



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Ingeniería Agroindustrial

Determinación de compuestos bioactivos en la planta *Cucumis sativus* L
(pepino) evaluando diferentes tipos de fertilización en invernadero

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

Ingeniero Agroindustrial

Presenta:

José Antonio Oidor Juárez

Dirigido por:

M. en C. Laura Mejía Teniente

SINODALES

Laura Mejía Teniente
Presidente

Firma

Ramón G. Guevara Gonzales
Secretario

Firma

Angela María Chapa Oliver
Vocal

Firma

Arturo Arana Juaristí
Suplente

Firma

Dr. Aurelio Domínguez Gonzales
Nombre y Firma
Director de la Facultad

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Noviembre de 2013
México

RESUMEN

En la actualidad, se encuentran suelos agrícolas con diferente nivel de deterioro tanto en la rizosfera como en el suelo mismo, y este nivel depende de la intensidad, frecuencia y duración de la aplicación de fertilizantes químicos, incrementando la necesidad de emplear alternativas a la fertilización química. La fertilización biorracional aplicada en *Cucumis Sativus L* (pepino) aporta además de los nutrientes necesarios para su desarrollo, un incremento de metabolitos secundarios en la planta. Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar, donde se busca determinar la cantidad de metabolitos producidos en la planta respecto al tipo de fertilización utilizada, los tratamientos a utilizar fueron diversas combinaciones de regímenes de fertilización entre rizobacterias, fertilización química, humus de lombriz y un lavado de suelo de un campo experimental. Las variables de respuesta que se determinaron fueron la cantidad de fenoles totales, cantidad de flavonoides totales y la capacidad antioxidante. El objetivo del trabajo, fue determinar si una fertilización biorracional, puede incrementar estas variables de respuesta respecto a una fertilización química convencional. El tratamiento denominado biorracional¹ fue el que obtuvo una mayor cantidad de fenoles y una mayor capacidad antioxidante, mientras que la cantidad de flavonoides totales no se encontró una diferencia significativa entre los diferentes tratamiento. De esta manera se determina que la aplicación de una fertilización de tipo biorracional aumenta la cantidad de metabolitos secundarios en la planta de pepino.

Palabras Clave: (fertilización biorracional, metabolitos secundarios, rizobacterias)

SUMMARY

Currently, agricultural soils are located with different levels of impairment of both the rhizosphere as in the soil itself, and this level depends on the intensity, frequency and duration of the application of chemical fertilizers, increasing the need to use alternative to fertilization chemistry. Fertilization applied biorational *Cucumis sativus* L (Cucumber) also provides the nutrients needed for growth, an increase of secondary metabolites in the plant. Experimental design was a randomized block, which seeks to determine the amount of metabolites produced in the plant about the type of fertilizer used, the treatments used were various combinations of fertilization regimes between rhizobacteria, chemical fertilizer, worm castings and soil washing of an experimental field. The response variables were determined were the amount of total phenols, total flavonoids and antioxidant capacity. The objective of this study was to determine if a biorational fertilization may increase these response variables relative to a conventional chemical fertilization. The treatment was called biorracional1 which had a higher amount of phenols and antioxidant capacity increased, while the amount of total flavonoids found no significant difference between the different treatment. In this manner it is determined that the application of a type biorracional fertilization increases the amount of secondary metabolites in the cucumber plant.

Keywords: (Fertilization biorational, Secondary metabolites, Rhizobacteria)
Súbelos a la misma página del summary

**A los alumnos de la carrera de Ingeniería Agroindustrial de la
Universidad Autónoma de Querétaro**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a :

Dr. Ramón Gerardo Guevara Gonzales.

Por su apoyo antes, durante y después de la realización de este trabajo.

M. en C. Laura Mejía Teniente.

Por los consejos y correcciones hechas a este trabajo.

Compañeros de generación.

Por su apoyo y trabajo durante el establecimiento del cultivo.

Familia.

El apoyo incondicional.

