6.1.1 Peroxidasas (POX).....	24
2.6.2 Antioxidantes no enzimáticos .....	24
2.6.2.1 Compuestos fenólicos .....	24
2.7 Vermicomposta.....	25
2.7.1 Estiércoles.....	26
2.7.2 Eisenia foetida.....	27
2.8 Albahaca.....	28
2.9 Papa.....	30
3 Justificación.....	32

4	<b>Hipótesis</b> .....	33
5	<b>Objetivos</b> .....	34
5.1	<b>General</b> .....	34
5.2	<b>Específicos</b> .....	34
6	<b>Materiales y Métodos</b> .....	35
6.1	<b>Material biológico y sustratos</b> .....	35
6.1.1	<i>Ocimum basilicum L.</i> .....	35
6.1.2	<i>Solanum tuberosum L.</i> .....	35
6.1.3	<i>Eisenia foetida</i> .....	35
6.1.4	<i>Lodos residuales</i> .....	35
6.1.5	<i>Estiércol</i> .....	36
6.1.6	<i>Suelo</i> .....	36
6.2	<b>Diseño experimental</b> .....	36
6.3	<b>Establecimiento del experimento</b> .....	36
6.4	<b>Descripción de los experimentos</b> .....	37
6.4.1	<i>Vermicompostaje</i> .....	37
6.4.1.1	Reproducción de <i>Eisenia foetida</i> .....	37
6.4.1.2	Precomposteo .....	37
6.4.1.3	Vermicomposteo .....	37
6.4.2	Albahaca ( <i>Ocimum basilicum L.</i> ) .....	38
6.4.3	Papa ( <i>Solanum tuberosum L.</i> ).....	39
6.4.4	<i>Técnicas utilizadas</i> .....	40
6.4.4.1	Caracterización de sustratos.....	40
6.4.4.2	Cuantificación de pigmentos fotosintéticos.....	40
6.4.4.3	Cuantificación de la actividad enzimática de las peroxidasas .....	40
6.4.4.4	Cuantificación de compuestos fenólicos totales.....	40
6.4.4.5	Cuantificación de la capacidad antioxidante DPPH.....	41
6.4.5	<i>Análisis estadístico</i> .....	41
7	<b>Resultados y discusión</b> .....	42
7.1	<b>Caracterización de sustratos</b> .....	42
7.2	<b>Elaboración de vermicomposta de lodo residual y estiércol equino</b> .....	44

7.2.1	<i>Evaluación del precomposteo</i> .....	44
7.2.2	<i>Evaluación del vermicomposteo</i> .....	45
7.3	<b>Evaluación de productividad</b> .....	47
7.3.1	Albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) .....	47
7.3.2	Papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.).....	50
7.4	<b>Cuantificación de unidades SPAD y pigmentos fotosintéticos</b> .....	52
7.5	<b>Actividad de la peroxidasa (POX) en plantas de <i>Ocimum basilicum</i> L.</b> .....	55
7.6	<b>Contenido de compuestos fenólicos totales en plantas de albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.)</b> .....	56
7.7	<b>Evaluación de la capacidad antioxidante en albahaca (<i>Ocimum basilicum</i> L.)</b> .....	57
8	<b>Conclusiones</b> .....	58
9	<b>Referencia</b> .....	59
10	<b>Anexos</b> .....	70

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Condiciones climáticas de la localidad de Santa Ana, Tenancingo de Degollado; durante los meses de estudio para el cultivo de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.). .....	38
<b>Tabla 2.</b> Condiciones climáticas de la localidad de Santa Ana, Tenancingo de Degollado; durante los meses de estudio para el cultivo de papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.). .....	39
<b>Tabla 3.</b> Determinación del contenido de materia orgánica (MO), pH, conductividad eléctrica (CE) y textura en el suelo, lodo residual y estiércol equino previo a la elaboración de la vermicomposta.....	42
<b>Tabla 4.</b> Tasa absoluta de crecimiento evaluada en la altura y peso en plantas de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) en el periodo otoño, medida en los cinco tratamientos de acuerdo con los índices de crecimiento empleados en fisiología vegetal y de cultivos de Hunt (1982)...	47
<b>Tabla 5.</b> Tasa absoluta de crecimiento evaluada en la altura y peso en plantas de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) durante el periodo invierno-primavera medida en los cinco tratamientos de acuerdo con los índices de crecimiento empleados en fisiología vegetal y de cultivos de Hunt (1982).....	48
<b>Tabla 6.</b> Tasa absoluta de crecimiento obtenidos para plantas de papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) evaluados en cuatro tratamientos de acuerdo con los índices de crecimiento empleados en fisiología vegetal y de cultivos de Hunt, 1982. ....	51
<b>Tabla 7.</b> Determinación de la actividad peroxidasa (POX) en plantas de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) primer y segundo periodo acondicionadas con vermicomposta de lodo residual y estiércol equino.....	55

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Esquema de lombriz de tierra ( <i>Eisenia sp</i> ; tomado de URL).....	27
<b>Figura 2.</b> Esquema de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) tomado de [URL].....	29
<b>Figura 3.</b> Esquema de papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.) Tomado de Huamman, 1986. ....	30
<b>Figura 4.</b> Monitoreo de pH (A) y temperatura (B) en el proceso del precomposteo del lodo residual y estiércol equino. ....	44
<b>Figura 5.</b> Evaluación del pH, conductividad eléctrica (CE) y materia orgánica (MO) durante el proceso de vermicompostaje.....	46
<b>Figura 6.</b> Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha <sup>-1</sup> ) en el número de hojas en plantas de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) en el primer periodo (A) y segundo periodo (B). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$ . ....	50
<b>Figura 7.</b> Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha <sup>-1</sup> ) en la productividad de tubérculos de papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.): número de tubérculos (A) y peso fresco de tubérculos (B). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$ .....	51
<b>Figura 8.</b> Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha <sup>-1</sup> ) en las unidades SPAD en plantas de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) durante el primer periodo (A) y segundo periodo (B); y en plantas de papa ( <i>Solanum tuberosum</i> L.; C). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$ .....	53
<b>Figura 9.</b> Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha <sup>-1</sup> ) en los pigmentos fotosintéticos: A) clorofila total, B) Clorofila <i>a</i> , C) Clorofila <i>b</i> y D) Carotenoides de plantas de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.; segundo periodo). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$ .....	54
<b>Figura 10.</b> Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha <sup>-1</sup> ) en el contenido de compuestos fenólicos de plantas de albahaca ( <i>Ocimum basilicum</i> L.) durante el primer periodo (A) y segundo periodo (B). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$ .....	56

**Figura 11.** Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha<sup>-1</sup>) en la actividad antioxidante (DPPH) en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) durante el primer periodo (A) y segundo periodo (B). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .....57

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Inclusión y propagación <i>in vitro</i> de acuerdo con Mora-Herrera y López-Delgado .....	70
<b>Anexo 2.</b> Preparación de sales de medio de cultivo Murashige y Skoog .....	71
<b>Anexo 3.</b> Medio de cultivo G para trasplante de papas (100% de sales) .....	72
<b>Anexo 4.</b> Disposición del diseño experimental en bloques.....	73
<b>Anexo 5.</b> Cálculo de la dosis para cada maceta .....	74
<b>Anexo 6.</b> Determinación de la textura del suelo por el procedimiento de Bouyoucos a través del método AS-09.....	75
<b>Anexo 7.</b> Método AS-02: Método electrométrico para la determinación del pH en muestras de suelo.....	77
<b>Anexo 8.</b> Conductividad eléctrica (CE), con el método AS-18.....	78
<b>Anexo 9.</b> Determinación de materia orgánica del suelo a través del método AS-07, de Walkley y Black. ....	79
<b>Anexo 10.</b> Determinación de actividad enzimática de Peroxidasa (POD, EC 1.11.1.7). ....	82
<b>Anexo 11.</b> Método de Folin-Ciocalteu para la cuantificación de compuestos fenólicos totales .....	84
<b>Anexo 12.</b> Capacidad antioxidante utilizando el método de DPPH.....	86
<b>Anexo 13.</b> Cuantificación de pigmentos para hoja de albahaca .....	87
<b>Anexo 14.</b> Índices de crecimiento empleados en fisiología vegetal y de cultivos .....	88

## RESUMEN

La reutilización de los lodos residuales y la posibilidad de aprovechar su contenido rico en nutrientes e implementarlos en suelos agrícolas, es una alternativa para su manejo y gestión, que contrarrestara su acelerada producción. En este estudio se evaluaron diferentes dosis de vermicomposta elaborada con lodos residuales y estiércol equino; con el objetivo de conocer el efecto en la actividad antioxidante, productividad y contenido de metales pesados en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.).

Los experimentos se establecieron a nivel invernadero utilizando suelo agrícola acondicionado con vermicomposta. Se realizó un diseño en bloques con 5 tratamientos y 6 repeticiones. Los tratamientos empleados fueron: Peat moss y agrolita (2:1) como control (C), Suelo agrícola ( $T_0$ ), Suelo + vermicomposta a  $20 \text{ t ha}^{-1}$  ( $T_{20}$ ), Suelo + vermicomposta a  $40 \text{ t ha}^{-1}$  ( $T_{40}$ ) y Suelo + vermicomposta a  $60 \text{ t ha}^{-1}$  ( $T_{60}$ ).

Para evaluar la productividad, se midieron parámetros de crecimiento (altura, peso, número de hojas y número y peso de tubérculos); para determinar el daño en las plantas se cuantificó la actividad POX; unidades SPAD y pigmentos fotosintéticos. Se determinó la capacidad antioxidante mediante el método DPPH y el contenido de compuestos fenólicos totales para evaluar el efecto de la adición de vermicomposta a través de respuestas del estrés oxidativo. Los resultados indican que la aplicación de vermicomposta a base de lodos residuales y estiércol equino en las 3 dosis utilizadas incrementa la productividad en las plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.), y las plantas y tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.) aumentando la tasa de crecimiento en longitud de la planta y peso total (peso fresco); del mismo modo se observa un incremento en la tasa fotosintética (pigmentos fotosintéticos). En cuanto a la actividad antioxidante, los resultados no muestran diferencias significativas con y sin la aplicación de la vermicomposta, por lo que su uso, además de aumentar la disponibilidad de nutrientes, no provoca estrés en las plantas.

# 1 INTRODUCCIÓN

Debido al acelerado aumento demográfico, la diversidad y complejidad de los procesos industriales y los requerimientos agroindustriales, el uso del agua se ha incrementado considerablemente; y en su reintegración a la naturaleza, frecuentemente contiene contaminantes que pueden alterar las condiciones para su reutilización (Lim *et al.*, 2016).

Por esta razón, se han establecido plantas tratadoras de aguas residuales, cuyo objetivo es remover los contaminantes del agua para poder reutilizarla y evitar daños al ambiente; pero durante el proceso de tratamiento se genera como subproducto lodos residuales, en los que se acumulan un alto contenido de materia orgánica, metales pesados y otros compuestos tóxicos que posiblemente no se removieron durante el proceso (Holguín-Calderón *et al.*, 2014).

Las concentraciones elevadas de metales en el ambiente causan fitotoxicidad, que se traduce en estrés oxidativo celular, que conduce a la señalización o daño oxidativo, la elevada producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y cambios en los sistemas de defensa antioxidativa en las plantas (Cuypers *et al.*, 2013). Esto significa la búsqueda de distintos tipos de aprovechamiento de los lodos residuales que reduzcan el impacto ambiental y generen un beneficio.

México es un país con una gran complejidad geológica y por ende edafológica; no obstante, tanto en México, como a nivel mundial, el suelo sufre una degradación acelerada como consecuencia principalmente de las diversas actividades humanas (Cárdenas-Jiménez *et al.*, 2004). La sobrepoblación y las actividades antropogénicas ha contribuido al deterioro del suelo, aceleran los procesos erosivos y la pérdida de elementos nutritivos; promoviendo el incremento de la aplicación de biocidas y fertilizantes industriales; que incrementar el rendimiento de los cultivos, pero también alteran las características físicas, químicas y biológicas de los suelos (Segura & Arriaga, 2003; Cruz-Ruiz *et al.*, 2015).

Un ejemplo de manejo de los lodos residuales es la estabilización mediante vermicomposteo y su incorporación a suelos. El uso de vermicomposta incluye cambios en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo y en el crecimiento de las plantas; como el aumento

de la biomasa microbiana y la presencia de reguladores y hormonas de crecimiento de las plantas; que son los principales mecanismos que podrían aumentar la producción de los cultivos, así también del abatimiento de agentes patógenos y quelación de metales potencialmente tóxicos (Arancon & Edwards, 2011; Vicencio-De la Rosa *et al.*, 2011; Holguín-Calderón *et al.*, 2014).

La disposición de los lodos residuales mediante la dispersión directa al suelo o por la aplicación después de la estabilización ha contribuido a la recuperación de la materia orgánica (MO; Alloway, 2013); también se ha demostrado los beneficios de usar lodos residuales como abono orgánico en el aumento del rendimiento y productividad de diversos cultivos (Sánchez *et al.*, 2004; Utria-Borges *et al.*, 2008; Rodríguez *et al.*, 2018).

## 2 ANTECEDENTES

### 2.1 Aguas residuales

En México, los recursos hídricos se encuentran bajo una creciente presión; el crecimiento demográfico, la urbanización y el incremento en el consumo de agua en los hogares, la agricultura y la industria, han aumentado significativamente su uso (De la Peña *et al.*, 2013). La norma oficial mexicana define a las aguas residuales como aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, de servicios, agrícolas, pecuarios, domésticos, y en general de cualquier otro uso, así como la mezcla de ellas (NOM-003-SEMARNAT, 1997).

Las diferentes actividades antropogénicas son las principales fuentes de contaminación de los cuerpos de agua; y la descarga directa a estos de las aguas residuales limita el uso del recurso para los diferentes usos productivos como el riego y la agricultura. La falta de un adecuado tratamiento y reúso de las aguas residuales conducen a la sobre explotación del recurso, la contaminación de ecosistemas, la degradación de los suelos y a un impacto negativo sobre la seguridad alimentaria. Ante esta problemática, el saneamiento de las aguas residuales adquiere mayor importancia para asegurar su recolección, conducción, tratamiento, y adecuada disposición en los cuerpos receptores, en condiciones que no perjudiquen al medio ambiente y la salud de la población (De la Peña *et al.*, 2013).

La Comisión Nacional del Agua (CONAGUA, 2017) establece que las aguas residuales deben de ser recibidas en plantas de tratamiento para la remoción de sus contaminantes, antes de su descarga a los cuerpos de agua.

Durante el proceso del tratamiento de aguas residuales se dividen en aguas crudas (sin tratamiento), contaminantes básicos (compuestos o parámetros que pueden ser removidos o estabilizados mediante procesos convencionales), y aguas residuales tratadas: manejadas mediante procesos físicos, químicos, y/o biológicos para hacerlas aptas para su reutilización (Morgan, 2010).

Lahera-Ramón (2010), menciona que durante el tratamiento de aguas residuales se utilizan tecnologías contaminantes, altas en uso de energía y que producen desechos tóxicos como

resultado de su operación. En México se colectan 426.6 m<sup>3</sup>/s de aguas residuales, de las cuales solo se tratan 199.5 m<sup>3</sup>/s. El residuo insoluble de este tratamiento de las aguas residuales es conocido como lodos residuales (Morgan, 2010).

## 2.2 Lodos residuales

Los lodos residuales son una valiosa fuente de N, P, Zn, Cu, Mn y MO, que con frecuencia tienen un valor de fertilización, significativo para las tierras agrícolas ya que mejoran sus propiedades físicas y la actividad biológica (Morgan, 2010). Sin embargo, estos acumulan contaminantes debido a la ruta de tratamiento de las aguas residuales; lo que hace necesario incorporar un manejo a este subproducto, principalmente enfocados en su estabilización y reducción en volumen (Rodríguez *et al.*, 2018).

En México, la generación excesiva de este subproducto y su alto contenido microbiológico, es una consecuente problemática ambiental, ya que gran parte de los lodos generados son descargados al drenaje o son desechados sin ningún tipo de tratamiento previo en presas, terrenos, o dispuestos en lagunas y rellenos sanitarios (Castrejón *et al.*, 2000).

Su eliminación y manejo presentan un desafío para muchos países, ya que las poblaciones humanas aumentan al igual que la intensidad de la cría de animales y las prácticas agrícolas. En México, alrededor de 650 000 toneladas de lodos residuales se producen cada año (Morgan, 2010; Tarango-Rivero *et al.*, 2011).

Se han establecido concentraciones máximas de "metales pesados" permitidos en los lodos residuales antes de ser aplicados a tierras agrícolas; estas regulaciones están destinadas a evitar la acumulación de concentraciones excesivas de elementos que podrían causar ecotoxicidad en los suelos y/o efectos fitotóxicos en los cultivos (NOM-004-SEMARNAT-2002).

Es necesario un tratamiento previo a la disposición final de los lodos residuales; y su estabilización permite un manejo adecuado. Procesos biológicos, como el vermicomposteo, es una alternativa viable para la estabilización, que a diferencia de los procesos fisicoquímicos, los lodos residuales estabilizados pueden ser utilizados (Vicencio-De la Rosa *et al.*, 2011; Sandoval, 2013).

## **2.3 Alternativas del uso de lodos residuales**

### **2.3.1 Suelos**

El suelo es un sistema compuesto de varios elementos (minerales, microorganismos, agua etc.) y en él, se presentan procesos de óxido-reducción, hidrólisis, precipitación, adsorción, absorción, entre otros (*Science Society of America*, 2015); este sufre una degradación acelerada, y en gran medida, está asociado a la producción alimentaria; la mayor parte de los cambios ocurridos en el suelo se deben a la alteración de la cobertura y la intensificación en su uso para la agricultura (FAO, 2015).

Los suelos cultivados de forma continua sufren problemas de degradación y pérdida de fertilidad, lo que ocasiona que el rendimiento en los cultivos decrezca, y debido a la lentitud de los procesos de recuperación de los suelos, se han implementado métodos que permitan restaurar la fertilidad mediante la reintroducción de MO y nutrientes en los suelos (Tello *et al.*, 2010).

### **2.3.2 Aplicación de lodos residuales en suelos de cultivo**

La disposición de los lodos residuales mediante la dispersión directa al suelo o mediante la aplicación después de la estabilización ha beneficiado la recuperación de MO (Alloway, 2013).

Se han realizado estudios que demuestran los beneficios de usar lodos residuales como abono orgánico, por ejemplo, Sánchez *et al.* (2004), mostraron que la aplicación de lodos residuales al suelo como abono aumenta el rendimiento de alfalfa; además de incrementar la producción de 17 a 31%, que es mayor a la que se obtiene por aplicación de fertilizantes inorgánicos. Para cultivos de tomate, fertilizados con lodos residuales se incrementa el área foliar, altura de la planta, diámetro del tallo y peso seco (Utria-Borges *et al.*, 2008). Y en rábano, la incorporación de lodos residuales aumenta el rendimiento del cultivo (Rodríguez *et al.*, 2018).

Por otra parte, la aplicación de lodos residuales a suelos agrícolas tiene sus riesgos, que incluyen la contaminación por organismos patógenos y parásitos, y la acumulación de nitratos, sales y metales pesados (Tarango-Rivero *et al.*, 2011).