INDICE GENERAL

Contenido	Página
RESUMEN	i
SUMMARY	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LA LITERATURA	2
2.1 Pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	2
2.1.1 Origen y distribución del pepino	2
2.1.2 Taxonomía del pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	3
2.1.3 Morfología	3
2.1.4 Requerimientos edafoclimáticos	4
2.1.4.1 Temperatura	5
2.1.4.2 Humedad	5
2.1.4.3 Luminosidad	5
2.1.4.4 Suelo	5
2.1.5 Manejo cultural y agronómico del pepino	6
2.1.6 Importancia económica del pepino	7
2.2 Compuestos bioactivos	8
2.2.1 Fenoles	10
2.2.2 Flavonoides	11
2.2.3 Capacidad antioxidante	13
2.2.4 Contenido de metabolitos secundarios en pepino	14
2.2.5 Efecto de la nutrición orgánica en el contenido de metabolitos secundarios en los cultivos	15
2.2.6 Microorganismos relacionados con la producción de compuestos bioactivos	16
2.3 Fertilización	17
2.3.1 Tipos de fertilización	17
2.3.1.1 Fertilización inorgánica / química	17
2.3.1.2 Fertilización orgánica / biofertilización	18

2.3.1.3	Fertilización carbónica	19
2.3.1.4	Fertilización biorracional	20
2.3.1.5	Fertilización alternativa	21
2.3.1.6	Fertirrigación	23
2.3.1.7	Importancia agronómica y medioambiental de la fertilización	23
2.3.1.8	Impacto de los biofertilizantes en México	24
2.3.1.9	Efecto de la fertilización en el contenido de compuestos bioactivos en las plantas	25
3.	JUSTIFICACIÓN	26
4.	HIPÓTESIS	27
5.	OBJETIVOS	27
5.1	Objetivo general	27
5.2	Objetivos específicos	27
6.	METODOLOGÍA	28
6.1	Localización geográfica del proyecto	28
6.1.1	Descripción de la unidad de producción	29
6.2	Material vegetal	29
6.2.1	Siembra y sistema de riego	30
6.3	Diseño experimental	30
6.3.1	Composición de los fertilizantes	32
6.3.1.1	Solución Steiner	32
6.3.1.2	Fertilizante orgánico Q Energy	33
6.3.1.3	Extracto de suelo	33
6.4	Determinación de compuestos bioactivos	34
6.4.1	Preparación del extracto metanólico	34
6.4.2	Determinación del contenido total de fenoles en hojas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	34
6.4.2.1	Curva de calibración de fenoles	35
6.4.3	Determinación del contenido total de flavonoides en hojas pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	36

6.4.3.1	Curva de calibración de flavonoides	37
6.4.4	Determinación de la capacidad antioxidante en hojas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.	38
6.4.4.1	Curva de calibración de capacidad antioxidante	38
6.5	Análisis estadístico	39
7.	RESULTADOS	40
7.1	Contenido de fenoles totales en hojas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	40
7.2	Contenido de flavonoides totales hojas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	41
7.3	Capacidad antioxidante en hojas de pepino (<i>Cucumis sativus</i> L.)	42
8.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
9.	CONCLUSIÓN	45
10.	REFERENCIAS	46

INTRODUCCIÓN

A partir de la revolución verde, el uso de fertilizantes se volvió indispensable en todo el mundo y principalmente en países en desarrollo como México. Con su aplicación se lograron altos rendimientos en cultivos de gran importancia como maíz, trigo y arroz (Caballero, 2009). Se estima que para el año 2013, la demanda mundial de fertilizante aumente a 24 millones de toneladas en comparación con el año 2008 (FAO, 2009). En México, el consumo de fertilizantes comenzó a repuntar a partir del 2007, estimándose que cerca del 75% de la demanda de fertilizantes se cubre esencialmente con importaciones de China, Ucrania, Canadá y EUA (Sagarpa, 2009). No obstante, la necesidad de aplicar tales agroquímicos para elevar la producción de alimentos ha sido cuestionada a través del tiempo, debido a los elevados precios y el impacto ecológico que conllevan debido a que el porcentaje de asimilación del fertilizante en los cultivos es aproximadamente 50% (Caballero, 2009; Armenta-Bojórquez, et al., 2010). Aunado a lo anterior, se encuentran también los residuos agrícolas que representan más de 70 millones de toneladas y pocas veces son utilizados como fuente primaria para la producción de fertilizantes orgánicos u obtención de compuestos bioactivos (Fuentes et al., 2001). En su lugar, estos se queman generando grandes cantidades de CO₂ que contaminan el medio ambiente. Una alternativa para disminuir el uso de fertilizantes, mantener un suelo fértil e incrementar la concentración de compuestos bioactivos en el follaje, es implementar el uso de la fertilización biorracional. Esta se caracteriza por la combinación de fertilizantes orgánicos, minerales y biofertilizantes los cuales constituyen una herramienta viable dado que suponen un importante factor de producción y mantiene la capacidad de producción del suelo. Dado que no se conoce un sistema que integre la fertilización biorracional para el uso del follaje en la obtención de compuestos bioactivos, se propone usar el sistema vegetal *Cucumis sativus* L., para determinar la variabilidad del contenido de compuestos bioactivos por efecto de la fertilización biorracional en este cultivo.