## 2.4 Metales pesados

El término metales pesados se utiliza de forma general para denominar a todos aquellos elementos químicos cuyo peso específico es superior a  $5\text{g/cm}^3$ , o bien tiene un número atómico superior a 20, excluyendo metales alcalinos y alcalinotérreos; además de otras propiedades fisicoquímicas (peso y número atómico, reacción con otros elementos) y toxicológicas (Sepúlveda, 2005). En estudios ambientales, esta definición se amplía incluyendo a todos aquellos elementos metálicos que aparecen comúnmente asociados a problemas de contaminación. Algunos de ellos son esenciales para los organismos en pequeñas cantidades, como Fe, Mn, Zn, B, Co, As, V, Cu, Ni o Mo, que se vuelven nocivos cuando se presentan en concentraciones elevadas; otros, como el Cd, Hg, o el Pb no desempeñan ninguna función biológica y resultan altamente tóxicos (Ballesta, 2017).

### 2.4.1 Fuentes de metales pesados

La presencia de metales en el ambiente, ya sea por vía natural o antropogénica; produce contaminación cuando se genera una movilización en matrices de agua, suelo y aire.

Los metales pesados en el suelo procedentes de fuentes antropogénicas tienden a ser más móviles, y entre las fuentes antropogénicas que proporcionan metales pesados son: residuos industriales, fertilizantes, plaguicidas, biosólidos y estiércol (Ballesta, 2017).

### 2.4.2 Efecto de los metales pesados en las plantas

Para mejorar la absorción de nutrientes, la planta posee varios mecanismos para explorar el suelo en busca de minerales, como el desarrollo de raíces. Después de la absorción de metales por las plantas, estas utilizan diferentes estrategias para mantener la homeostasis del metal y limitar el daño celular inducido por el metal (Cuypers *et al.*, 2013).

Varios metales, como el Co, Fe, Mn, Mo, Ni, Zn, Cu; son micronutrientes esenciales que participan en reacciones redox, transferencias de electrones y otros procesos metabólicos importantes en las plantas. Por otro lado, los metales que se consideran no esenciales, como lo son el Pb, Cd, Cr, Hg, son altamente tóxicos para las plantas (Carbonell *et al.*, 2016).

Se ha observado que en suelos contaminados, la producción de los cultivos disminuye, debido a que los metales pesados presentan mayor solubilidad, mayor concentración y por

consiguiente mayor biodisponibilidad para las plantas, y por tanto, daños por toxicidad (Zúñiga, 1999).

Las concentraciones excesivas de elementos traza (Cd, Co, Cr, Hg, Mn, Ni, Pb y Zn) son tóxicas y conducen a la inhibición del crecimiento, la disminución de la biomasa y la muerte de la planta. Los metales pesados inhiben los procesos fisiológicos como la respiración, la fotosíntesis, el alargamiento celular, la relación planta-agua, el metabolismo y la nutrición mineral (Alloway, 2013).

Después de que las plantas absorben los metales, es importante mantener su concentración bajo un control estricto para evitar el daño celular inducido por el metal. El paso a través de la membrana plasmática por metales se potencia por la unión y el secuestro intracelular (Cuypers *et al.*, 2013).

El paso a través de la membrana plasmática por metales se potencia por la unión y el secuestro intracelular; una vez que atraviesa la membrana plasmática, los iones metálicos se unen a quelantes; que contribuyen a la desintoxicación del metal al amortiguar las concentraciones de metales libres citosólicos. Los quelantes entregan específicamente iones metálicos a orgánulos y proteínas que requieren metales; en diferentes ubicaciones subcelulares (Alloway, 2013).

Los metales activos como hierro (Fe), cobre (Cu), cromo (Cr), cobalto (Co) y otros metales experimentan reacciones cíclicas redox y por lo tanto poseen la capacidad de producir radicales reactivos tales como el radical anión superóxido y el óxido nítrico en sistemas biológicos. La interrupción de cualquier homeostasis de iones metálicos conduce al estrés oxidativo, un estado donde la formación aumentada de EROs supera la protección antioxidante del cuerpo y posteriormente induce daño al ADN, peroxidación lipídica, modificación de proteínas y otros efectos (Charles, 2012).

La fitotoxicidad producida por los metales pesados se traduce en estrés oxidativo celular que conduce a la señalización o daño oxidativo. Los metales pesados conducen a cantidades elevadas de EROs y cambios en los sistemas de defensa antioxidativa en las plantas (Cuypers *et al.*, 2013).

## 2.5 Estrés oxidativo

El estrés es un reflejo de la cantidad de "presión" del ambiente para generar un cambio en la fisiología de un organismo (Orcutt, 2000); el estrés establece un factor desfavorable ligado a la respuesta de la planta; es decir que puede ser cualquier factor ambiental biótico o abiótico que reduce la tasa de algún proceso fisiológico en un organismo (por ejemplo, crecimiento o fotosíntesis; Tambussi, 2004).

La oxidación, es un proceso electroquímico por el cual un ion o átomo pierde uno o varios electrones. Como resultado, se producen moléculas muy inestables, denominadas especies reactivas de oxígeno (EROs), que tienen electrones capaces de reaccionar con varios sustratos orgánicos, tales como lípidos, proteínas y ADN (Lozada & García, 2009).

En las plantas, cuando se producen más EROs de las que se metabolizan, se puede producir el estrés oxidativo (Csiszár *et al.*, 2005); que se define como el desequilibrio entre el aumento de los niveles de EROs, y una baja actividad de los mecanismos antioxidantes; un mayor estrés oxidativo puede inducir daño a la estructura celular y potencialmente destruir los tejidos (Charles, 2012).

### 2.5.1 Especies reactivas de oxígeno (EROs)

El oxígeno es una molécula básicamente oxidante, por lo que en las células que lo utilizan para su metabolismo es el principal responsable de la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO) (Avello & Suwalsky, 2006).

Las EROs son moléculas muy reactivas, de las cuales se reconocen dos clases: las de tipo radical libre y las de tipo no radical. Los radicales libres contienen uno o más electrones impares, con capacidad para neutralizarse entre sí y que, al reaccionar con  $O_2$ , forman radicales tipo peróxido (Lozada & García, 2009). En condiciones normales, las células metabolizan la mayor parte del oxígeno ( $O_2$ ) dando como resultado la formación de agua, sin formación de intermediarios tóxicos; mientras que, un pequeño porcentaje (en torno a 5%) están constituidos por tres intermediarios altamente tóxicos, dos de los cuales son radicales libres (anión superóxido y el hidroxilo; Avello & Suwalsky, 2006).

### 2.5.2 Mecanismos de las EROs en el estrés oxidativo

Apel y Hirt (2004), mencionan que el equilibrio entre la producción y la compactación de EROs puede ser perturbado por una serie de factores ambientales adversos. Las plantas también generan EROs mediante la activación de diferentes oxidasas y peroxidasas en respuesta a ciertos cambios ambientales., y el resultado de estas perturbaciones, es el aumento de los niveles intracelulares de EROs; conocido como "ruptura oxidativa".

Las condiciones externas que afectan negativamente a las plantas pueden ser bióticas, impuestas por otros organismos, o abióticos derivados de un exceso o déficit en el medio físico o químico (Apel & Hirt, 2004). Miranda y Castro (2000), mencionan que al generarse un estrés abiótico, las EROs se producen continuamente en el cloroplasto, mitocondria y peroxisomas, que en condiciones normales, esta producción y remoción de estas moléculas está estrictamente controlada. El desequilibrio producción-depuración puede ser perturbado por diversos factores fisicoquímicos.

En el caso del estrés biótico, se genera una de las respuestas más rápidas de defensa, llamada "explosión oxidativa", la cual constituye la producción de EROs, principalmente  $O_2$  y  $H_2O_2$  en el sitio de invasión (Miranda & Castro, 2000).

Tanto en el caso de factores bióticos como abióticos, la sobreproducción de dichas moléculas causan estrés oxidativo celular, aunque tales compuestos también parecen cumplir con la importante función de indicadores del estrés y segundos mensajeros en las cadenas de transducción de señales de respuesta al estrés (Benavides *et al.*, 2009).

Las EROs presentan una función dual, por una parte como señalizadores del estrés, por otra, como compuestos que causan la muerte celular, indicando que el control de su concentración por medio de sustancias antioxidantes, parece ocurrir debido, cuando menos, a dos mecanismos: uno que lleva a cabo el control fino de los niveles de las EROs para propósitos de señalización y el otro se encarga de la desintoxicación de estas moléculas producidas en exceso durante los eventos de estrés (Benavides *et al.*, 2009).

Al ser causantes de la muerte celular, las "EROs" desempeñan una función en el crecimiento y regulación de su producción en los diferentes compartimentos celulares, que es un factor

importante para la regulación de la morfología y la formación de diferentes órganos en la planta (morfogénesis; Miranda & Castro, 2000).

Las plantas cuentan con complejas combinaciones de características morfológicas, anatómicas, fisiológicas y rasgos de comportamiento que optimizan su aptitud bajo diversas condiciones ambientales (Orcutt, 2000).

Los principales sistemas de eliminación de EROs en las plantas son los antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos. Las principales enzimas antioxidantes con: superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX) y a la catalasa (CAT; Tambussi, 2004).

## 2.6 Actividad antioxidante

La función fisiológica de los eliminadores de radicales libres es prevenir daños a los componentes celulares, que surgen como consecuencia de reacciones químicas que forman radicales libres que está controlada de manera natural por diversos compuestos que son beneficiosos conocidos como antioxidantes (Akula & Odhav, 2008).

La función química de los antioxidantes es ceder potencial reductor a los compuestos oxidantes capaces de dañar a los componentes celulares (Benavides *et al.*, 2009); y la capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres (Avello & Suwalsky, 2006).

Otras definiciones hablan de antioxidante como cualquier sustancia que, al estar presente en bajas concentraciones comparada a las de un sustrato oxidable, previene o retarda la oxidación de dicho sustrato y protege a los sistemas biológicos frente a efectos potencialmente perjudiciales tanto de procesos como reacciones que causan excesivas oxidaciones (Cuevas *et al.*, 2008).

Los productos finales de esta reacción de disipación energética antioxidante-oxidante son comúnmente el  $O_2$  y el  $H_2O$ , acompañados de liberación de calor.

Los compuestos oxidantes más abundantes en las células vegetales se derivan de la activación de la molécula de oxígeno diatómico ( $O_2$ ), lo que da lugar a especies químicas parcialmente reducidas, como el oxígeno monoatómico y el radical superóxido, que constituyen las especies reactivas (o activas) de oxígeno (EROs) primarias. Las reacciones

posteriores de las especies reactivas de oxígeno primarias con los componentes celulares, forman otros radicales libres (radical hidroxilo HO-) u otros compuestos oxidantes como el peróxido de hidrógeno, que tienen carácter oxidante pero no son radicales libres (Benavides *et al.*, 2009)

El desequilibrio entre la producción de radicales libres y el sistema de defensa antioxidante podría causar un daño a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Las plantas a menudo contienen una amplia variedad de moléculas antioxidantes que están distribuidos en diferentes partes de la planta como en madera, corteza, tallo, vainas, hojas, frutos, raíces, flores, polen y semillas (Al-Mustafa & Al-Thunibat, 2008).

La función fisiológica de los eliminadores hidroxilo de radicales libres es prevenir daños a los componentes celulares que surgen como consecuencia de reacciones químicas que implican radicales libres; por lo que Akula y Odhav (2008), y Cuevas *et al.* (2008), mencionan que cuando los antioxidantes están presentes en bajas concentraciones en comparación con la de un sustrato oxidable, se retrasa significativamente o se inhibe la oxidación de ese sustrato, y también estabiliza las EROS mediante la cesión de un H<sup>+</sup> y las convierte en compuestos no radicales.

Si la disponibilidad de antioxidantes es limitada, este daño puede comenzar a acumularse y resulta en estrés oxidativo. Los antioxidantes son capaces de estabilizar, o desactivar los radicales libres antes del último ataque celular y objetivos biológicos (Akula & Odhav, 2008). Así también, cabe mencionar que Miranda y Castro (2000), indican que existen en las plantas mecanismos de protección que atrapan e inactivan eficientemente las ROS, y estos pueden ser enzimáticos y no enzimáticos.

### **2.6.1 Antioxidantes enzimáticos**

Los principales sistemas antioxidantes enzimáticos en plantas están constituidos por las enzimas superóxido dismutasa, ascorbato peroxidasa y catalasa. Otras enzimas implicadas en la eliminación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, que tienen un importante papel en la protección frente al estrés oxidativo son las guayacol-peroxidadas. Estas enzimas utilizan múltiples dadores electrónicos, principalmente compuestos fenólicos, para reducir el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Miranda & Castro, 2000).

### **2.6.1.1 Peroxidasas (POX)**

Las Peroxidasas (POX), están involucradas en el último paso para la polimerización de alcoholes cinámicos para formar lignina promoviendo el acoplamiento oxidativo de monolignoles (Cajuste & Lafuente, 2007). Tienen diversas funciones fisiológicas en las células vegetales y participa en muchas reacciones incluyendo lignificación (Macfarlane & Burchett, 2001); reticulación entre moléculas tales como lignina, suberina, hemicelulosas y ácido ferúlico y, por lo tanto, puede regular la plasticidad de la pared celular y alterar sus propiedades y la capacidad de las plantas para hacer frente a condiciones de estrés que causan daño celular (Cajuste & Lafuente, 2007).

La actividad enzimática de la POX está estrechamente correlacionada con los cambios en los procesos fisiológicos como son, la respiración, fotosíntesis, transpiración e intercambio gaseoso con consecuencias obvias de crecimiento y de la adaptación, y por lo tanto tiene el potencial para servir como un indicador sensible de la actividad metabólica comprometida (Macfarlane & Burchett, 2001); del mismo modo la peroxidasa puede desempeñar una función clave en el control de los niveles de radicales libres de oxígeno y el estrés oxidativo involucrados en la refrigeración (Cajuste & Lafuente, 2007).

### **2.6.2 Antioxidantes no enzimáticos**

Los principales antioxidantes no-enzimáticos incluyen compuestos como los tocoferoles, los flavonoides, los alcaloides y los carotenoides que se encuentran en las plantas en altas concentraciones y constituyen una primera línea de defensa (Miranda & Castro, 2000).

Otros sistemas, no enzimáticos, están conformados por compuestos como el glutatión reducido y las vitaminas C y E que estabilizan las EROs, que también provocan la quelación de iones metálicos de elementos de transición como hierro y cobre, que al estar en estado reducido potencian su autooxidación y promueven la generación de anión superóxido (Cuevas *et al.*, 2008).

#### **2.6.2.1 Compuestos fenólicos**

Los compuestos fenólicos, también llamados metabolitos secundarios, son cruciales para muchos aspectos funcionales importantes de la vida vegetal, incluidas las funciones estructurales en diferentes tejidos de apoyo o de protección, participación en las estrategias

de defensa y señalización, sobre todo en las interacciones planta-ambiente (Pérez-Tortosa, 2008).

Estos compuestos están extensamente distribuidos en el reino vegetal, y tienen una actividad antioxidante al eliminar los radicales libres (Al-Mustafa & Al-Thunibat, 2008).

El término "polifenoles" incluye más de 8.000 compuestos con gran diversidad estructural (cada uno tiene al menos un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo). Se pueden dividir en 10 clases diferentes en función de su estructura química básica (Pérez-Tortosa, 2008).

Los compuestos fenólicos son producidos por las plantas a lo largo de su desarrollo para funciones como: la defensa contra los microorganismos, insectos o herbívoros; ayudan a la disponibilidad de nutrientes, y en la protección de exposición a la radiación ultravioleta (Nguyen & Niemeyer, 2008).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe principalmente a sus propiedades redox, que les permiten actuar como agentes reductores, donantes de hidrógeno, y desactivadores del oxígeno monoatómico. Además, tiene potencial de quelación de metales (Akula & Odhav, 2008).

## **2.7 Vermicomposta**

El vermicompostaje es una técnica que se utiliza para transformar los residuos sólidos orgánicos en abonos orgánicos cuyas características físicas, químicas y biológicas inciden directamente en el mejoramiento del suelo y en el crecimiento de las plantas (Acosta-Durán, *et al.* 2013); este es un proceso de bio-oxidación y estabilización de la MO, mediado por la acción metabólica combinada de lombrices y microorganismos, obteniendo como resultado un producto orgánico con alto valor agronómico (Loza-Murguía *et al.*, 2011).

El uso de la lombriz en el manejo de los lodos residuales, se ha denominado "vermiestabilización" (Gupta & Garg, 2008); en la que se estabilizan de manera efectiva los lodos residuales (Suthar *et al.*, 2014).

Acosta-Durán *et al.* (2013), indican que para evitar desechos que perjudiquen al ambiente durante el vermicompostaje, el sustrato utilizado para alimentar a las lombrices debe pasar

por un periodo previo de compostaje, conocido como precompostaje; este proceso es determinante para el establecimiento, reproducción y aumento del peso promedio de la lombriz.

La utilización de vermicomposta puede aumentar drásticamente la producción de cultivos de invernadero, produciendo tasas de germinación más rápidas, crecimiento de plántulas, aumento de áreas foliares y alturas de plantas, número de flores, más frutas y mayores rendimientos en general. El uso de vermicomposta incluye cambios en las propiedades físicas, químicas y biológicas en los suelos como el aumento de la biomasa microbiana y la presencia de reguladores del crecimiento de las plantas y las hormonas de crecimiento de las plantas; que son los principales mecanismos que podrían aumentar la producción de los cultivos (Arancon & Edwards, 2011).

El vermicomposteo no solo es rápido, fácilmente controlable y rentable, sino que también es el reciclaje más eficiente del material orgánico, y nutrientes. El resultado es un producto homogéneo, con niveles reducidos de contaminantes y altos contenidos de nutrientes solubles y disponibles (Hait & Tare, 2011).

Hernández-Herrera *et al.* (2005), mencionan que la aplicación de abonos orgánicos de lodos residuales y estiércol bovino, mostraron una mayor producción, en comparación con los fertilizante químicos; además de que la adición de abonos orgánicos o químicos, no influyó en el contenido de metales pesados en la parte aérea y en la raíz del cultivo de sorgo.

La aplicación de abonos orgánicos producidos a partir de residuos sólidos orgánicos mediante vermicomposteo es una de las formas de mantener la fertilidad del suelo y reducir la contaminación de este (Sartaj *et al.*, 2017).

### 2.7.1 Estiércoles

El estiércol constituye la principal fuente de materia orgánica utilizada para aumentar o restaurar la fertilidad de los suelos cultivados, empobrecidos tras un cultivo continuado (Tello *et al.*, 2010).

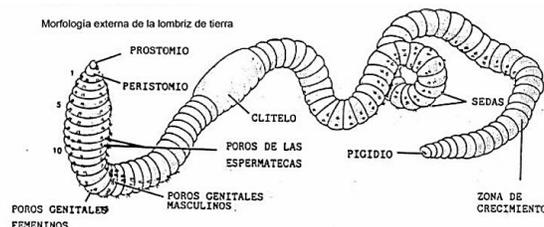
Arellano-Arciniega *et al.* (2015), mostraron que en cultivos de frijol, la aplicación de estiércol, proporcionan nutrientes, aumenta el contenido de MO y el de nitratos en el suelo; teniendo un incremento en el rendimiento de los cultivos.

Sharma (2003), comparó el efecto de la urea y dos vermicompostas (estiércol de conejo y contenido ruminal bovino) en la productividad de albahaca. Sus resultados indican que el uso de vermicomposta incrementa el número de hojas y la superficie de estas, además de encontrar un aumento en el contenido de clorofila, en comparación con las plantas tratadas con urea y control.

Debido a que las reglamentaciones para la aplicación y disposición del estiércol se han vuelto cada vez más rigurosas, en los últimos años ha crecido el interés por utilizar las lombrices (*Eisenia foetida*) como un sistema ecológicamente seguro para manejar el estiércol y una amplia gama de residuos orgánicos (Delgado-Arroyo *et al.*, 2004).

### 2.7.2 *Eisenia foetida*

Las lombrices de tierra son anélidos oligoquetos clitelados macroscópicos (Figura 1), que viven en el suelo. Son gusanos segmentados, bilateralmente simétricos, con una glándula externa (clitelo) para producir capullos, un lóbulo sensorial en la parte frontal de la boca (prostomio) y un ano en el extremo del cuerpo del animal, con un pequeño número de cerdas (setas) en cada segmento (Dominguez & Edwards, 2010).



**Figura 1.** Esquema de lombriz de tierra (*Eisenia sp*)

Son animales hermafroditas, y la reproducción normalmente ocurre a través de la copulación y la fertilización cruzada. Cada individuo produce capullos que contienen 1-20 óvulos fertilizados. Las lombrices de tierra muestran un crecimiento indeterminado y pueden seguir creciendo en tamaño después de completar su desarrollo sexual, aunque no agregan segmentos (Dominguez & Edwards, 2010).

Las lombrices de tierra ocupan diferentes nichos ecológicos y han sido clasificadas, en base a sus estrategias de alimentación y madriguera, en tres categorías ecológicas: epígena,

anécica y endógena. Las especies endógeas (alimentadores del suelo) y anécicas (madrigueras) viven en el suelo y consumen una mezcla de suelo y materia orgánica, y así excretan las heces organominerales. Las especies epífitas de lombrices viven en horizontes de suelo orgánicos, en o cerca de la cama de la superficie, y se alimentan principalmente de materia orgánica en partículas gruesas (Gunadi & Edwards, 2003).

La producción de capullos, las tasas de desarrollo y el crecimiento de las lombrices son críticamente afectadas por las condiciones ambientales. Las lombrices epígeas son relativamente tolerantes a las condiciones ambientales de los desechos orgánicos, pero se ha demostrado claramente que tienen límites bien definidos de tolerancia a los parámetros ambientales, tales como:

- Temperatura: Tienen un rango de temperaturas de 15 a 25 °C-, inferiores a 10 °C provoca una alimentación reducida o escasa; y por debajo de 4 °C, la producción de capullo y el desarrollo de lombrices jóvenes cesa por completo (Singh *et al.*, 2016).
- Humedad: El rango óptimo está entre el 50% y el 90% (Singh *et al.*, 2016).
- pH: Toleran niveles de 5-9, con preferencia de 5 a 7 (Arancon & Edwards, 2011).
- Aireación: las lombrices son muy sensibles a las condiciones anaeróbicas ya que carecen de órganos respiratorios especializados. Por lo que el agotamiento de oxígeno o acumulación de dióxido de carbono puede ocasionar migración (Arancon & Edwards, 2011).

## 2.8 Albahaca

La albahaca (*Ocimum basilicu* L.) es una hierba anual, originaria de la India, donde sus usos medicinales y aromáticos se conocen desde hace varios milenios. Actualmente es cultivada en todo el mundo, adoptada por su uso ornamental, culinario y medicinal; apropiada por florecer bajo una gran variedad de condiciones de crecimiento (Hiltunen & Holm, 2003).

*Ocimum basilicum* L. es una planta herbácea glabra, con tallos erectos que puede crecer entre 30 y 90 centímetros. Sus hojas son ovadas, lanceoladas, dentadas o enteras, glabras en ambas

superficies. Las flores son de color blanco o amarillo pálido púrpura y nacen en largas inflorescencias racemosa terminales (Figura 2; Kuruppacharil, 2012).



**Figura 2.** Esquema de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) tomado de [URL]

La albahaca, al igual que otras plantas dentro de esta familia es una fuente rica en compuestos fenólicos; sus altas concentraciones tienen propiedades antioxidantes (Pushpangadan & George, 2012).

La albahaca es utilizada por sus aceites esenciales (1%); y los principales constituyentes del aceite son linalool, metilchavicol, eugenol, 1,8-cineol. Como componentes nutricionales la albahaca contiene 14% en proteína, carbohidratos 61%, vitamina A y C y ácido rosmarínico. El extracto acuoso de albahaca contiene azúcares reductores, glucósidos cardíacos, taninos, saponinas, glucósidos, flavonoides y esteroides (Charles, 2012).

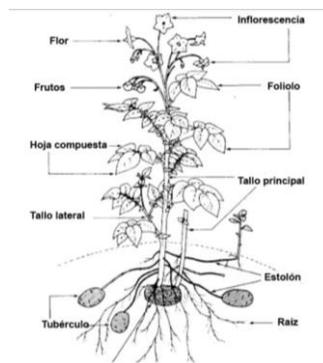
Ciertas variedades de albahaca tienen también importantes niveles de antocianinas, que tienen diversas funciones dentro de las plantas, que van desde las funciones de protección y de defensa para facilitar el crecimiento, el desarrollo y la reproducción (Pushpangadan & George, 2012).

Los aceites esenciales de diferentes especies de *Ocimum* exhiben una fuerte capacidad antioxidante, que también se ha atribuido a los flavonoides y antocianinas. Se encontró una alta actividad fenólica en albahaca, incluso mayor a la rosa mosqueta, y similar a la frambuesa roja. El ácido rosmarínico en la albahaca y otras hierbas de la familia Lamiaceae son el principal compuesto antioxidante, con un efecto citoprotector (Charles, 2012).

## 2.9 Papa

La papa (*Solanum tuberosum* L.) pertenece a la familia Solanaceae. Se originó y fue domesticada por primera vez en las montañas de los Andes de Sudamérica, con más de 4,000 variedades comestibles con diferentes tamaños, colores y formas (CIP, 2018).

Son hierbas perennes (cultivadas como anuales) de 0.40-1.4 m de alto, robustas, produciendo tubérculos. Tallos 30.0-60.0 cm largo, gruesos o débiles, erectos, alados, pubescentes o glabros, verdes a púrpura. Hojas alternas; folíolos 5-9, hasta 8.0 cm de largo y 4.5 cm de ancho, enteros, agudos, ovados o cordados, cortamente peciolulados, a menudo con folíolos pequeños en los peciólulos, el folíolo terminal más grande; folíolos intersticiales algunas veces presentes; hojas pseudoestipulares falcadas 1.0 cm largo (Figura 3; Huamán, 1986)



**Figura 3.** Esquema de papa (*Solanum tuberosum* L.) Tomado de Huamman, 1986.

De acuerdo con el Centro Internacional de la Papa, la papa es el tercer cultivo alimenticio más importante del mundo en términos de consumo humano después del arroz y del trigo; con una producción total mundial que sobrepasa los 300 millones de toneladas métricas (CIP, 2018).

Debido a la amplia gama de altitudes en las que la papa se cultiva, tanto en continente americano como en Europa, el resultado es una gran diversidad morfológica en los tubérculos (colores, formas y sabores), la existencia de variedades con ciclos de vida de diferente duración, así como la de numerosas variedades locales con características agronómicas sobresalientes (resistencia a enfermedades), que indican claramente la prominente variación genética de sus poblaciones, aunado a ello, la presencia de

poblaciones silvestres presentes en distintas regiones de América, que dan la pauta para el mejoramiento genético de esta especie (CIBIOGEM-CONABIO, 2012).

Aproximadamente 1.4 mil millones de personas alrededor del mundo consumen papa como alimento básico, y la producción total del cultivo sobrepasa los 300 millones de toneladas métricas. La papa es esencial en términos de seguridad alimentaria frente al crecimiento de la población y al aumento de las tasas globales de hambre (CIP, 2018).

### 3 Justificación

El impacto de la contaminación ambiental y el cambio de uso de suelo han degradado la calidad de los suelos, esto se refleja en el número de suelos cultivables y en la producción agrícola; actualmente los cultivos se limitan a alrededor de 25% de su potencial de rendimiento.

A pesar de que México se caracteriza por ser un país con una gran diversidad edafológica; el suelo está sufriendo una degradación acelerada como consecuencia principalmente de diversas actividades antropogénicas; y en gran medida, este deterioro se encuentra asociado a las actividades habitualmente utilizadas en la agricultura. El desconocimiento de las diferentes alternativas de manejo de suelo se traduce en una pérdida irreversible.

En la actualidad se han implementado numerosos y diversos enfoques que promueven el manejo sostenible de los suelos; las respuestas más evidente es la posibilidades de conservar el suelo, detener la degradación y restaurar la materia orgánica.

En México, los lodos residuales representan un problema debido a la acelerada acumulación y la inadecuada disposición; además de un riesgo por su alto contenido microbiológico. Gran parte de los lodos generados son descargados al drenaje o son desechados sin ningún tipo de tratamiento previo, que en el mejor de los casos, han sido dispuestos en lagunas y rellenos sanitarios. La forma de disponer adecuadamente del lodo residual y darle un valor agregado es mediante su estabilización por vermicomposteo; que puede ser usado para mejorar la calidad del suelo.

## 4 Hipótesis

Los lodos residuales junto con el estiércol equino se estabilizan por vermicomposteo, y estos pueden mejorar las propiedades físicas y biológicas de los suelos incrementando la productividad de los cultivos de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.) sin ocasionar estrés oxidativo.

## 5 Objetivos

### 5.1 General

- Evaluar el efecto de la aplicación de vermicomposta elaborada con estiércol equino y lodo residual en la productividad y la actividad antioxidante en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.) en condiciones de invernadero.

### 5.2 Específicos

- Elaborar y caracterizar la vermicomposta con lodo residual y estiércol equino.
- Evaluar la productividad a través de la tasa de crecimiento en albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.) cultivadas con vermicomposta.
- Cuantificar las unidades SPAD, pigmentos fotosintéticos y la actividad enzimática de peroxidasa (POX), contenido de compuestos fenólicos totales y la capacidad antioxidante DPPH en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.).
- Cuantificar las unidades SPAD en plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.).

## 6 Materiales y Métodos

El estudio se llevó a cabo en el Centro Universitario Tenancingo de la Universidad Autónoma del Estado de México, carr. Tenancingo-Villa Guerrero Km. 1.5, Tenancingo, Estado de México; en las coordenadas geográficas 18°58'1" norte y 99°36'44" longitud oeste; a una altura de 2020 m.

### 6.1 Material biológico y sustratos

#### 6.1.1 *Ocimum basilicum* L.

Se utilizaron plantas de albahaca de variedad fina verde, categoría semilla declarada, con un porcentaje de germinación de 90%, pureza de 99% de origen francés, obtenido de la Distribuidora Rancho Los Molinos S.A. de C.V., con número de lote 1094.

#### 6.1.2 *Solanum tuberosum* L.

Yemas de tubérculos brotados de papa (*Solanum tuberosum* L.) de la variedad Citlali del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias en Metepec, México; se incluyeron a condiciones *in vitro* en el Laboratorio de Biotecnología y Fisiología Vegetal del Centro Universitario Tenancingo de la Universidad Autónoma del Estado de México.

#### 6.1.3 *Eisenia foetida*

Se obtuvieron lombrices de la especie *Eisenia foetida* mediante la reproducción de 20 organismos en edad reproductiva proporcionados por el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México.

#### 6.1.4 *Lodos residuales*

El lodo residual fue proporcionado por la planta tratadora de aguas residuales municipales Toluca Norte; los cuales se obtuvieron del filtro prensa de la planta perteneciente a la empresa Operadora de Ecosistemas S.A. de C.V. La muestra se secó al aire, se homogenizó, dispersó y finalmente se tamizó con una malla de 2 mm. Una parte del lodo se utilizó para el análisis químico y el resto para el desarrollo del experimento.

### 6.1.5 Estiércol

El estiércol de caballo se obtuvo del Hípico de la facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México.

### 6.1.6 Suelo

Las muestras de suelo se obtuvieron de una zona productora de papa cultivada durante seis años sin descanso perteneciente a Santa Cruz Pueblo Nuevo, Tenango del Valle con coordenadas geográficas de 19°10'00" latitud norte y a los 99°65'80" de longitud oeste, a una altura de 2880m.

## 6.2 Diseño experimental

Para conocer el efecto de la vermicomposta sobre la productividad de *Ocimum basilicum* L. y *Solanum tuberosum* L., se empleó un diseño en bloques (Anexo 4), con cinco tratamientos y seis repeticiones para cada uno. Los tratamientos evaluados fueron:

- C: Peat moss + agrolita 2:1 (control)
- T<sub>0</sub>: Suelo agrícola
- T<sub>20</sub>: Suelo + vermicomposta a 20 t ha<sup>-1</sup>
- T<sub>40</sub>: Suelo + vermicomposta a 40 t ha<sup>-1</sup>
- T<sub>60</sub>: Suelo + vermicomposta a 60 t ha<sup>-1</sup>

## 6.3 Establecimiento del experimento

Para determinar la cantidad de vermicomposta para cada maceta por tratamiento se calculó el área de la maceta y el porcentaje de humedad; las dosis por tratamiento se observan en el anexo 5.

Las macetas fueron llenadas con agrolita (para promover la filtración del agua), suelo (proporción 1:5 en peso seco) y la dosis de vermicomposta (0, 20, 40 o 60 t ha<sup>-1</sup>); y colocadas en camas a una altura de 90 cm. El total del área ocupada por las camas (2.5 x 5 x 4 metros) se cubrió totalmente con tela de organza antiáfidos para evitar infestación de plagas.

Los experimentos se realizaron en diferentes ciclos para cada cultivo; la temperatura e intensidad lumínica fue monitoreada y registrada utilizando con un termómetro *Data logger* ANA modelo IP67®.

## 6.4 Descripción de los experimentos

El desarrollo de esta investigación se divide en los siguientes apartados:

- Elaboración de Vermicomposta
- Albahaca *Ocimum basilicum* L.
- Papa *Solanum tuberosum* L.

### 6.4.1 Vermicompostaje

#### 6.4.1.1 Reproducción de *Eisenia foetida*

La reproducción de *Eisenia foetida* se inició con un pie de cría de 20 organismos, que fueron colocados en un contenedor de unicel de una capacidad de 10 litros para mantener una temperatura y humedad constante. El contenedor se preparó previamente con agrolita hidratada y desechos orgánicos frescos, como alimento. Durante este proceso, se realizó riego ligero y aireación manual cada tercer día para mantener la humedad, favorecer la estructura y facilitar la difusión pasiva del aire en el sustrato.

#### 6.4.1.2 Precomposteo

Se realizó una mezcla de lodo residual y estiércol de caballo (proporción 30:70); con un peso seco final de 5 kilogramos colocados en contenedores plásticos de 20 litros; la mezcla fue sometida a un precomposteo previo a la adición de las lombrices.

El precomposteo consistió en la fermentación de los sustratos en condiciones de oscuridad, colocando una cubierta negra plástica con perforaciones; la humedad y aireación se mantuvieron hidratando y mezclando el sustrato cada tercer día; la temperatura fue monitoreada una vez por semana con un termómetro estándar de mercurio; y el pH se evaluó cada tercer día en el lixiviado de la mezcla con un pH metro THERMO Orion Star A215. Finalmente en esta etapa de precomposteo (20 días) tuvo también como finalidad prevenir la mortalidad de las lombrices (Amouei *et al.*, 2017).

#### 6.4.1.3 Vermicomposteo

Al alcanzar un pH cercano a la neutralidad (7.8) durante el proceso de precomposteo, se adicionaron a la mezcla 25 lombrices jóvenes en edad reproductiva (clitelio desarrollado localizado en la segunda sección del cuerpo, Figura 1) con una longitud de entre 3 a 5 cm y

un peso de 0.5 g por individuo de acuerdo a lo reportado por Sheppard (1997) y Garg *et al.* (2006).

Para determinar la estabilidad de la vermicomposta se realizó la evaluación de parámetros como pH, conductividad eléctrica (CE) y materia orgánica (MO) cada 15 días a partir de la adición de las lombrices y hasta su maduración.

#### 6.4.2 Albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

Las semillas fueron germinadas en sustrato de agrolita y peat moss en una proporción 2:1, con riego cada tercer día hasta su trasplante. Se realizó el trasplante en dos temporadas; la primera a los 25 días de la germinación en el periodo de septiembre-noviembre 2017 (primer periodo otoño); y el segundo a los 35 días de germinación en el periodo de diciembre-abril 2018 (segundo periodo invierno-primavera); las características de temperatura mensual, precipitación e intensidad lumínica para ambos periodos se muestran en la tabla 1. Se colocaron 5 plántulas con 2 hojas verdaderas para cada maceta por tratamiento; se realizó riego por aspersión cada tercer día.

**Tabla 1.** Condiciones climáticas de la localidad de Santa Ana, Tenancingo de Degollado; durante los meses de estudio para el cultivo de albahaca (*Ocimum basilicum* L.).

Periodo	Mes	Temperatura media (°C)	Humedad relativa (%)	Intensidad lumínica
1° periodo Otoño	Ago-17	20.25	75.06	1640.92
	Sep-17	18.39	80.98	825.32
	Oct-17	16.69	78.24	649.36
	Nov-17	13.61	73.80	560.66
	Dic-17	11.12	72.83	421.95
2° periodo Invierno- primavera	Ene-18	10.54	73.36	230.11
	Feb- 18	-	-	-
	Mar-18	18.55	58.9	-
	Abril-18	19.77	59.41	-

Para determinar la productividad se evaluó la altura (cm) y el número de hojas al inicio y en su fecha de corte; así como el peso fresco (g) en su fecha de corte y el peso seco (g) de las plantas deshidratadas en mufla a 50 °C durante 15 días.

Se realizaron evaluaciones de los pigmentos fotosintéticos, así como la actividad enzimática de las peroxidasas, el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante.

#### **6.4.3 Papa (*Solanum tuberosum* L).**

Para obtener material homogéneo se realizó la inclusión *in vitro* de *Solanum tuberosum* L. de la variedad Citlali; la propagación se inició a partir de esquejes con una yema axilar con hoja; estos esquejes fueron cultivados y subcultivados entre 28 y 35 días en medio MS (Murashige & Skoog, 1962) como describen Mora-Herrera y López-Delgado (2007, *Anexo 1*), con lo cual se mantuvo una fuente permanente de material biológico.

El medio MS fue preparado mezclando sacarosa, vitaminas (*Anexo 2*) y sales (*Anexo 3*), con un pH ajustado entre 5.6 y 5.7, después se adiciono agar bacteriológico (BD Bioxon®), el cual se disolvió con calor. Se utilizaron frascos de 70 mm x 45 mm con tapa translúcida con 20 mL de medio y estos fueron sellados con película adhesiva. Los medios de cultivo y materiales de siembra (cajas petri, pinzas y bisturí) se esterilizaron en autoclave horizontal a 120°C durante 20 minutos.