2. REVISION DE LITERATURA

2.1 Pepino (*Cucumis sativus* L.)

El pepino (*Cucumis sativus* L.), también conocido como cohombro en algunas partes de América Latina, es una planta herbácea anual de la familia de las cucurbitáceas. Bajo este nombre se engloban unas 850 especies de plantas, casi todas herbáceas, trepadoras o rastreras, que producen frutos muy grandes y protegidos por una corteza firme. Frutas como la sandía y el melón pertenecen a esta misma familia, junto con hortalizas tan comunes como la calabacita y la calabaza. Está formado en un 95% por agua y no llega a las veinte calorías por cada cien gramos, características que lo hace extremadamente ligero y adecuado para combatir la obesidad. Por su riqueza en agua, vitamina E y aceites naturales, constituye uno de los mejores remedios para el cuidado externo de la piel (SIAP, 2013).

2.1.1 Origen y distribución del pepino

La planta de pepino (*Cucumis Sativus* L) es originario de las regiones tropicales del sur de Asia, sin embargo ha sido cultivada en la India desde hace más de 3000 años (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

El centro de diversificación primario de la especie es la zona sur y este del Himalaya en la India y de ahí fue trasladado para Grecia e Italia y después a China considerado como el segundo centro de diversificación. Posteriormente esta especie fue introducida a Francia en el siglo IX, a Inglaterra en el siglo XIV y a Norte América a mediados del siglo XVI (CONABIO, 2012).

2.1.2 Taxonomía del pepino (*Cucumis sativus* L.)

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Violales

Familia: Cucurbitaceae

Género: *Cucumis* L., 1753

Especie: *sativus* L., 1753

(CONABIO, 2012).

2.1.3 Morfología

El pepino es una planta herbácea anual diploide con 14 cromosomas. Puede caracterizarse por ser un cultivo de verano con una temperatura óptima de crecimiento de 25°C y una temperatura mínima de 15° y que es extremadamente intolerante con el clima frío. La exposición a las condiciones frescas retarda el crecimiento, incluso si las temperaturas siguen siendo por encima de cero grados. Es de crecimiento rastrero o trepador, sus tallos son blandos, flexibles, largos, huecos y algo espinosos. Su crecimiento es indeterminado con formación de nudos y entrenudos. De cada nudo parten una hoja y un zarcillo, que van insertos en lados opuestos. De cada nudo salen también ramas laterales. La planta es monoica con flores unisexuales en la misma planta. Van insertadas en las axilas de las hojas, del tallo principal o de las ramificaciones secundarias.

A la planta de pepino la constituyen:

- I. **Sistema radicular**, el cual es muy potente, dada la gran productividad de esta planta. Consta de raíz principal, que se ramifica rápidamente para dar raíces secundarias superficiales muy finas, alargadas y de color blanco. El pepino posee la facultad de emitir raíces adventicias por

encima del cuello (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

- II. Tallo principal**, el cual se caracteriza por ser anguloso, espinoso, de porte rastrero y trepador. De cada nudo parte una hoja y un zarcillo. En la axila de cada hoja se emite un brote lateral y una o varias flores (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

- III. Hojas**, que se caracterizan por ser grandes, acorazonadas, alternas, ásperas y poseer un largo pecíolo. Su color es verde oscuro en el haz y algo grisáceo en el envés y están recubiertas de un vello muy fino. (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

- IV. Flor**, que se caracterizan por ser de pedúnculo corto y pétalos amarillos. Las flores aparecen en las axilas de las hojas y pueden ser unisexuales, aunque los primeros cultivares conocidos eran monoicos y solamente presentaban flores masculinas y femeninas. En la actualidad todas las variedades comerciales que se cultivan son plantas ginoicas, es decir, sólo poseen flores femeninas que se distinguen claramente de las masculinas porque son portadoras de un ovario ínfero (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