Los cultivos *in vitro* se mantuvieron en un cuarto de incubación con un fotoperíodo de 16 horas a una temperatura de 20 ± 1°C.

Al obtener microplantas homogéneas se realizó el trasplante a los 25 días de su inclusión, el cultivo permaneció del periodo de octubre de 2017 a febrero de 2018; la tabla 1 muestra las características de temperatura mensual, precipitación e intensidad lumínica que se presentaron durante el experimento. Se colocaron 6 microplantas para cada maceta por tratamiento; se realizó riego por aspersion cada tercer día.

La productividad se determinó mediante las variables; altura de la planta (cm) y peso fresco (g) se determinó en el trasplante y en su fecha de corte. La cosecha de minitubérculos se realizó a los 15 días después del corte de la planta, y se cuantificó el número y peso total de minitubérculos.

Se realizó la cuantificación de las unidades SPAD en las plantas de papa.

**Tabla 2.** Condiciones climáticas de la localidad de Santa Ana, Tenancingo de Degollado; durante los meses de estudio para el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.).

	<b>Mes</b>	<b>Temperatura media (°C)</b>	<b>Humedad relativa (%)</b>	<b>Intensidad lumínica</b>
Establecimiento de experimento	Oct-17	16.69	78.24	649.36
	Nov-17	13.61	73.80	560.66
	Dic-17	11.12	72.83	421.95
	Ene-18	10.54	73.36	230.11
Corte de planas de papa	Feb-18	-	-	-
	Mar-18	18.55	58.9	-
Cosecha de tubérculos	Abr-18	19.77	59.41	-

#### **6.4.4** *Técnicas utilizadas*

##### **6.4.4.1** *Caracterización de sustratos*

Se determinaron las propiedades físicas y químicas previas al estudio de acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2001. Se determinó la textura por el método de Bouyoucos (AS-09, Anexo 6), pH en agua (1:2), mediante el método AS-02 (Anexo 7), conductividad eléctrica (CE), con el método AS-18 (Anexo 8) y el contenido de materia orgánica (MO) según el método AS-07 (Anexo 9), de Walkley y Black (1947).

##### **6.4.4.2** *Cuantificación de pigmentos fotosintéticos*

La cuantificación indirecta de los pigmentos fotosintéticos se hizo mediante el SPAD-502 (Minolta); y la cuantificación de los pigmentos fotosintéticos se hizo de acuerdo al método de Lichtenthaler y Wellburn (1983, Anexo 14).

##### **6.4.4.3** *Cuantificación de la actividad enzimática de las peroxidasas*

Se evaluó la actividad enzimática de las peroxidasas (POD, EC 1.11.1.7) mediante el método sugerido por Anderson *et al.* (1995; Anexo 10); que determina la actividad enzimática de peroxidasas por la oxidación de guaiacol en presencia de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

##### **6.4.4.4** *Cuantificación de compuestos fenólicos totales*

Se realizó la cuantificación de compuestos fenólicos totales mediante el método de Folin-Ciocalteu descrito por Waterman y Mole (1994, Anexo 11); en el que la concentración de

fenoles totales se basa en una reacción óxido-reducción empleando como agente oxidante el reactivo de Folín.

#### **6.4.4.5** *Cuantificación de la capacidad antioxidante DPPH*

Se determinó la capacidad antioxidante utilizando el método de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracilo) mediante absorbancia descrito por Abe *et al.* (1998; *Anexo 12*); que se basa en la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil; la cual se atribuye a la deslocalización del electrón desapareado.

#### **6.4.5** *Análisis estadístico*

A los resultados de las variables biológicas de la planta de albahaca y papa se les realizó un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias (Tukey) para comparar las medias de los tratamientos, todo mediante el programa estadístico *InfoStat-Statistica* utilizando un nivel de confianza del 95%.

## 7 Resultados y discusión

### 7.1 Caracterización de sustratos

Se realizó la caracterización de los sustratos empleados para elaborar la vermicomposta y el suelo utilizado para este experimento (Tabla 3).

**Tabla 3.** Determinación del contenido de materia orgánica (MO), pH, conductividad eléctrica (CE) y textura en el suelo, lodo residual y estiércol equino previo a la elaboración de la vermicomposta.

	MO (%)	pH	CE (dS/m)	Textura
Suelo	2.7±0.2	5.6±0.07	1.18×10 <sup>-3</sup> ±0.5	Franco arenoso
Lodo residual	30.4±0.4	7.1± 0.4	3 ±0.2	-
Estiércol equino	8.62 ±0.4	7.4 ±0.6	7.00 ±0.0	-

Promedio ± error estándar

Los suelos representan un entorno complejo porque son una mezcla íntima de los componentes vivos y minerales, y sus propiedades nos ayudan a identificar la naturaleza del suelo; por otro lado, en la determinación de la calidad del suelo suele utilizarse indicadores químicos, biológicos y físicos, que representan componentes, procesos y condiciones particulares del mismo (Lindbo *et al.*, 2012).

Para describir el alcance, la naturaleza y el posible impacto de un contaminante en un suelo, es necesario emplear una variedad de indicadores intrínsecos del suelo, como: el pH, el contenido de arcilla (textura), materia orgánica (MO), y la conductividad eléctrica (CE); que son determinantes en la influencia de la biodisponibilidad, persistencia, movimiento y efecto de algún contaminante en el suelo (Bloem *et al.*, 2006).

La textura nos refiere al tamaño y la proporción relativa de partículas minerales, y muchas de sus propiedades están relacionadas con el tamaño de estas partículas y su distribución; la presencia de estos fragmentos puede modificar las propiedades del suelo (porosidad, permeabilidad, capacidad de retención de agua y densidad aparente), lo que hace que el suelo en algunos casos sea más difícil de manejar para usos agrícolas (Lindbo *et al.*, 2012).

El suelo que se utilizó en esta investigación está ubicado en el eje neovolcánico con un tipo de suelo fluvisol (INEGI. 2007). De acuerdo con la caracterización el suelo, se presenta una

textura franco arenoso, con un porcentaje de arena de 78.2%, 12.9% de limo y 8.9 de arcilla; estas características hacen de este suelo un suelo de textura gruesa de acuerdo con la clasificación de la USDA (*United States Department of Agriculture*); son suelos pobres en materia orgánica y nitrógeno y presentan contenidos medios en fósforo y potasio; el pH es alcalino y aumenta con la profundidad; estos son suelos aptos para el cultivo (IUSS Grupo de Trabajo WRB, 2007).

La materia orgánica, presentó un porcentaje de 2.7, que de acuerdo con la clasificación de la NOM-021, por lo que es un suelo con valores muy bajos, al igual que los valores del estiércol equino, con un porcentaje de 8.62; a diferencia del lodo residual, que presentan un porcentaje de 30.4.

El contenido de materia orgánica del suelo comprende materiales orgánicos en todas las etapas de descomposición; y el clima, el tipo de suelo y el manejo del cultivo influyen en la cantidad de residuos que se producen y se devuelven al suelo. Razón por la que la materia orgánica afecta sustancialmente la disponibilidad de nutrientes de las plantas (Havlin & Moebius-Clune, 2012).

El pH que presentó el suelo es de 5.6, de acuerdo con la NOM-021, es un suelo moderadamente ácido; mientras que, el estiércol equino y el lodo residual presentan valores neutros con 7.1 y 7.4 respectivamente; ya que, de acuerdo con Havlin y Moebius-Clune (2012), el pH influye en la disponibilidad de nutrientes, igualmente el manejo adecuado del pH del suelo ayuda en la nutrición; esto depende de la acidez o alcalinidad de los suelos ya que los nutrientes se vuelven más disponibles para los cultivos; por lo que es preciso controlar los niveles de pH de los cultivos.

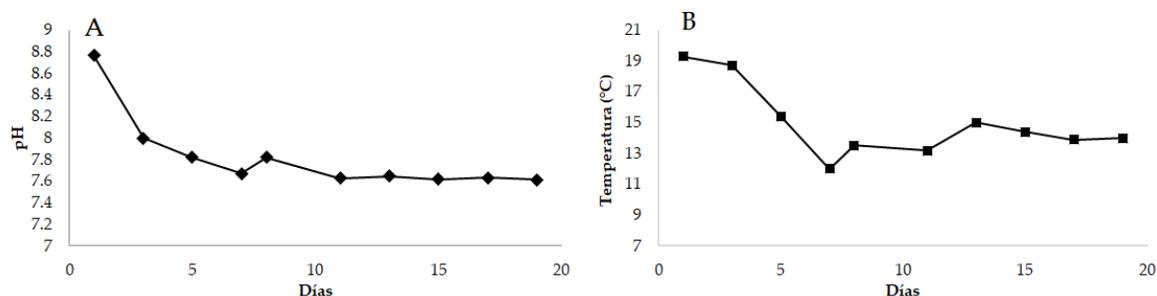
En cuanto a la CE, el suelo presentó valores de  $1.18 \times 10^{-3}$  dS  $m^{-1}$  que están clasificados como "Muy ligeramente salinos" de acuerdo con la NOM-021, y son aptos para el crecimiento de los cultivos en general; el caso del lodo residual con una CE de 3 dS  $m^{-1}$  le da cualidades moderadamente salinas, lo que puede influir en procesos microbianos, como la respiración. Para el caso del estiércol equino, mostró una CE de 7 dS  $m^{-1}$  por lo que se clasifica como "fuertemente salino", lo que también influye en el desarrollo de los microorganismos y el desarrollo de las plantas (Luters & Salazar, 2000).

La CE es un indicador del contenido de sales; en la agricultura se ha convertido en la evaluación indirecta del contenido salino de los suelos, que afectan el crecimiento de los cultivos (Bosch Mayol *et al.*, 2012). El manejo de la salinidad de los sustratos para este estudio se controla con el precomposteo.

## 7.2 Elaboración de vermicomposta de lodo residual y estiércol equino

### 7.2.1 Evaluación del precomposteo

Durante el proceso de precomposteo, el comportamiento del pH y la temperatura (Figura 4) decreció con el paso del tiempo y se empezó a estabilizar a partir del día 11, esta estabilización tuvo pequeños cambios hasta alcanzar un pH de 7.8 y una temperatura de 14 °C; estos parámetros estuvieron estables durante el resto del proceso.



**Figura 4.** Monitoreo de pH (A) y temperatura (B) en el proceso del precomposteo del lodo residual y estiércol equino.

El precomposteo es un proceso que varía de acuerdo al origen y a las propiedades de los sustratos utilizados para la generación de vermicomposta; y la estabilización del proceso depende tanto de las propiedades bioquímicas de los sustratos como de factores externos, como la temperatura y humedad.

Por esta razón no existe un acuerdo de cuál es el pH óptimo, por ejemplo Montes de Oca *et al.* (2008), señalan que las características como el pH y la temperatura son factores limitantes para la elaboración de la vermicomposta; y mencionan que durante el composteo, pueden presentarse valores entre 5 a 7, (límites aceptables) y se observarán fluctuaciones durante el proceso, hasta alcanzar la estabilidad. Así mismo, indica, que para el caso de la temperatura, la composta puede alcanzar valores altos por el calor liberado por los microorganismos, por

lo que una buena aireación es esencial para que comience el proceso aeróbico de la mezcla y así evitar la pérdida de humedad. A diferencia de la NMX-FF-109-SCFI-2007, que establece que las especificaciones para el uso de humus de lombriz o vermicomposta en cuanto a los valores aceptables de pH deben estar en el rango de 5.5 a 8.5.

A pesar de las diferencia de los rangos óptimos de temperatura y pH, los valores obtenidos durante el precomposteo se mantuvieron dentro de los parámetros establecidos en las especificaciones fisicoquímicas de la NMX-FF-109-SCFI-2007. Al tener estos resultados en pH y temperatura, se integraron las lombrices para iniciar el vermicomposteo.

### 7.2.2 Evaluación del vermicomposteo

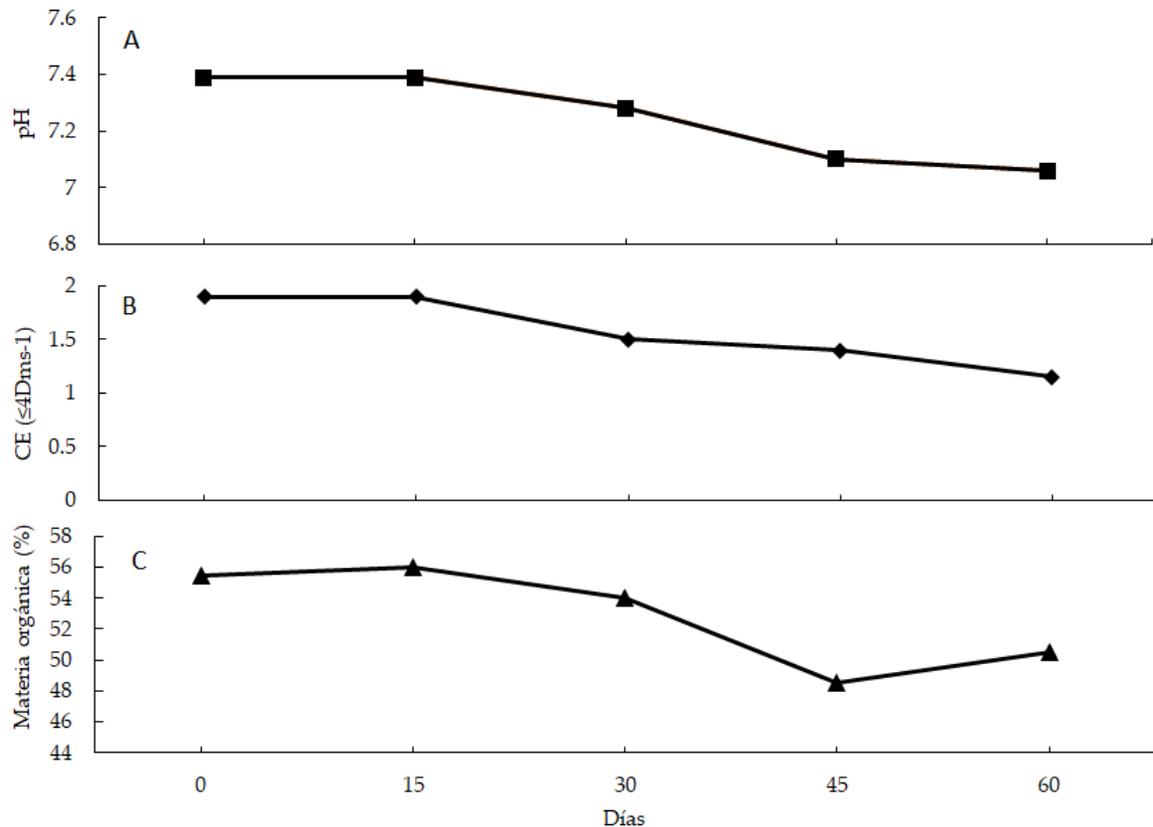
Durante el proceso del vermicomposteo se monitoreo el porcentaje de MO, la CE y el pH cada 15 días, los resultados se observan en la figura 5. En los resultados obtenidos para pH, se observó que su estabilización comenzó a partir del día 30, manteniendo valores de 7 y 7.1 hasta el día 60; lo que se considera ideal para su aplicación en cualquier cultivos (Sagarpa, 2007).

La evaluación de la MO en la vermicomposta presentó fluctuaciones a lo largo del monitoreo, disminuyendo a partir del día 30, con un incremento en el día 60 con un porcentaje final de 50.5%. Esta fluctuación se presentó debido a la fragmentación mecánica ejercida por la lombriz, y a los cambios químicos y bioquímicos llevados a cabo por la digestión enzimática de la lombriz, lo que da por resultado la producción de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, iones minerales y MO estabilizada (Suthar & Singh, 2008).

Así también el aumento en la cantidad de carbono orgánico a lo largo del tiempo puede explicarse por la cantidad de carbón que contiene los lodos residuales y el estiércol de caballo que se ve incrementado por el carbono adicional de los fluidos y la muerte de gusanos en el medio de cultivo encontraron resultados similares Lim *et al.* (2012).

Al igual que en el proceso de precomposteo, el monitoreo constante de la vermicomposta permite evaluar el proceso de descomposición de la MO y promueve el adecuado desarrollo de las lombrices. La evaluación constante de estos parámetros permitirá controlar los rangos adecuados para la proliferación de las lombrices; Arancon y Edwards (2011) establecen que el rango óptimo de contenido de humedad se encuentra entre el 50 y el 90%; y mencionan

que las lombrices toleran niveles de pH entre 5 y 9, con una preferencia de pH de 5 a 7; por lo que los resultados obtenidos durante la proliferación de las lombrices en este proceso, indican que la vermicomposta mantuvo parámetros adecuados para su manejo.



**Figura 5.** Evaluación del pH, conductividad eléctrica (CE) y materia orgánica (MO) durante el proceso de vermicompostaje.

La conductividad eléctrica (CE) alcanzó valores de 1.1 a 1.9  $dS\ m^{-1}$  durante los 60 días; lo que indica un valor adecuado durante todo el proceso, esto pudo deberse a la utilización del estiércol de caballo que presentó un pH cercano a la neutralidad.

La Norma Mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007 establece las especificaciones de calidad que debe cumplir el humus de lombriz (vermicomposta) que se produce para su utilización; y la madurez del humus dependerá del grado de estabilización orgánica resultante en el producto terminado, el valor final de estos parámetros (pH, CE, MO) de la vermicomposta elaborada en esta investigación no rebasa los límites establecidos para aplicación a suelos de cultivo (Sagarpa, 2007).

Al término del vermicompostaje se establecieron los experimentos de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.).

### 7.3 Evaluación de productividad

#### 7.3.1 Albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

La evaluación de la productividad de las plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) se realizó en los dos periodos (otoño e invierno-primavera), se evaluaron las variables, longitud, número de hojas y peso fresco.

Para las variables longitud y peso de la planta se realizó el análisis de tasa de crecimiento (Hunt, 1982, Anexo 15) para los cinco tratamientos en los dos periodos de evaluación.

La tasa absoluta de crecimiento (TAC) se determinó con base en el peso fresco (mg) y altura (cm). Los resultados para la TAC para la variable peso, mostró que el tratamiento T<sub>60</sub> en el periodo otoño y periodo invierno-primavera (Tabla 4 y 5) presentó una tendencia de los mayores valores con 118 mg/día y 29.2 mg/día respectivamente, comparado con 24 mg/día y 0.2 mg/día de los tratamientos control. Las TAC con respecto a la altura en el periodo otoño presentan el mayor valor de crecimiento para el tratamiento T<sub>60</sub> con 1.015 cm/día con respecto al tratamiento control (C) con 0.460 cm/día. Para el periodo invierno-primavera, el tratamiento T<sub>40</sub> fue el que mostro un mayor incremento en la longitud de la planta con 0.1040 cm/día con respecto al tratamiento control con 0.0313 cm/día.

**Tabla 4.** Tasa absoluta de crecimiento evaluada en la altura y peso en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en el periodo otoño, medida en los cinco tratamientos de acuerdo con los índices de crecimiento empleados en fisiología vegetal y de cultivos de Hunt (1982).

Tratamiento	Tasa absoluta de crecimiento TAC	
	Longitud (cm/día)	Peso (mg/día)
C	0.460 ± 0.07 <sup>A</sup>	24 ± 0.01 <sup>A</sup>
T <sub>0</sub>	0.821 ± 0.08 <sup>B</sup>	71 ± 0.006 <sup>B</sup>
T <sub>20</sub>	0.782 ± 0.10 <sup>AB</sup>	89 ± 0.009 <sup>BC</sup>
T <sub>40</sub>	0.756 ± 0.10 <sup>AB</sup>	103 ± 0.008 <sup>C</sup>
T <sub>60</sub>	1.015 ± 0.08 <sup>B</sup>	118 ± 0.008 <sup>C</sup>

Promedio ± error estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

**Tabla 5.** Tasa absoluta de crecimiento evaluada en la altura y peso en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) durante el periodo invierno-primavera medida en los cinco tratamientos de acuerdo con los índices de crecimiento empleados en fisiología vegetal y de cultivos de Hunt (1982).

Tratamiento	Tasa absoluta de crecimiento TAC	
	Longitud (cm/día)	Peso (mg/día)
C	0.0313± 0.007 <sup>A</sup>	0.2 ± 0.0002 <sup>A</sup>
T <sub>0</sub>	0.0597± 0.008 <sup>AB</sup>	15.4 ± 0.0047 <sup>AB</sup>
T <sub>20</sub>	0.0907 ± 0.011 <sup>BC</sup>	28.8 ± 0.0051 <sup>B</sup>
T <sub>40</sub>	0.1040 ± 0.009 <sup>C</sup>	27.5 ± 0.0047 <sup>B</sup>
T <sub>60</sub>	0.0832 ± 0.014 <sup>BC</sup>	29.2 ± 0.0054 <sup>B</sup>

Promedio ± error estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

Estos resultados indican que el cultivo presentó un incremento de biomasa al aplicar vermicomposta en ambos periodos de cultivo; a mayor dosis de vermicomposta la longitud del tallo de las plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) incrementó con respecto a los tratamientos control. Para el peso se observa la misma tendencia, una mayor dosis de vermicomposta incrementa la biomasa de las plantas de albahaca.

Debido a este enfoque, los efectos de las vermicompostas sobre el crecimiento de diversos cultivos incluyendo cereales, leguminosas y especies ornamentales ha sido evaluados, bajo diferentes composiciones y en diferentes condiciones; demostrando que su aplicación ha incrementado el crecimiento y desarrollo de las plántulas y la productividad de una amplia gama de cultivos.

Por ejemplo, ensayos en plántulas de *Solanum lycopersicum* el uso de humatos de vermicomposta incrementó significativamente la altura, diámetro de tallo, longitud de raíz, número de hojas, peso de raíz y peso de la parte aérea (Chiquito-Contreras *et al.*, 2018). La vermicomposta generada a partir de residuos vegetales y cascarilla de cacao, y estiércol de ovino, estimuló el crecimiento en el chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin) incrementando el porcentaje de germinación y el posterior desarrollo de la plántula (David-Santoya *et al.*, 2018).

Cuando se utiliza la vermicomposta como componentes de fertilización orgánica el crecimiento y rendimiento del maíz, en su diámetro y altura de la planta, la longitud de la

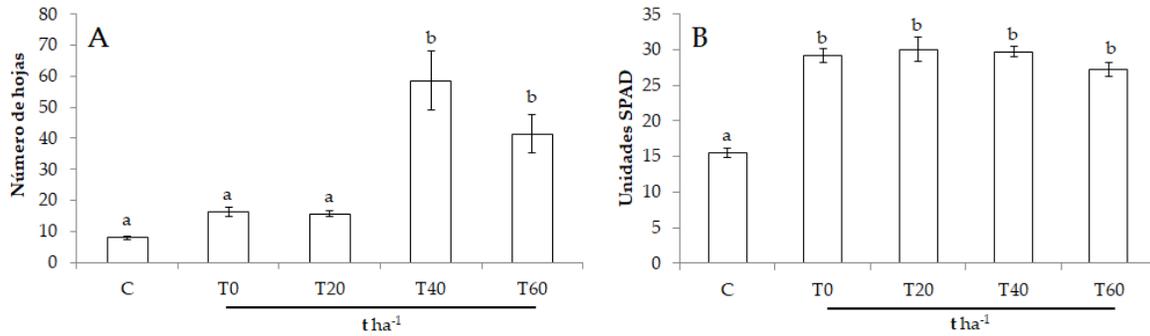
mazorca, número de granos por mazorca y peso de granos con respecto a la fertilización sintética se observa un incremento significativo (Rugama & Hasiell, 2018).

Las vermicompostas, de acuerdo con Guo *et al.* (2015), presentan algunos reguladores de crecimiento, que en las plantas de maíz llevaron a la utilización plena de los nutrientes para generar una mayor biomasa y rendimiento. En correspondencia a lo anterior, David-Santoya *et al.* (2018), señalan que la respuesta de crecimiento y de rendimiento de las plantas está influenciada por el uso de diferentes sustratos para la elaboración de vermicompostas, demostrado consistentemente que los residuos orgánicos vermicomposteados tienen efectos benéficos sobre el crecimiento de la planta independientemente de las transformaciones y la disponibilidad de los elementos nutritivos.

Roblero Ramírez *et al.* (2014), mencionan que el efecto de la vermicomposta sobre el desarrollo del tomate influyó de manera importante sobre el rendimiento de las plantas incrementando el número de frutos y su peso.

Por lo anterior, y de acuerdo con las especificaciones de la Norma Mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007, la vermicomposta de lodo residual y estiércol equino está dentro de los rangos óptimos para su aplicación a cualquier cultivos (Sagarpa, 2007).

Los resultados que se obtuvieron tanto en el primer periodo como en el segundo presentan diferencias, esto debido al clima y la temperatura que se presentó durante el periodo de cultivo, así como las diferencias de intensidad lumínica. Sin embargo las tendencias al incrementó con la adición de las vermicomposta se presentan en ambos periodos. Roblero-Ramírez *et al.* (2014), reporta que el uso de vermicomposta influye sobre el desarrollo del tomate, se observa un incremento en el rendimiento de las plantas en el número de frutos y su peso. Al igual que en el tomate, la albahaca (*Ocimum basilicum* L.) muestra un incremento en la tasa absoluta de crecimiento al aplicar vermicomposta, esto durante los dos periodos. En la cuantificación del número de hojas en las plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.), el tratamiento T<sub>40</sub> fue el que presentó diferencias significativas siendo los valores más altos para ambos periodos, los resultados se observan en la figura 6.



**Figura 6.** Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha<sup>-1</sup>) en el número de hojas en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) en el primer periodo (A) y segundo periodo (B). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

Para la variable número de hojas, se observa la misma tendencia que en las variables anteriores, a mayor dosis de vermicomposta, mayor productividad; de acuerdo con la literatura, se menciona que el uso de vermicomposta presenta efectos beneficiosos en comparación con fertilizantes químicos, y se observa un incremento en la biomasa, número y área de hojas y el contenido de clorofila en albahaca (Cabanillas *et al.*, 2013). Los resultados presentan un incremento en biomasa (peso seco; Tabla 5) y número de hojas para ambos periodos, cabe resaltar que el uso de vermicomposta pudo haber inducido cierta tolerancia al frío para el segundo periodo (Figura 6B), esto porque se presentó un incremento con respecto al tratamiento control.

### 7.3.2 Papa (*Solanum tuberosum* L.)

Para la evaluación de la productividad de las plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) se realizaron mediciones de las plantas en su fecha de corte y los tubérculos 15 días después del corte de las plantas; durante el periodo de octubre de 2017 a abril de 2018. En la planta se evaluaron las variables longitud y peso solo para cuatro tratamientos; ya que el tratamiento C (peat moss + agrolita) se perdió al no resistir la falta de nutrición y bajas temperaturas; con los resultados se realizó el análisis de tasa de crecimiento (Hunt, 1982, Anexo 15). Para los tubérculos, se cuantificó el número total de tubérculos y el peso total de estos para los cinco tratamientos.

La TAC, determinada con base en el peso fresco presentó los valores mayores para el tratamiento T<sub>40</sub> (Tabla 3), con un valor de 10.4 mg/día, comparado con 3.2 mg/día del

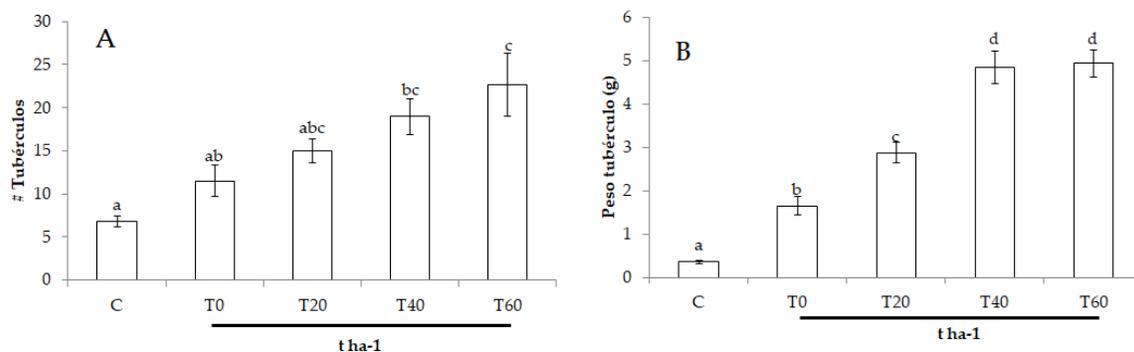
tratamiento control. La TAC para longitud del tallo, el tratamiento T<sub>60</sub> mostró un mayor incremento en la longitud de la planta con 0.0769 cm/día con respecto al tratamiento control T<sub>0</sub> con 0.0298 cm/día.

**Tabla 6.** Tasa absoluta de crecimiento obtenidos para plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) evaluados en cuatro tratamientos de acuerdo con los índices de crecimiento empleados en fisiología vegetal y de cultivos de Hunt, 1982.

Tratamiento	Tasa absoluta de crecimiento TAC	
	Longitud (cm/día)	Peso (mg/día)
T0	0.0298 ± 0.003	3.2 ± 0.0006
T20	0.0104 ± 0.0356	9.3 ± 0.0015
T40	0.0667 ± 0.0059	10.4 ± 0.0014
T60	0.0769 ± 0.0064	7.4 ± 0.0015

Promedio ± error estándar. Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

Para la cuantificación del número de tubérculos, el tratamiento T<sub>60</sub> es el que obtuvo un mayor número de tubérculos con un promedio de 23 tubérculos por tratamiento. En la figura 7 se observa que al incrementar la dosis de vermicomposta el número de tubérculos (Figura 7A) incrementa, y por ende, el peso de estos (Figura 7B); los tratamientos que presentan los el mayor peso son el tratamiento T<sub>40</sub> y el T<sub>60</sub>, con 4.84 g y 4.93 g respectivamente.



**Figura 7.** Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha<sup>-1</sup>) en la productividad de tubérculos de papa (*Solanum tuberosum* L.): número de tubérculos (A) y peso fresco de tubérculos (B). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

Se han realizado estudios donde se comprueba que el uso de la vermicomposta elaborada con residuos orgánicos favorece el crecimiento de diferentes cultivos. Por ejemplo, en el crecimiento

de plántulas de *Solanum lycopersicum* el uso de vermicomposta presentan incrementos en la altura, diámetro de tallo, longitud de raíz, número de hojas, peso de raíz y peso de la parte aérea (Chiquito-Contreras *et al.*, 2018). En el chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin) la aplicación de vermicompostas incrementan el porcentaje de germinación y el posterior desarrollo de la plántula (David-Santoya *et al.*, 2018).

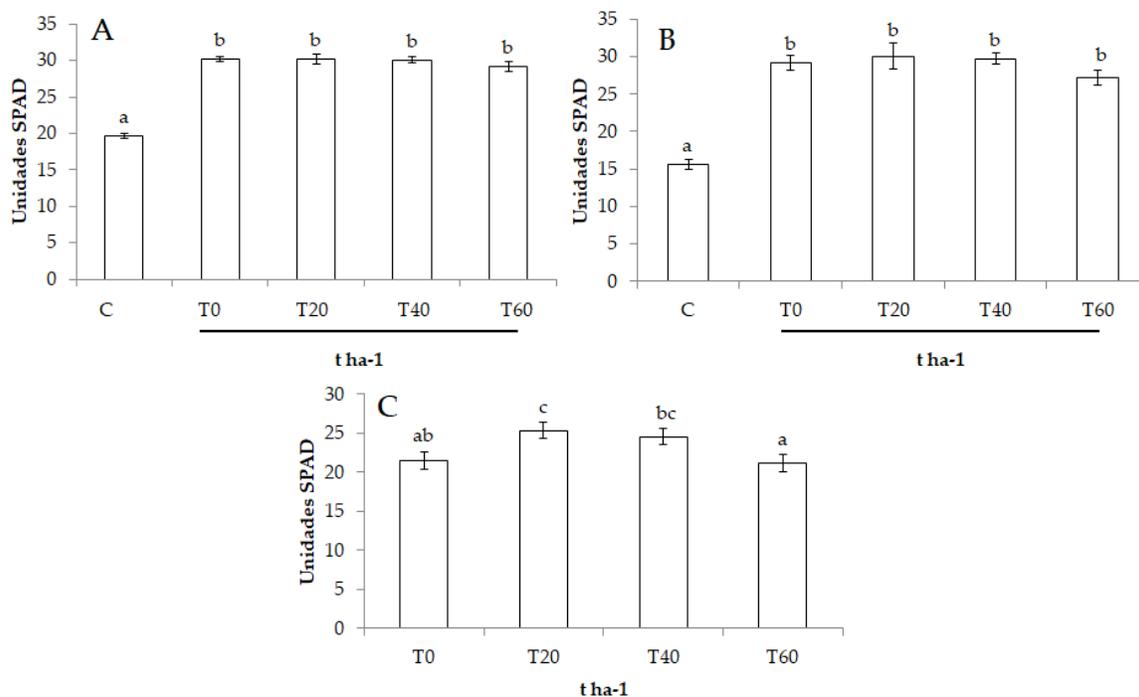
Está bien documentada la influencia de la aplicación de fertilización orgánica en el crecimiento y rendimiento de maíz, en cuanto a diámetro y altura de la planta, la longitud de la mazorca, número de granos por mazorca y peso de granos con respecto a la fertilización sintética (Rugama & Hasiell, 2018); y David-Santoya *et al.* (2018), indican que el uso de diferentes sustratos para la elaboración de vermicompostas tienen influencia en el desarrollo de los cultivos. Esto también lo dicen Guo *et al.* (2015) que la planta de maíz al ser tratada con vermicomposta en ella están presentes algunos reguladores de crecimiento de las plantas de maíz que llevaron a la planta a utilizar plenamente los nutrientes para generar una mayor biomasa y rendimiento de esta.

Para los cultivos de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.), de acuerdo con los resultados obtenidos; como afirman Chiquito-Contreras *et al.* (2018), el humus de lombriz (vermicomposta) es un estimulante que mejora la calidad y productividad de los cultivos; y su uso permitiría eliminar total o parcialmente los fertilizantes químicos contribuyendo a la agricultura orgánica, ecológica y sustentable.

#### **7.4 Cuantificación de unidades SPAD y pigmentos fotosintéticos**

Los resultados de la evaluación de unidades SPAD para el caso de las plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.), tanto para el primer periodo de cultivo como en el segundo, incremento significativamente en el contenido de pigmentos fotosintéticos con respecto al control peat mos - agrolita (Figura 8 A y B), lo que indica que la falta de nutrientes afecta la actividad fotosintética de albahaca; ya que el tratamiento T<sub>0</sub> (suelo sin vermicomposta) puede contener trazas de nutrientes provenientes de las prácticas culturales en el suelo utilizado.

Para el caso de las plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.) se observa que el tratamiento T<sub>60</sub> y T<sub>40</sub> incrementaron significativamente las unidades SPAD con respecto al control (Figura 8C).



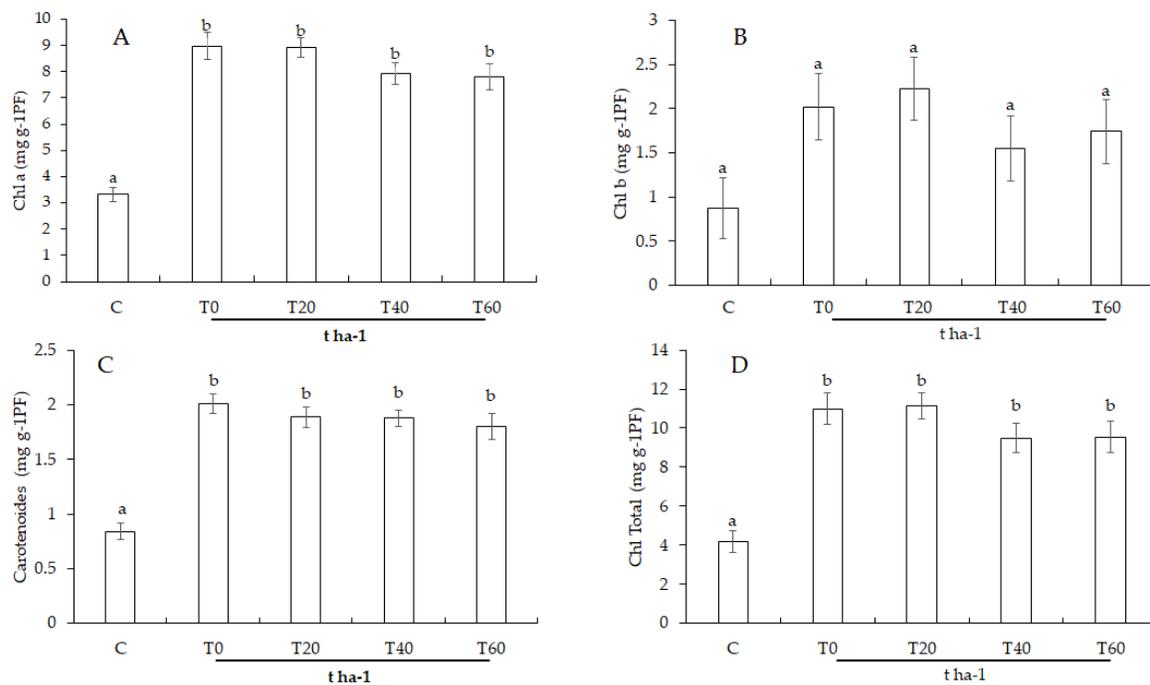
**Figura 8.** Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha<sup>-1</sup>) en las unidades SPAD en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) durante el primer periodo (A) y segundo periodo (B); y en plantas de papa (*Solanum tuberosum* L.; C). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$

De acuerdo con Wild (1992), indica que bajos contenidos de clorofila son indicativos de condiciones de estrés sufridas por las plantas ante factores ambientales adversos y condiciones nutricionales del cultivo; tanto para el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.), como para albahaca (*Ocimum basilicum* L.) que en sus dos periodos no presentaron alteraciones en la actividad fotosintética a pesar de la adversidad climática que implica el invierno.