2.1.4 Requerimientos Edafoclimáticos

Estos requerimientos son los pertenecientes o relativos al clima y suelo que serán aptos para el establecimiento y desarrollo de *Cucumis Sativus* L. El manejo racional de estos factores climáticos de forma conjunta son fundamentales para el desarrollo del cultivo, ya que todos se encuentran estrechamente relacionados y la actuación de cada uno de ellos, incide sobre el resto para el desarrollo adecuado del cultivo (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

2.1.4.1 Temperatura

Es un cultivo de clima templado, que a campo abierto no resiste bajas temperaturas: cuando la planta está en el periodo de desarrollo, si ocurre una disminución fuerte de temperatura durante algunos días, puede dar al florecimiento temprano de la planta. El pepino es adaptable a climas cálidos y templados, sin embargo su crecimiento se detiene con temperaturas inferiores a 14°C y mayores de 40°C. La planta muere cuando la temperatura desciende a menos de 1°C, comenzando con un marchitamiento general de muy difícil recuperación (Casaca, 2005).

2.1.4.2 Humedad

El cultivo de pepino requiere de una humedad relativa diurna entre 60-70% y nocturna de 70-90%, Sin embargo, los excesos de humedad durante el día pueden reducir la producción, al disminuir la transpiración y en consecuencia la fotosíntesis, aunque esta situación no es frecuente. Cabe señalar que humedades por encima del 90% pueden originar enfermedades fúngicas (Casaca, 2005).

2.1.4.3 Luminosidad

En cuanto a luminosidad, *Cucumis Sativus* L. es una planta que crece, florece y fructifica con normalidad incluso en días cortos (con menos de 12 horas de luz) a mayor cantidad de radiación solar, mayor es la producción, además una alta intensidad de luz estimula la fecundación de las flores, mientras que una baja intensidad de luz, la reduce (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

2.1.4.4 Suelo

Cucumis Sativus L. se puede cultivar en una amplia gama de suelos fértiles y bien drenados; Sin embargo, los suelos francos que contienen abundante materia orgánica, son los ideales para este cultivo. Se debe contar con una profundidad efectiva mayor de 60 cm que facilite la retención de agua

y el crecimiento del sistema radicular para lograr un buen desarrollo y excelentes rendimientos. En cuanto a pH, el cultivo se adapta a un rango de 5.5-6.8, soportando incluso pH hasta de 7.5; se deben evitar los suelos ácidos con pH menores de 5.5 (Casaca, 2005).

2.1.5 Manejo Cultural y agronómico de *Cucumis sativus* L.

El manejo cultural y agronómico se refiere a las actividades realizadas durante el establecimiento del cultivo, para crear condiciones donde la planta se desarrolle de una mejor manera y obtener los resultados deseados de cosecha o producción. A continuación se muestra un listado de los manejos culturales más importantes del cultivo:

- i) **Tutorado:** es una práctica que sirve para mantener la planta erguida, mejorar la aireación y favorecer el aprovechamiento de la radiación solar, además de permitir las labores culturales como destallados y recolección. Con la finalidad de mantener un control de enfermedades y obtener una producción de calidad (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).
- ii) **Destallado:** es una práctica donde se suprimen todos los brotes laterales para dejar la planta a un solo tallo para la asimilación de nutrientes y conservación de energía. (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).
- iii) **Deshojado:** se eliminan las hojas viejas, amarillas o enfermas. Cuando la humedad es demasiado alta es necesario tratar con fungicida tras los cortes.
- iv) **Aclareo de frutos:** deben limpiarse de frutos las primeras 7-8 hojas (60-75 cm), de forma que la planta pueda desarrollar un sistema radicular fuerte antes de entrar en producción, dejando un solo fruto por axila, ya que esto facilita el llenado de los restantes, además de dar también

mayor precocidad (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

- v) **Cosecha:** se realiza en diversos estados de desarrollo, cortando el fruto con tijeras en lugar de arrancarlo. Generalmente, los frutos se cosechan en un estado ligeramente inmaduro, próximos a su tamaño final, pero antes de que las semillas completen su crecimiento y se endurezcan. La firmeza y el brillo externo son también indicadores del estado prematuro deseado. El color del fruto depende del cultivar, sin embargo, debe ser verde oscuro o verde, sin signos de amarilleos (Casaca, 2005).
- vi) **Post cosecha:** se refiere al manejo del fruto, además de las características que este debe tener para referirse a un producto de calidad; la calidad del pepino fresco se basa principalmente en la uniformidad de forma, en la firmeza y en el color verde oscuro de la piel. Otros indicadores de calidad son el tamaño y la ausencia de defectos de crecimiento o manejo, pudriciones y amarillamiento (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