Siendo que durante la mayor parte de la vida de las plantas, las hojas son los principales órganos verdes que captan la luz solar (Wild, 1992), y que la aplicación de vermicomposta incrementa el número de hojas (Figura 6) hace que se favorezca la actividad fotosintética; razón por la que las dosis de vermicomposta aplicadas a los cultivos, con respecto al control,

no presentan efectos perjudiciales en la actividad fotosintética evaluada en unidades SPAD tanto en las plantas de albahaca como en las plantas de papa.

La cuantificación de los pigmentos fotosintéticos, se realizó solo en las plantas de albahaca del segundo periodo de cultivo, ya que no se contó con el suficiente material vegetal en el primer periodo. Por otro lado, se evaluó el contenido de clorofila total (Figura 6 A), clorofila *a* (Figura 6 B), clorofila *b* (Figura 6 C) y carotenoides (Figura 6 D). Para las cuatro evaluaciones, en la figura 6 se observan diferencias entre la aplicación de la vermicomposta y el tratamiento control.



**Figura 9.** Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha<sup>-1</sup>) en los pigmentos fotosintéticos: A) clorofila total, B) Clorofila a, C) Clorofila b y D) Carotenoides de plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.; segundo periodo). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$

Argente *et al.* (2006), refieren que los carotenoides pueden reaccionar con especies reactivas del oxígeno o con los estados excitados de la clorofila; por lo que a la disminución de los valores del contenido de clorofilas, se desprende la reducción del crecimiento y desarrollo de las plantas. Los resultados del contenido de pigmentos fotosintéticos, tanto en evaluaciones de laboratorio como la evaluación con un medidor portátil para el cultivo de albahaca presentan la misma tendencia.

Jaramillo-Salazar *et al.* (2018), mencionan que la modificación en las concentraciones de pigmentos como clorofila *a*, *b*, carotenos y clorofila total actúan como un indicador de estrés en las plantas; por ejemplo, la relación carotenos/clorofila total, aumento en la síntesis de carotenos, indican preparación para la protección de los tejidos contra el estrés. Por lo que; de acuerdo con los resultados, la aplicación de vermicomposta puede conferir a los cultivos cierta resistencia al estrés debido a su aumento en la tasa fotosintética con respecto al control.

### 7.5 Actividad de la peroxidasa (POX) en plantas de *Ocimum basilicum* L.

El análisis de los resultados en los dos ciclos de cultivo de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) para la cuantificación de la actividad de las peroxidasas (Tabla 7) se obtuvieron datos heterogéneos, que no pudieron ser analizados estadísticamente.

Esto pudo deberse a una inhibición de la enzima peroxidasa que, como mencionan Dunford y Stillman (1982), que indica que las peroxidasas no solo eliminan el peróxido de hidrógeno, sino que utilizan su capacidad oxidante en una variedad de funciones fisiológicas ; su trabajo puede estar obstaculizado por la descomposición espontánea de sus sustratos. Otra causa puede ser la inhibición competitiva; que de acuerdo con Takahama y Oniki (2000), es la inhibición de la actividad peroxidasas por la presencia y concentración de ácido ascórbico.

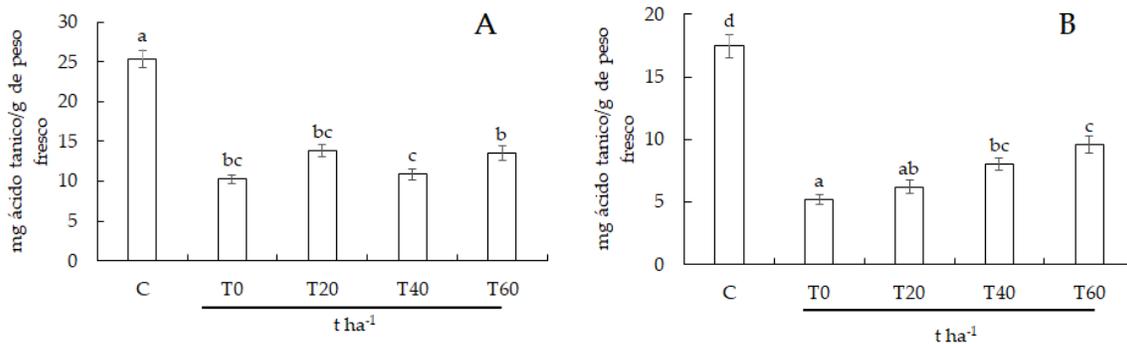
**Tabla 7.** Determinación de la actividad peroxidasa (POX) en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) primer y segundo periodo acondicionadas con vermicomposta de lodo residual y estiércol equino

Tratamientos	POX	
	Guaiacol nmol/min/mg proteína	
	Primer periodo	Segundo periodo
C	-0.046±0.039	-0.0368±0.051
T <sub>0</sub>	0.055±0.179	0.073±0.121
T <sub>20</sub>	-0.001±0.051	0.079±0.119
T <sub>40</sub>	-0.009±0.041	0.061±0.075
T <sub>60</sub>	0.0001±0.093	0.072±0.073

Promedio ± desviación estándar.

## 7.6 Contenido de compuestos fenólicos totales en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

Los resultados de la cuantificación de los compuestos fenólicos totales para el primer y segundo periodo de cultivo de albahaca se muestran en la figura 10, donde se observan diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y el tratamiento control, siendo el tratamiento control (C), en ambos periodos, el que presentó un mayor contenido de compuestos fenólicos totales.



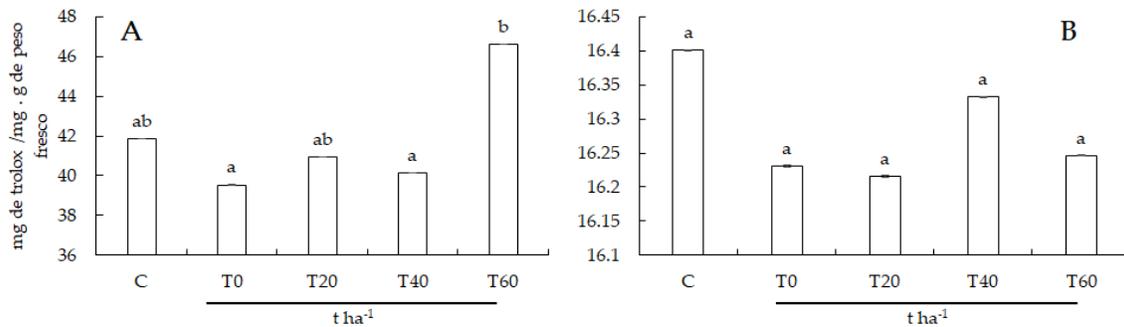
**Figura 10.** Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha<sup>-1</sup>) en el contenido de compuestos fenólicos de plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) durante el primer periodo (A) y segundo periodo (B). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

Para las dosis de vermicomposta se observan valores con diferencias estadísticamente significativas, que pueden atribuirse a la disponibilidad de macronutrientes; Nguyen y Niemeyer (2008), confirman que la acumulación fenólica están relacionados con la disponibilidad de nutrientes; como nitrógeno, fósforo, potasio y calcio, nutrientes clave en la producción de metabolitos secundarios en algunas plantas.

Pérez (2008), señala que en situaciones de estrés se produce una acumulación de compuestos fenólicos y, dado el carácter antioxidante de estos; se sugiere que los fenoles desempeñan una función protectora celular clave en circunstancias de estrés. Por lo que podemos decir que la adición de vermicomposta como fertilizante no ocasiona estrés en comparación con el tratamiento control.

## 7.7 Evaluación de la capacidad antioxidante en albahaca (*Ocimum basilicum* L.)

La cuantificación de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) para el primer periodo (Figura 11A) se observan diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y el tratamiento control, siendo el tratamiento T<sub>60</sub> el que presenta los valores más altos. En contraste, el segundo periodo (Figura 8B) el tratamiento control es el que presenta los valores más altos, y entre las dosis de vermicomposta no se presentan diferencias significativas. Pérez (2008) menciona que el método 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) se basa en el descenso de absorbancia asociado a la desaparición de la forma del radical DPPH provocada por antioxidantes, es decir, una concentración alta de la forma radical DPPH reflejan bajas concentraciones de antioxidantes, que indican un menor estrés oxidativo.



**Figura 11.** Efectos de diferentes dosis de vermicomposta (0, 20, 40 y 60 t ha<sup>-1</sup>) en la actividad antioxidante (DPPH) en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) durante el primer periodo (A) y segundo periodo (B). Letras diferentes denotan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una  $P \leq 0.05$ .

La mayor capacidad antioxidante encontrada concuerda con los resultados obtenidos en la cuantificación de compuestos fenólicos totales, bajo los mismos tratamientos, siendo éstos posiblemente los compuestos con mayor capacidad antioxidante en las muestras, que dependen a su vez de la naturaleza y concentración de los diferentes polifenoles presentes en la planta. Por lo que la mayor capacidad antioxidante en el tratamientos control puede ser atribuida a la falta de nutrición que pudo haber estimuló rutas enzimáticas de formación de compuestos antioxidantes (Salas-Perez *et al.*, 2018); que concuerda con los datos obtenidos por Martínez *et al.* (2017), que mencionan que la capacidad antioxidante y el rendimiento de las plantas se ven afectados por la concentración de nutrición aplicada.

## 8 Conclusiones

- Se estabilizó la vermicomposta elaborada con lodo residual y estiércol equino a los 80 días, de acuerdo con las especificaciones de la NMX-FF-109-SCFI-2007.
- El uso de vermicomposta de lodo residual y estiércol equino incrementa la tasa absoluta de crecimiento (TAC) en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.).
- La aplicación de vermicomposta en plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.) no modifica el contenido de unidades SPAD.
- El uso de vermicomposta elaborada con lodo residual y estiércol equino no tiene efectos en la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos y pigmentos fotosintéticos de plantas de albahaca (*Ocimum basilicum* L.).

## 9 Referencia

- Abe, N., Murata, T., & Hirota, A. (1998). Novel DPPH radical scavengers, bisorbicillinol and demethyltrichodimerol, from a fungus. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 62(4), 661-666. doi.org/10.1271/bbb.62.661
- Acosta-Durán, C. M., Solís-Pérez, O., Villegas-Torres, O. G., & Cardoso-Vigueros, L. (2013). Precomposteo de residuos orgánicos y su efecto en la dinámica poblacional de *Einsenia foetida*. *Agronomía Costarricense*, 37(1). [URL]
- Africano Pérez, K. L., & Pinzón Sandoval, E. H. (2015). Comportamiento fisiológico de plantas de rábano (*Raphanus sativus* L.) sometidas a estrés por salinidad. *Conexión Agropecuaria JDC*, 4(2), 11-22. [URL]
- Akula, U. S., & Odhav, B. (2013). In vitro 5-lipoxygenase inhibition of polyphenolic antioxidants from undomesticated plants of South Africa. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2(9), 207-212. [URL]
- Alloway, B. J. (2013). Sources of heavy metals and metalloids in soils. In *Heavy metals in soils* (pp. 11-50). Springer Netherlands. doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7\_2
- Al-Mustafa, A. H., & Al-Thunibat, O. Y. (2008). Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pakistan Journal Biological Science*, 11(3), 351-358. [URL]
- Amouei A.I., Yousefi Z., and Khosrav T. 2017. "Comparison of vermicompost characteristics produced from sewage sludge of wood and paper industry and household solid wastes". *Journal of Environmental Health Science and Engineering*. 15:5.
- Amouei, A. I., Yousefi, Z., & Khosravi, T. (2017). Comparison of vermicompost characteristics produced from sewage sludge of wood and paper industry and household solid wastes. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 15(1), 5. doi.org/10.1186/s40201-017-0269-z
- Anderson, M. D., Prasad, T. K., & Stewart, C. R. (1995). Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. *Plant physiology*, 109(4), 1247-1257. doi.org/10.1104/pp.109.4.1247

- Apel, K., & Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 373-399. doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701
- Arancon, N. Q., & Edwards, C. A. (2011). The use of vermicomposts as soil amendments for production of field crops. *Vermiculture Technology: Earthworms, Organic Wastes, and Environmental Management*, 129-151.[URL]
- Arellano-Arciniega, S., Osuna-Ceja, E. S., Martínez-Gamiño, M. A., & Reyes-Muro, L. (2015). Rendimiento de frijol fertilizado con estiércol de bovino en condiciones de secano. *Revista fitotecnia mexicana*, 38(3), 313-318. [URL]
- Argentel, L., González, L. M., Ávila, C., & Aguilera, R. (2006). Comportamiento del contenido relativo de agua y la concentración de pigmentos fotosintéticos de variedades de trigo cultivadas en condiciones de salinidad. *Cultivos tropicales*, 27(3), 49-53. [URL]
- Arora, A., Sairam, R. K., & Srivastava, G. C. (2002). Oxidative stress and antioxidative system in plants. *Current science*, 1227-1238. [URL]
- Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172. doi.org/10.4067/S0718-04622006000200010
- Ayyobi, H., & Peyvast, G. A. (2014). The effects of cow manure vermicompost and municipal solid waste compost on peppermint (*Mentha piperita* L.) in Torbat-e-Jam and Rasht regions of Iran. *International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture*, 3(4), 147-153. doi.org/10.1007/s40093-014-0077-8
- Ballesta, R. J. (2017). Introducción a la contaminación de suelos. Mundi-Prensa Libros. [URL]
- Benavides, A., Ramírez, H., Robledo, V., & Olivia, L. (2009). Antioxidantes en las plantas: Algunos factores edáficos y ambientales que los modifican. *Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo*, 13-26.
- Bloem, J., Schouten, A. J., Sørensen, S. J., Rutgers, M., van der Werf, A. K., & Breure, A. M. (2006). Monitoring and evaluating soil quality. In *Microbiological methods for assessing soil quality* (pp. 23-49). CABI. [URL]

- Bosch Mayol, M., Costa, J. L., Cabria, F. N., & Aparicio, V. C. (2012). Relación entre la variabilidad espacial de la conductividad eléctrica y el contenido de sodio del suelo. *Ciencia del suelo*, 30(2), 95-105. [URL]
- Cabanillas, C., Stobbia, D., & Ledesma, A. (2013). Production and income of basil in and out of season with vermicomposts from rabbit manure and bovine ruminal contents alternatives to urea. *Journal of cleaner production*, 47, 77-84. doi.org/10.1016/j.jclepro.2013.02.012
- Cajuste, J. F., & Lafuente, M. T. (2007). Ethylene-induced tolerance to non-chilling peel pitting as related to phenolic metabolism and lignin content in 'Navelate' fruit. *Postharvest biology and technology*, 45(2), 193-203. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.01.019
- Carbonell, G., Torrijos, M., Rodríguez, J. A., & Ángel Porcel, M. (2016). Uptake and Metal Transfer from Biosolid-Amended Soil to Tomato (*Solanum Lycopersicum* Mill L.) Plants. *Journal of Plant Chemistry and Ecophysiology*, 1(1), 1002. [URL]
- Cárdenas-Jiménez, Alberto; Exequiel Ezcurra, Ricardo Sánchez, Kaveh Zahedi & María Eugenia Arreola (2004). Perspectivas del medio ambiente en México. *Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales*, SEMARNAT. [URL]
- Castrejón, A., Barrios, J. A., Jiménez, B., Maya, C., Rodríguez, A., & González, A. (2000). Evaluación de la calidad de lodos residuales de México. *Instituto de Ingeniería. Grupo de Tratamiento y Reúso. Universidad Nacional Autónoma de México, México*, 14. [URL]
- Centro internacional de la papa (CIP). (2018). Consultado el 15-07-2018 en [URL]
- Charles, D. J. (2012). Antioxidant properties of spices, herbs and other sources. *Springer Science & Business Media*. [URL]
- Chiquito-Contreras, R. G., Reyes-Pérez, J. J., Troyo-Diéguez, E., Rueda-Puente, E. O., Torres-Rodríguez, J. A., & Murillo-Amador, B. (2018). Crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) tratadas con humato de vermicompost. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (20). doi.org/10.29312/remexca.v0i20.989
- CIBIOGEM-CONABIO, P. G. (2012). Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM). Retrieved 10.01. [URL]

- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). (2017). Numeragua. México 2017. Consultado en [http://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/Numeragua\\_2017.pdf](http://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/Numeragua_2017.pdf)
- Cruz-Ruiz, E., Cruz-Ruiz, A., Aguilera-Gómez, L. I., Norman-Mondragón, H. T., Velázquez, R. A., Nava-Bernal, G., ... & Reyes-Reyes, B. G. (2012). Efecto en las características edáficas de un bosque templado por el cambio de uso de suelo. *Terra Latinoamericana*, 30(2), 189-197. [URL]
- Csiszár, J., Fehér-Juhász, E., Kotai, E., Ivankovits-Kiss, O., Horváth, G. V., Mai, A., ... & Erdei, L. (2005). Effect of osmotic stress on antioxidant enzyme activities in transgenic wheat calli bearing MsALR gene. *Acta Biologica Szegediensis*, 49(1-2), 49-50. [URL]
- Cuevas, M. E., Antezana, A., & Winterhalter, P. (2008). Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz (*Zea mays*) Boliviano. *Memorias Red-Alfa Lagrotech*, Comunidad Europea, Cartagena, Colombia, 79-95. [URL]
- Cuypers, A., Remans, T., Weyens, N., Colpaert, J., Vassilev, A., & Vangronsveld, J. (2013). Soil-plant relationships of heavy metals and metalloids. In *Heavy metals in soils* (pp. 161-193). Springer, Dordrecht. doi.org/10.1007/978-94-007-4470-7\_6
- Dai, L., Peng, B. L., Wei, B. G., & Ma, G. (2014). Effects of Land application of municipal sewage sludge on growth, physiology and accumulation of heavy metals in wheat (*Triticum aestivum* L.). In *Advanced Materials Research* (Vol. 878, pp. 647-656). Trans Tech Publications. doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.878.647
- David-Santoya, J. J. E., Gómez-Álvarez, R., Jarquín-Sánchez, A., & Villanueva-López, G. (2018). Caracterización de vermicompostas y su efecto en la germinación y crecimiento de *Capsicum chinense* Jacquin. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 5(14), 181-190. doi.org/10.19136/era.a5n14.1465
- De la Peña, M. E., Ducci, J., & Zamora Plascencia, V. (2013). Tratamiento de aguas residuales en México. *Inter-American Development Bank*. [URL]
- Delgado-Arroyo, M., Porcel-Cots, M.A., Miralles- de Imperial, Hornedo R., Beltrán-Rodríguez, E., Beringola-Beringola, L. & Martín-Sánchez J. V. (2004). Efecto de la vermicultura en la descomposición de residuos orgánicos. *Departamento de Medio Ambiente, INIA*. Madrid. España, 83-86. [URL]

- Dominguez J. y Edwards C.A. (2010). Biology and Ecology of Earthworm Species Used for Vermicompostin. En Edwards, C. A., Arancon, N. Q., & Sherman, R. L. (Eds.). (2010). *Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management*. CRC press. [URL]
- Dunford, H. B., Araiso, T., Job, D., Ricard, J., Rutter, R., Hager, L. P., ... & Rönnerberg, M. (1982). Peroxidases. In *The Biological Chemistry of Iron* (pp. 337-355). Springer, Dordrecht. doi.org/10.1007/978-94-009-7882-9\_22
- Esquema lombriz Extraído de <http://agriculturayecologia.blogspot.mx/2013/12/compost-de-lombriz.html>
- FAO (organización para las naciones unidas para la alimentación y la agricultura). (2015). Los suelos sanos son la base para la producción de alimentos saludables. [URL]
- Garg, P., Gupta, A., Satya S. 2006. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: a comparative study. *Bioresourse Technology*. 97: 391-395.
- Gunadi, B., & Edwards, C. A. (2003). The effects of multiple applications of different organic wastes on the growth, fecundity and survival of *Eisenia fetida* (Savigny)(Lumbricidae). *Pedobiologia*, 47(4), 321-329. [URL]
- Guo L., Wu G., Li C., Liu W., Yu X., Cheng D., Jiang G. 2015. Vermicomposting with maize increases agricultural benefits by 304 %. *Agronomy for Sustainable Development*. 35:1149-1155.
- Gupta, R., & Garg, V. K. (2008). Stabilization of primary sewage sludge during vermicomposting. *Journal of hazardous materials*, 153(3), 1023-1030. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.055
- Haghighi, M. (2011). Sewage sludge application in soil improved leafy vegetable growth. *Journal of Biodiversity and Environmental Science*, 5(15), 165-167. [URL]
- Hait, S., & Tare, V. (2011). Vermistabilization of primary sewage sludge. *Bioresourse technology*, 102(3), 2812-2820. doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.031
- Havlin, J., & Moebius-clune, B. (2012). chemical ProPerties of soil: Soil fertility And nutrient MAnAgeMent. *Know Soil Know Life*, 69-81. [URL]

- Hernández-Herrera, J. M., Olivares-Sáenz, E., Villanueva-Fierro, I., Rodríguez-Fuentes, H., Vázquez-Alvarado, R., & Pissani-Zúñiga, J. F. (2005). Aplicación de lodos residuales, estiércol bovino y fertilizante químico en el cultivo de sorgo forrajero (*Sorghum vulgare* Pers.). *Revista internacional de contaminación ambiental*, 21: 31-36. [URL]
- Hiltunen, R., & Holm, Y. (2003). Basil: the genus *Ocimum*. CRC Press. [URL]
- Holguín-Calderón, E., Morales-Rodríguez, M., Vicencio-de la Rosa, M. & Morales-de Casas, M. (2014). Lodos residuales: métodos de tratamiento, estabilización y aprovechamiento. Durango, México. *Visión Científica*, 6: 56-66. [URL]
- Huamán, Z. (1986). Botánica sistemática y morfología de la papa. Vol. 6. *International Potato Center*. [URL]
- Hunt, R. (1982). Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis. *Edward Arnold Ltd*. [URL]
- Instituto Nacional de estadística y geografía (INEGI), consultado 08-08-2018. [URL]
- IUSS Grupo de Trabajo WRB. (2007). Base Referencial Mundial del Recurso Suelo. Primera actualización 2007. Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos No. 103. FAO, Roma. [URL]
- Jaramillo-Salazar, M. T., Marín-Giraldo, & Ocampo-Serna, D. M. (2018). Efectos en el nivel fotosintético en tres especies de plantas acuáticas sometidas a un tratamiento con agua residual de origen minero. *Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural*, 22(1), 43-57. [URL]
- Kuruppacharil P. V. (2012). Handbook of herbs and spices. *Elsevier*. [URL]
- Lahera-Ramón, V. (2010). Infraestructura sustentable: las plantas de tratamiento de aguas residuales. *Quivera Revista de Estudios Territoriales*, 12(2), 58-69. [URL]
- Lichtenthaler, H. K. & Wellburn, A. R. (1983). Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions* 11: 591-592. [URL]
- Lim L. L., T. Y. Wu, E. Y. S. Sim, P. N. Lim, C. Clarke. 2012. "Biotransformation of rice husk into organic fertilizer through vermicomposting". *Ecological Engineering*. 41:60-64.

- Lim, S. L., Lee, L. H., & Wu, T. Y. (2016). Sustainability of using composting and vermicomposting technologies for organic solid waste biotransformation: recent overview, greenhouse gases emissions and economic analysis. *Journal of Cleaner Production*, 111, 262-278. doi.org/10.1016/j.jclepro.2015.08.083
- Lindbo, D. L., Kozlowski, D. A., & Robinson, C. (2012). Know soil, know life. Madison, WI: *Soil Science Society of America*. [URL]
- Lozada, S. M., y García, L. 2009. Estrés oxidativo y antioxidantes: cómo mantener el equilibrio. *Revista de la Asociación Colombiana*, 17: 172-179.
- Loza-Murguía M., Mamani F., & Sainz H. (2011). Efecto de la Lombriz Roja Californiana (*Eisenia foetida*) durante el composteo y vermicomposteo en predios de la Estación Experimental de la Unidad Académica Campesina Carmen Pampa. Universidad Católica Boliviana San Pablo-UCB. La Paz, Bolivia. Pp. 19. [URL]
- Luters, A., & Salazar, J. C. (2000). Guía para la evaluación de la calidad y salud del suelo. Traducción al español del: "Soil Quality Test Kit Guide". Argentina, Instituto de Suelos. [URL]
- Macfarlane, G. R., & Burchett, M. D. (2001). Photosynthetic pigments and peroxidase activity as indicators of heavy metal stress in the grey mangrove, *Avicennia marina* (Forsk.) *Vierh. Marine Pollution Bulletin*, 42: 233-240. doi.org/10.1016/S0025-326X(00)00147-8
- Martínez, J. D. L., Salas-Pérez, L., Soto, R. V., García, V. J. B., Rangel, P. P., & Seañez, A. R. (2017). Efecto del potasio en el contenido fenólico y capacidad antioxidante de *Ocimum basilicum* L. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(1), 133-145. doi.org/https://doi.org/10.29312/remexca.v8i1.77
- Medellín, L. A. C., Roza, A. M. B., & Trujillo, M. M. P. (2016). Ensayo preliminar sobre la utilización de un medidor portátil de clorofila para estimar el nitrógeno foliar en orégano (*Origanum vulgare* L.). *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 7(2), 150-165. doi.org/10.18359/rfcb.2051
- Michalak, A. (2006). Phenolic compounds and their antioxidant activity in plants growing under heavy metal stress. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(4). [URL]
- Miranda, H. M. & Castro C.L. (2000). El estrés oxidativo en plantas.

- Montes de Oca Castro Manuel & Ruiz López Miguel Ángel. (2008). Manual para el establecimiento y manejo de instalaciones lombrícolas. ICAMEX. Gobierno del Estado de México [URL]
- Mora-Herrera, M. E., & Lopez-Delgado, H. A. (2007). Freezing tolerance and antioxidant activity in potato microplants induced by abscisic acid treatment. *American Journal of Potato Research*, 84(6), 467. doi.org/10.1007/BF02987883
- Morgan, J. A. (2010). Heavy Metals, Earthworms, and Vermicomposts. En Edwards, C. A., Arancon, N. Q., & Sherman, R. L. (Eds.). In *Vermiculture technology: earthworms, organic wastes, and environmental management*. CRC press. [URL]
- Nguyen, P. M., & Niemeyer, E. D. (2008). Effects of nitrogen fertilization on the phenolic composition and antioxidant properties of basil (*Ocimum basilicum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56: 8685-8691. doi: 10.1021/jf801485u
- NOM-003-SEMARNAT. (1997). Establece los Límites Máximos Permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas, que se resumen en servicios al público. *Norma Oficial Mexicana. Dirección General de Normas*. [URL]
- NOM-021. (2002). 021-RECNAT-2000. *Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación*. [URL]
- NOM-MX- 109. (2008). Humus de lombriz (lombricomposta)-especificaciones y métodos de prueba. NMX-FF-109-SCFI-2008. *Diario Oficial de la Federación*. México, DF 24p. [URL]
- NORMA Oficial Mexicana. (2000) NOM-004-SEMARNAT-2002, Protección ambiental.- Lodos y biosólidos.-Especificaciones y límites máximos permisibles de contaminantes para su aprovechamiento y disposición final. [URL]
- Orcutt, D. M. (2000). *The physiology of plants under stress: soil and biotic factors* (Vol. 2). John Wiley & Sons. [URL]
- Pérez-Tortosa, V. (2008). Evaluación de la actividad antioxidante de plantas de tomillo. [URL]
- Pushpangadan P. & George V. (2012). *Handbook of herbs and species*. 55-72. doi.org/10.1533/9780857095671.55

- Ramalho, R. S. (1990). Tratamiento de aguas residuales. *Reverté*. [URL]
- Reyes, Y., Vergara, I., Torres, O., Lagos, M. D., & Jiménez, E. E. G. (2016). Contaminación por metales pesados: implicaciones en Salud, ambiente y seguridad alimentaria. *Ingeniería Investigación y Desarrollo: I2+ D*, 16(2), 66-77. [URL]
- Roblero-Ramírez, H. R., Nava-Pérez, E., Valenzuela-Quiñónez, W., Báez, C., Ricardo, J., & Rodríguez-Quiroz, G. (2014). Evaluación de cinco dosis de vermicomposta en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, (8). [URL]
- Rodríguez, J. J. H., Mosqueda, M. C. R., & Elizarraraz, R. A. (2018). Análisis de biosólidos para su uso agrícola en una hortaliza. *Jóvenes en la ciencia*, 3, 340-344. [URL]
- Rugama, P., & Hasiell, E. (2018). Evaluación de la fertilización orgánica (biol) y sintética sobre el crecimiento y rendimiento del cultivo del maíz (*Zea Mays* L.), cv. NB 9043, bajo riego complementario por goteo, finca El Plantel, Masaya 2017 (Doctoral dissertation, Universidad nacional Agraria). [URL]
- Sagarpa. (2007). Norma Mexicana de humus y lombriz, especificaciones y métodos de prueba. Diario Oficial. NMX-FF-109-SCFI-2007. [URL]
- Salas Pérez, L., Borroel-García, V. J., Ramírez-Aragón, M. G., & del Rosario Moncayo Luján, M. (2018). Efecto de la adición de ácido ascórbico y té de composta en la producción y capacidad antioxidante de forraje hidropónico de maíz. *Nova Scientia*, 10(20). [URL]
- Sánchez, N. C., Hernández, G. O., Uribe, M. H. R. & Espino, V. M. S. (2004). Mayor producción de alfalfa fertilizando el suelo con biosólidos. INIFAP, Centro de Investigación Regional Norte-Centro, Campo Experimental Delicias. [URL]
- Sandoval R. F. (2013). Degradación de lodos residuales provenientes del tratamiento de aguas residuales municipales por medio de la vermicomposta para obtener humus líquido. [URL]
- Sartaj A. B., Jaswinder S., Adarsh P. V. (2017). Instrumental characterization of organic wastes for evaluation of vermicompost maturity. *Journal of Analytical Science and Technology*. 8:2-12.

- Segura, L. M. S., & Arriaga, J. A. L. (2003). Principios básicos de contaminación ambiental. *UAEM*. [URL]
- Sepúlveda, T. V. (2005). Suelos contaminados por metales y metaloides: muestreo y alternativas para su remediación. *Instituto Nacional de Ecología*. [URL]
- Sharma, S. (2003). Municipal solid waste management through vermicomposting employing exotic and local species of earthworms. *Bioresource Technology*, 90: 69-173. doi.org/10.1016/S0960-8524(03)00123-8
- Sheppard, S., Evender, W., Corwell, T. 1997. Depuration and uptake kinetics of I, Cs, Mn, Zn and Cd by the earthworms (*Lumbricus terrestris*) in radiotracer-spiked litter. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 10: 1206-1212.
- Singh, S., Singh, J., & Vig, A. P. (2016). Earthworm as ecological engineers to change the physico-chemical properties of soil: Soil vs vermicast. *Ecological Engineering*, 90: 1-5. doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.01.072
- Soil Science Society of America, 2015. <https://www.soils.org/about-society>
- Suthar, S., & Singh, S. (2008). Vermicomposting of domestic waste by using two epigeic earthworms (*Perionyx excavatus* and *Perionyx sansibaricus*). *International Journal of Environmental Science & Technology*, 5(1), 99-106. doi.org/10.1007/BF03326002
- Suthar, S., Sajwan, P., & Kumar, K. (2014). Vermiremediation of heavy metals in wastewater sludge from paper and pulp industry using earthworm *Eisenia fetida*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 109, 177-184. doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.07.030
- Takahama, U., & Oniki, T. (2000). Flavonoids and some other phenolics as substrates of peroxidase: physiological significance of the redox reactions. *Journal of Plant Research*, 113(3), 301-309. doi.org/10.1007/PL0001393
- Tambussi, E. A. (2004). Fotosíntesis, fotoprotección, productividad y estrés abiótico: Algunos casos de estudio. Universitat De Barcelona. Barcelona España. 65-72. [URL]
- Tarango-Rivero, S. H., Alarcón-Herrera, M. T., & Orrantia-Borunda, E. (2011). Crecimiento, rendimiento, metales pesados y microorganismos en suelo y frutos de nogal pecanero fertilizados con biosólidos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 2(6), 799-811. [URL]

- Tello, E., Garrabou, R., Cussó, X., & Olarieta, J. R. (2010). Sobre la sostenibilidad de los sistemas agrarios. Balances de nutrientes y sistemas de fertilización en la agricultura catalana a mediados del siglo XIX. La reposición de la fertilidad en los sistemas agrarios tradicionales. *Icaria*, Barcelona, 171-216. [URL]
- Utria-Borges, E., Cabrera-Rodríguez, J. A., Reynaldo-Escobar, I. M., Morales-Guevara, D., Fernández, A. M., & Toledo T, E. 2008. Utilización agraria de los biosólidos y su influencia en el crecimiento de plántulas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14: 33-39. [URL]
- Vicencio-De La Rosa, M., Pérez-López, M., Medina-Herrera, E., & Martínez-Prado, M. A. 2011. Producción de composta y vericomposta a partir de los lodos de la planta de tratamiento de aguas residuales de un rastro. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27: 263-270. [URL]
- Walkley, A. (1947). A critical examination of a rapid method for determining organic carbon in soils-Effect of variations in digestion conditions and of inorganic soil constituents. *Soil Science*, 63(4), 251-264. [URL]
- Waterman P.G. & Mole S. (1994). Analysis of Phenolic Plant Metabolites. *Blackwell Scientific Publication*, Oxford, págs. 1-238. [URL]
- Wild. A. (1992). Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según *Russell*. Madrid [URL].
- Zúñiga, F. B. (1999). Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados (Vol. 1). *Uady*. [URL]

## 10 Anexos

### Anexo 1. Inclusión y propagación in vitro de acuerdo con Mora-herrera y López-Delgado

Obtener el material biológico: Se deshojan los tallos, protegiendo las yemas y se cortan en segmentos de aproximadamente 0.5 mm que contengan una yema cada uno.

1. Cualquier material se lava agitándolos con jabón ROMA/Detergente por 2 minutos, drenar el agua con jabón, enjuagar con agua y volver a drenar (utilizar colador).
2. Preparar una solución de alcohol al 70% con agua destilada (70 mL Alcohol Eílico 95-99 GL: 30 mL agua destilada), remojar durante segundos 15.

\*No se enjuaga, solo se drena la solución de alcohol.

3. Preparar una solución de Cloro al 25% (25 mL cloro (Cloralex): 75 mL agua destilada) con una gota de TWEEN-20 en 200 mL de solución. Remojar en la solución de cloro durante 15 Minutos.

#### PASAR A LA CAMPANA DE FLUJO LAMINAR

4. Enjuagar 4 (Cuatro) veces con agua destilada y esterilizada y se deja en Agua destilada/esterilizada mientras se utilizan, HASTA EL MOMENTO DE LA SIEMBRA.
5. Sembrar en el medio requerido.

## Anexo 2. Preparación de sales de medio de cultivo Murashige y Skoog

Sustancia	Formula	Cantidad para 1000 mL
Nitrato de amonio	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	17.5 g
Nitrato de potasio	$\text{KNO}_3$	20 g
Cloruro de calcio	$\text{CaCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	4.5 g
Fosfato de potasio	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1.75 g
Ácido bórico	$\text{H}_3\text{BO}_3$	50 mg
Sulfato de manganeso	$\text{MnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	200 mg
Sulfato de zinc	$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100 mg
Yoduro de potasio	$\text{KI}$	10 mg
Molibdato de sodio	$\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2.5 mg
Sulfato cúprico 5mg	$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5 mL de solución preparada
Cloruro de cobalto 5 mg	$\text{CoCl}_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	

**Anexo 3.** Medio de cultivo G para trasplante de papas (100% de sales)

<b>Solución</b>	<b>Para 1000 mL</b>
Sales	100 mL
Sulfato de magnesio (MgSO <sub>4</sub> )	10 mL
Inositol	10 mL
Hierro (Fe)	5 mL
Ácido nicotínico	1 mL
Tiamina	1 mL
Pantotenato de calcio	2 mL
Glicina	4 mL
GA3	1 mL
Azúcar	30 g
Agar bacteriológico	7.5 g

Llevar a pH de 5.6 a 5.7

#### Anexo 4. Disposición del diseño experimental en bloques

C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>	C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>	C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>
T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>	T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>	T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>

C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>	C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>	C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>
T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>	T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>	T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>

C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>	C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>	C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>
T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>	T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>	T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>

C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>	C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>	C	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>
T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>	T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>	T <sub>0</sub>	∅	T <sub>60</sub>

\*Cultivo de papa 

\*Cultivo de albahaca 

#### Tratamientos

- C: Peat moss y agrolita (2:1)
- T<sub>0</sub>: Suelo agrícola
- T<sub>20</sub>: Suelo + vermicomposta (20 t ha<sup>-1</sup>)
- T<sub>40</sub>: Suelo + vermicomposta (40 t ha<sup>-1</sup>)
- T<sub>60</sub>: Suelo + vermicomposta (60 t ha<sup>-1</sup>)

**Anexo 5.** Cálculo de la dosis para cada maceta

Área

$$A = \pi r^2$$

**Albahaca**

$$D = 32.5$$

$$A = 829.57 \text{ cm}^2 = 0.082957 \text{ m}^2$$

Para sustrato seco

$$20 \text{ tha}^{-1} = 0.1659 \text{ kg} = 165.9 \text{ g}$$

$$40 \text{ tha}^{-1} = 0.3318 \text{ kg} = 331.8$$

$$60 \text{ tha}^{-1} = 0.4977 \text{ kg} = 497.7 \text{ g}$$

Para 75.6% de humedad

$$20 \text{ tha}^{-1}: 165.9 \text{ g} \times 1.756 = 291.33 \text{ g}$$

$$40 \text{ tha}^{-1}: 331.8 \text{ g} \times 1.756 = 582.67 \text{ g}$$

$$60 \text{ tha}^{-1}: 497.7 \text{ g} \times 1.756 = 874.01 \text{ g}$$

**Papa**

$$D = 34.5$$

$$A = 934.82 \text{ cm}^2 = 0.093482 \text{ m}^2$$

Para sustrato seco

$$20 \text{ tha}^{-1} = 0.1869 \text{ kg} = 186.9 \text{ g}$$

$$40 \text{ tha}^{-1} = 0.3738 \text{ kg} = 373.8 \text{ g}$$

$$60 \text{ tha}^{-1} = 0.5607 \text{ kg} = 560.7 \text{ g}$$

Para 75.6% de humedad

$$20 \text{ tha}^{-1}: 186.9 \text{ g} \times 1.756 = 328.19 \text{ g}$$

$$40 \text{ tha}^{-1}: 373.8 \text{ g} \times 1.756 = 656.39 \text{ g}$$

$$60 \text{ tha}^{-1}: 560.7 \text{ g} \times 1.756 = 984.58 \text{ g}$$

**Cuadro de dosis para 75.6 % de humedad**

Tratamiento	T <sub>20</sub>	T <sub>40</sub>	T <sub>60</sub>
Albahaca	292 g	584 g	876 g
Papa	329 g	657 g	986 g

## **Anexo 6.** Determinación de la textura del suelo por el procedimiento de Bouyoucos a través del método AS-09.

La textura del suelo define como la proporción relativa de grupos dimensionales de partículas; y proporciona una idea general de las propiedades físicas del suelo.