2.1.6 Importancia económica del pepino

El pepino es una especie vegetal de gran importancia económica a nivel nacional como internacional al ser utilizada de manera fresca o industrializada, la producción mundial de pepino está encabezada por China con más de 28 millones de toneladas al año, le continúa Irán y Turquía, México ocupa el décimo lugar con 475, 376 toneladas de pepino durante el 2008. Los principales exportadores son España y México. El principal mercado para la exportación Mexicana es Estados Unidos, mientras que el destino más importante para España es la Unión Europea (SAGARPA, 2010; FAO, 2010).

En México los principales estados productores de pepino son Sinaloa, Michoacán, Yucatán, Baja California y Sonora. El principal estado con mayor superficie cosechada es Michoacán con 6 mil hectáreas (SAGARPA, 2010; FAO, 2010).

Los costos de producción son principalmente influenciados por el tipo de fertilización a emplear lo que determina la rentabilidad de este cultivo.

2.2 COMPUESTOS BIOACTIVOS.

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios de las plantas que constituyen uno de los grupos más comunes y extendidas de las sustancias en las plantas. En general, se caracterizan por un anillo bencénico y un grupo hidroxilo (- OH) (Valentine et al. 2003). De acuerdo a Harborne (2001).

El término "fenólico" o "polifenoles" se puede definir con precisión químicamente como una sustancia que tiene un anillo aromático (fenol) o más (polifenoles) sustituyentes hidroxilo, incluyendo derivados funcionales (ésteres, éteres metílicos, glucósidos, etc) como regla general, los fenoles y polifenoles términos se refieren a todos los metabolitos naturales secundarios que surgen biogenéticamente de las vías del ácido shikímico-fenilpropanoides- flavonoides, produciendo fenoles y polifenoles monoméricos y poliméricos (Lattanzio et al 2006). Los compuestos fenólicos se pueden convertir en lignina la cual es el principal del polímero fenólico en las plantas. Los microorganismos descomponen las moléculas y sus fragmentos contribuyen a la mineralización del nitrógeno en el suelo y la formación de humus. Por lo tanto, el humus participa activamente en el cumplimiento de las necesidades nutricionales de las plantas y el crecimiento (Valentine et al. 2003).

La biosíntesis de fenoles y flavonoides en la planta, esta a cargo de la ruta de los fenilpropanoides y del ácido shikímico.

La ruta del ácido shikímico es la principal ruta para la biosíntesis de los compuestos aromáticos en las plantas y microorganismos incluyendo los aminoácidos proteínicos de fenilalanina, tirosina y triptófano.

La vía del ácido shikímico es una ruta importante para la biosíntesis de compuestos aromáticos en plantas y microorganismos, incluyendo los

aminoácidos proteínicos de fenilalanina, tirosina y triptófano. Los flavonoides se sintetizan a través de la ruta de los fenilpropanoides (Figura 4). Fenilalanina, tirosina y triptófano son los metabolitos primarios que sirven como precursores para muchos productos naturales (secundarios) como los flavonoides, ácidos fenólicos, cumarinas, alcaloides, glucosinolatos y glucósidos cianogénicos (Wink, 2010). Además de estos compuestos secundarios, la ruta del ácido shikímico proporciona precursores para muchos compuestos importantes en la vida de una planta, tales como la lignina elemento estructural, la hormona de crecimiento, ácido indol-acético, quinonas de la cadena de transporte de electrones y compuestos de almacenamiento como cafeoil-quinato (Conn 1986).