### Reactivos

1. Agua oxigenada al 30%.
2. Oxalato de sodio saturado: Disolver 30 g de oxalato de sodio en 1 litro de agua.
3. Metasilicato de sodio con 36 g L<sup>-1</sup> de lectura con el hidrómetro: Disolver 50 g de metasilicato de sodio en 1 litro de agua y ajustar la solución hasta que se obtenga una lectura de 36 con el hidrómetro
4. Hexametáfosfato de sodio (calgón): Disolver 50 g de (Na<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>)<sub>6</sub> en agua destilada y aforar a un litro.

### Procedimiento

Se pesan 60 g de suelo de textura fino o 120 g de suelo de textura gruesa en un vaso de precipitados de 500 mL y se agregan 40 mL de agua oxigenada y poner a evaporar hasta sequedad; repetir hasta que no haya efervescencia al agua oxigenada.

Después de eliminar la materia orgánica y llevar a sequedad el suelo se adiciona agua hasta cubrir la superficie con una lámina de 2 cm. Agregar 5 mL de oxalato de sodio y 5 mL de metasilicato de sodio y se deja reposar durante 15 minutos. Si el suelo tiene mucha arcilla puede prolongarse el tiempo hasta media hora. 3. Pasar las muestras de los vasos de precipitado a las copas del agitador mecánico y dispersar durante cinco minutos. Al finalizar el tiempo de agitación, bajar la copa del dispersor y pasar el contenido a una probeta de 1000 mL. Se agrega agua destilada hasta completar un litro con el hidrómetro dentro de la suspensión. Sacar el hidrómetro y suspender el suelo con un agitador de mano operando durante un minuto.

Tomar las lecturas del hidrómetro a los 40 segundos y después de 2 horas de terminada la dispersión con el agitador de mano

#### Cálculos

La lectura a los 40 segundos multiplicada por 2 es igual al porcentaje de arcilla más limo. Restando de 100 se obtiene el porcentaje de arena. La lectura obtenida a 2 horas multiplicadas por 2 es igual al porcentaje de arcilla. El porcentaje de limo se obtiene por diferencia. Cuando se usan 100 g no debe multiplicarse por 2 ya que el hidrómetro está calibrado en porcentajes considerando 100 g de suelo. Con los porcentajes de limo, arena y arcilla se determina la textura correspondiente con el triángulo de texturas.

## **Anexo 7. Método AS-02: Método electrométrico para la determinación del pH en muestras de suelo**

La evaluación electrométrica del pH se basa en la determinación de la actividad del ion H mediante el uso de un electrodo cuya membrana es sensitiva al H. En el caso de los suelos el pH se mide potenciométricamente en la suspensión sobrenadante de una mezcla de relación suelo: agua 1:2.

### *Reactivos*

Los reactivos utilizados en esta determinación deben ser grado analítico y el agua utilizada en la preparación de las soluciones debe ser destilada o desionizada.

### *Procedimiento*

Se pesan 10 g de suelo en un frasco de vidrio o plástico de boca ancha y se adicionan 20 mL de agua destilada; se agita manualmente la mezcla de suelo: agua a intervalos de 5 minutos, durante 30 minutos; y se deja reposar durante 15 minutos. Al transcurrir el tiempo, se agita nuevamente la suspensión y se introduce el electrodo en la suspensión.

### Interpretación de resultados

Para la clasificación del suelo en cuanto a su valor de pH se presenta el siguiente cuadro:

Clasificación	pH
Fuertemente ácido	< 5.0
Moderadamente ácido	5.1 - 6.5
Neutro	6.6 - 7.3
Medianamente alcalino	7.4 - 8.5
Fuertemente alcalino	> 8.5

## Anexo 8. Conductividad eléctrica (CE), con el método AS-18

La medición de la conductividad eléctrica en el extracto de saturación se realizará a través del método AS-18, con un conductímetro sobre un extracto de saturación de un suelo por medición electrolítica y una celda de conductividad como sensor.

La conductancia eléctrica (C) se determina a partir de los valores del voltaje (V) y la corriente (I).  $C = I/V$  La conductividad eléctrica (CE) se calcula multiplicando la conductancia medida por la constante de celda (L/A)  $CE = C \times (L/A)$  Donde: L = Longitud de la columna de líquido entre los electrodos (cm).

Procedimiento 1. Lavar y llenar la celda de conductividad con solución de KCl. 2. Ajustar el medidor de conductividad para leer la conductividad estándar de la solución de KCl. 3. Lavar y llenar la celda con el extracto de saturación del suelo y leer la conductividad eléctrica del extracto corregido a 25°C.

### Interpretación de conductividad eléctrica

CE dS m <sup>-1</sup> a 25°C	Efectos
< 1.0	Efectos despreciables de la salinidad
1.1 - 2.0	Muy ligeramente salino
2.1 - 4.0	Moderadamente salino
4.1 - 8.0	Suelo salino
8.1 - 16.0	Fuertemente salino
> 16.0	Muy fuertemente salino

## **Anexo 9.** Determinación de materia orgánica del suelo a través del método AS-07, de Walkley y Black.

La determinación de materia orgánica del suelo se evalúa a través del contenido de carbono orgánico con el método de Walkley y Black. Este método se basa en la oxidación del carbono orgánico del suelo por medio de una disolución de dicromato de potasio y el calor de reacción que se genera al mezclarla con ácido sulfúrico concentrado. Después de un cierto tiempo de espera la mezcla se diluye, se adiciona ácido fosfórico para evitar interferencias de  $\text{Fe}^{3+}$  y el dicromato de potasio residual es valorado con sulfato ferroso.

### *Reactivos*

Los reactivos que a continuación se mencionan deben ser grado analítico.

1. Dicromato de potasio 0.166 M o 1N: Disolver 48.82 g de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  en agua destilada aforar a 1000 mL en un matraz volumétrico.
2. Ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).
3. Ácido fosfórico concentrado ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ).
4. Indicador de difenilamina: Disolver 0.5 g de difenilamina en 20 mL de agua y añadir 100 mL de ácido sulfúrico concentrado.
5. Sulfato ferroso 1.0 M: Disolver 278 g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  en agua a la que previamente se le añadieron 80 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado, enfriar y diluir a un litro.

### *Procedimiento*

Se pesan 0.5 g de suelo seco y tamizado (0.5 mm), se coloca en un matraz Erlenmeyer de 500 mL; se procesar un blanco con reactivos por triplicado al matraz se le adicionan exactamente 10 mL de dicromato de potasio 1 N girando el matraz cuidadosamente para que entre en contacto con todo el suelo. Se agrega con una bureta 20 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado a la suspensión; se agita el matraz durante un minuto y se dejar reposar durante 30 minutos sobre una lámina de asbesto o sobre una mesa de madera. Transcurrido el tiempo se agregan

200 mL de agua destilada, 5 mL de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentrado y de 5 a 10 gotas del indicador de difenilamina.

La mezclas se titula con la disolución de sulfato ferroso gota a gota hasta un punto final verde claro.

*Cálculos*

$$\% C \text{ Orgánico} = \left( \frac{B - T}{g} \right) (N)(0.39) mcf$$

Dónde:

B = Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar el blanco de reactivos (mL)

T = Volumen de sulfato ferroso gastado para valorar la muestra (mL).

N = Normalidad exacta del sulfato ferroso (valorar por separado al momento de analizar las muestras)

g = Peso de la muestra empleada (g).

mcf = factor de corrección de humedad.

$$\% \text{ Materia orgánica} = \% C \text{ Orgánico} \times 1.724$$

El factor 0.39 resulta de multiplicar:

$$\frac{12}{4000} \times \frac{1}{0.77} \times 100 = 0.39$$

Dónde:

$\frac{12}{4000}$  es el peso miliequivalente del C

$\frac{1}{0.77}$  es un factor de corrección debido a que se supone que el método sólo oxida 77% del C

**100** es la conversión a porcentaje.

Resultados de Materia Orgánica

Los valores de referencia para clasificar la concentración de la materia orgánica en los suelos minerales y volcánicos se presenta en el cuadro siguiente:

Clase	Materia orgánica (%)	
	Suelos volcánicos	Suelos no volcánicos
Muy bajo	< 4.0	< 0.5
Bajo	4.1 – 6.0	0.6 – 1.5
Medio	6.1 – 10.9	1.6 – 3.5
Alto	11.0 – 16.0	3.6 – 6.0
Muy alto	> 16.1	> 6.0

**Anexo 10.** Determinación de actividad enzimática de Peroxidasa (POD, EC 1.11.1.7).

*Extracción de proteína.*

El tejido de la plantas se cosecha y directamente se muele en nitrógeno líquido y se extrae en una proporción de 0.5 g /2 mL (100 mg/ 400  $\mu$ L) de un buffer con: **50 mM fosfato de potasio pH 7.2, 5 mM DTT, 1mM de EDTA, y 1% de polyvinylpolypyrrolide.**

*Para preparar 100 mL de buffer:*

Pesar 0.340 g (340.2 mg) de fosfato de potasio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) y llevarlo a 50 mL de agua destilada y 0.87 g (871.0 mg) fosfato de potasio bibásico ( $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) pesar y llevarlo a 100 mL de agua destilada. Para ajustar el pH se puede iniciar con el fosfato de potasio monobásico y se va agregando poco a poco el fosfato bibásico hasta ajustar el pH a 7.2. Una vez ajustado el pH del buffer de fosfatos se toman 100 mL y se le agregase agrega a la solución: 0.037 g (37.2 mg) de EDTA, 1.0 g de polivinil polipirridona, y .077g (77.0 mg) de DTT. Una vez elaborado el buffer se guarda en alícuotas de 7-10 mL en congelación. La muestra se se centrifuga a 10 000 g por 15 minutos a 4 ° C.

*Buffer de mezcla de reacción*

La mezcla de reacción contiene fosfato de sodio **50 mM pH 7.0, 3.33 mM de guaiacol y 4 mM de  $\text{H}_2\text{O}_2$  y 0.08 mL (80  $\mu$ l) de la muestra en un volumen final de 2 ml**

La actividad se determina por la oxidación de guaiacol en la presencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$ .  $\epsilon = 26.6 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

Pesar 0.344 g de fosfato de sodio ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) llevarlo a 50 mL y 0.7098 g de fosfato de sodio dibasico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) llevar a 100 mL de agua destilada, para ajustar el pH en un vaso de precipitado de 200 mL los 50 mL del amortiguador de fosfato de potasio monobásico e ir agregando poco a poco de la solución de fosfato de sodio dibásico hasta alcanzar un pH de 7.0.

A 125 de la solución que ya tiene el pH de 7.0 se le agregan 51.25  $\mu$ L de guaiacol y 56.25  $\mu$ L de 30% de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La reacción se lleva a cabo a 25°C.

El blanco es: Buffer con guaiacol más H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

Para la reacción se agregas 1.92 mL del buffer con guaiacol y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> más 80 µl de la muestra y se agita lo mas rapidamente posible y se lee, a 470 nm en intervalos de 30 segundos durante 3 minutos

## **Anexo 11.** Método de Folin-Ciocalteu para la cuantificación de compuestos fenólicos totales

### *Extracción de la muestra*

- Pesar 0.1 g de muestra y macerarlos en 5 ml de metanol al 50%.
- Se pone en baño maría por 5 minutos (hirviendo).
- Se centrifuga a 4500 rpm por 10 minutos. Las muestras se pueden almacenar en refrigeración.

### *Método*

- Se toman alícuotas de 0.2 mL (esta cantidad depende de del tipo de muestra que se trate, no debe oscurecer mucho cuando se le agrega el carbonato de sodio) de muestra por triplicado
- Se le adicionan 0.075 mL del reactivo Folin-Ciocalteu
- Se le adicionan 0.25 mL de solución de carbonato de sodio 20% (2 g de carbonato de sodio en 10 mL) antes de 8 minutos Nota: si se precipita al agregar este reactivo, entonces agregar primero el agua y después el carbonato de sodio)
- Se afora a 4.5 mL con agua destilada y se deja reposar por 30 minutos (en oscuridad)
- Se lee la absorbancia a 760 nm
- Para la curva patrón se utiliza ácido tánico o ácido gálico
- Se diluye 0.010 g (10 mg) de ácido gálico (o tánico) en 10 mL de metanol 80%.
- Cada muestra (con dos o tres repeticiones) incluida la de la curva se lee por duplicado.

Concentración final	Agua para un volumen final de 4.5 mL	Ácido tánico	Reactivo de folin	Carbonato de sodio (20%)
Blanco (0)	3.850 mL	0	0.150 mL	0.5 mL
0.005 mg	3.845 mL	0.005 mL	0.150 mL	0.5 mL
0.010 mg	3.840 mL	0.010 mL	0.150 mL	0.5 mL
0.015 mg	3.835 mL	0.015 mL	0.150 mL	0.5 mL
0.020 mg	3.830 mL	0.020 mL	0.150 mL	0.5 mL
0.025 mg	3.825 mL	0.025 mL	0.150 mL	0.5 mL
0.030 mg	3.820 mL	0.030 mL	0.150 mL	0.5 mL
0.035 mg	3.815 mL	0.035 mL	0.150 mL	0.5 mL
0.040 mg	3.810 mL	0.040 mL	0.150 mL	0.5 mL
0.045 mg	3.805 mL	0.045 mL	0.150 mL	0.5 mL
0.050 mg	3.800 mL	0.050 mL	0.150 mL	0.5 mL
Muestra				
Muestras (tres repeticiones)	3.8 mL	0.200 mL	0.150 mL	0.500 mL

Todos los reactivos se hacen en fresco. Los datos se expresaron en *mg* de ácido tánico por *g* de peso fresco (*mg* ácido tánico *g*-1 PF).

Los tonos van de blanco a azul a más azul más contenido de polifenoles, si el azul es muy fuerte diluir las muestras y la curva.

## Anexo 12. Capacidad antioxidante utilizando el método de DPPH

### *Extracción de la muestra.*

1. Pesar 0.1 g de muestra y macerarlos en 5 mL de metanol al 50%.
2. Se pone en baño maría por 5 minutos (hirviendo).
3. Se centrifuga a 4500 rpm por 5 minutos. Las muestras se pueden almacenar en refrigeración.

### *Soluciones*

- DPPH 250  $\mu\text{M}$  9.5 mg en 100 mL de metanol al 80%.

750  $\mu\text{L}$  de muestra más 2.25 mL de la solución de DPPH. Esperar media hora y leer a 517 nm.

El blanco es metanol al 50%.

$\% \text{ DPPH} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100$   $A_0$  Abs DPPH  $A_1$  Absorbencia muestra

Para la curva de AA (ácido ascórbico) o trolox.

Hacer una solución madre de 10 mg en 10 mL

Pasa de un color morado aun amarillo

Cada muestra (con dos repeticiones) incluida la de la curva se lee por duplicado.

Concentración final	Agua para un volumen final de 3 mL	Ácido ascórbico o Trolox.	DPPH 50 $\mu\text{M}$
Blanco (0)	250 $\mu\text{l}$	0	2.75 mL
0.005 mg	245 $\mu\text{l}$	05 $\mu\text{l}$	2.75 mL
0.01mg	240 $\mu\text{l}$	10 $\mu\text{l}$	2.75 mL
0.015mg	235 $\mu\text{l}$	15 $\mu\text{l}$	2.75 mL
0.020 mg	230 $\mu\text{l}$	20 $\mu\text{l}$	2.75 mL
0.025 mg	225 $\mu\text{l}$	25 $\mu\text{l}$	2.75 mL
0.030 mg	220 $\mu\text{l}$	30 $\mu\text{l}$	2.75 mL
0.035 mg	215 $\mu\text{l}$	35 $\mu\text{l}$	2.75 mL
0.040 mg	210 $\mu\text{l}$	40 $\mu\text{l}$	2.75 mL
		<b>Muestra</b>	
<b>Muestras (dos repeticiones)</b>	<b>0 mL</b>	<b>0.250 mL</b>	<b>2.75 mL</b>

### **Anexo 13.** Cuantificación de pigmentos para hoja de albahaca

La cuantificación de los pigmentos fotosintéticos se hizo de acuerdo al método de Lichtenthaler y Wellburn (1983). Veinticinco mg de tejido de hoja (madura tomada de la parte central del tallo principal) se maceraron en 2 mL de acetona al 80% (4 °C). El extracto se centrifugó a 2500 g durante 10 minutos y el sobrenadante se recuperó y ajustó a 2 mL. Se midió la absorbancia a 470 nm, 646 nm y 663 nm. Las concentraciones de clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b), xantofilas y carotenoides (x+c) se calcularon empleando la fórmula:

$$\text{Chla} = 12.21 A_{663} - 2.81 A_{646}$$

$$\text{Chlb} = 20.13 A_{646} - 5.03 A_{663}$$

$$\text{Cx+c} = (1000 A_{470} - 3.27 [\text{Chla}] - 107 [\text{Chlb}]) / 229$$

Los resultados obtenidos se expresados en  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  de peso fresco (PF)

**Anexo 14.** Índices de crecimiento empleados en fisiología vegetal y de cultivos

Índice de crecimiento	Símbolo	Valor instantáneo	Valor promedio en un intervalo de tiempo (T2-T1)	Unidades
Tasa de crecimiento relativo	TCR	$\frac{1}{w} \frac{dw}{dt}$	$TCR = \frac{\ln W2 - \ln W1}{(T2 - T1)}$	g/(g día)
Tasa de asimilación neta	TAN	$\frac{1}{AF} \frac{dw}{dt}$	$TAN = \frac{\frac{(W2 - W1)}{(T2 - T1)}}{\frac{\ln AF2 - \ln AF1}{AF2 - AF1}}$	g/(cm <sup>2</sup> día)
Índice de área foliar	IAF	$\frac{AF}{As}$	$IAF = \frac{\frac{(AF2 + AF1)}{2}}{\frac{1}{As}}$	Dimensional según las unidades
Tasa de crecimiento del cultivo	TCC	$\frac{1}{As} \frac{dw}{dt}$	$TCC = \frac{1}{As} \times \frac{(W2 - W1)}{T2 - T1}$	g/(cm <sup>2</sup> día)
Tasa absoluta de crecimiento	TAC	$\frac{dw}{dt}$	$TAC = \frac{W2 - W1}{T2 - T1}$	g/día
Duración de área foliar	DAF	-	$DAF = \frac{(AF2 + AF1) \times (T2 - T1)}{2}$	cm/día
Área foliar específica	AFE	$\frac{AF}{MF}$	$AFE = \frac{\frac{AF2}{W2} + \frac{AF1}{w1}}{2}$	cm <sup>2</sup> /g