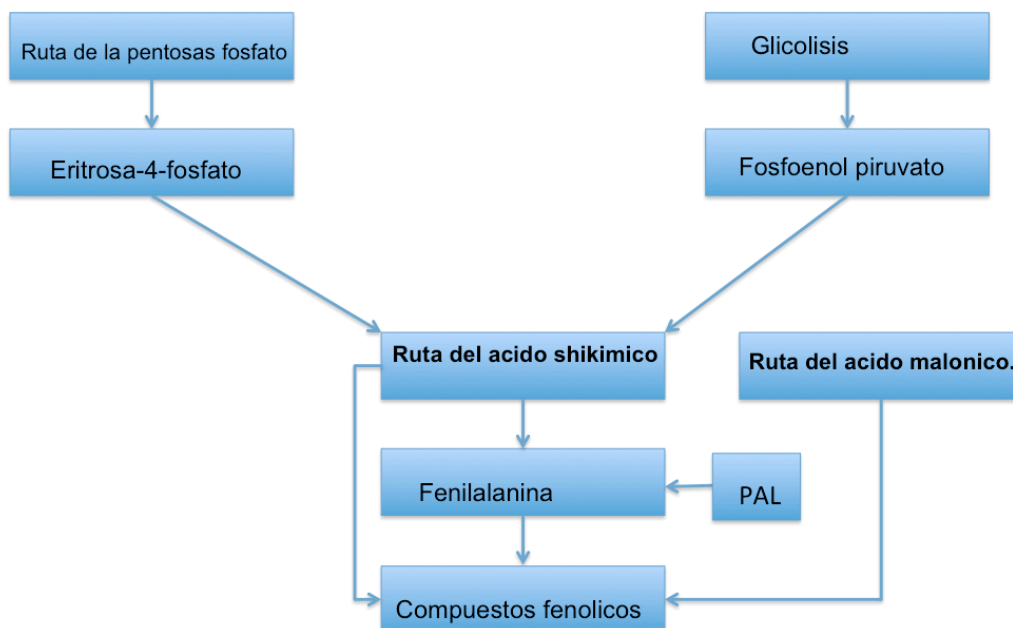


Figura 1. Biosíntesis de compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos de las plantas pueden ser divididos en dos clases:

- i) Compuestos fenólicos preformados que se sintetizan durante el desarrollo normal de los tejidos de la planta.
- ii) Compuestos fenólicos inducidos que son sintetizados por las plantas en respuesta a una lesión física, infección o estresados por elicitores adecuados, tales como sales de metales pesados, radiación UV, temperatura, etc (fitoalexinas).

Los fenólicos inducidos pueden también sintetizarse sino que, además, su síntesis puede mejorar bajo estrés biótico o abiótico (Lattanzio et al. 2006).

Existe una infinidad de metabolitos secundarios, pero los que se mencionan a continuación son de relevancia médica por su capacidad anticarcinogénica y antimutagénica, ya sea neutralizando los radicales libres o capturando los compuestos mutágenos (Ciocan y Bara, 2007). Mientras que en la planta se distinguen por ser compuestos que están implicados en las interacciones planta- herbívoro principalmente (Avalos y Pérez-Urrias 2009).

2.2.1 Fenoles

Son compuestos que tienen uno o más grupos hidroxilo unido directamente a un anillo aromático. El fenol es la estructura sobre la cual se basa todo el grupo, siendo el benceno el anillo aromático (Figura 2) (Vermerris y Nicholson, 2006). Se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal; se localizan en todas las partes de la planta y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo.

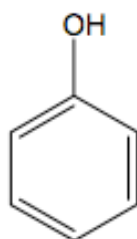


Figura 2. Estructura básica del fenol, C_6H_6O .

Los compuestos fenólicos se caracterizan por encontrarse en forma de ésteres o glucósidos y no como compuestos libres (Vermerris y Nicholson, 2006).

Los compuestos y funciones de los ácidos fenólicos han sido objeto de un gran número de estudios agrícolas, biológicos, químicos y médicos. Estos compuestos forman un grupo diverso y de gran difusión que incluye los ácidos hidroxibenzoico y hidroxicinámico (Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011). Los

compuestos del ácido hidroxicinámico son a menudo producidos como ésteres simples con glucosa o ácidos hidroxicarboxílicos. Los compuestos fenólicos de los vegetales son distintos en la estructura molecular, y se caracterizan por anillos aromáticos hidroxilados (Mandal et al., 2010). Los compuestos fenólicos en muchas plantas se polimerizan en moléculas más grandes tales como las proantocianidinas (PA; taninos condensados) y ligninas. Por otra parte, los ácidos fenólicos pueden surgir en las plantas alimenticias como glicósidos o ésteres con otros compuestos naturales como los esteroides, alcoholes, glucósidos y ácidos hidroxigrasos (Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011).

Estos compuestos participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la formación de componentes estructurales, y la defensa ante los factores adversos del ambiente (Paladino, 2007).

2.2.2 Flavonoides.

Los flavonoides (Figura 3) son derivados fenólicos sintetizados en grandes cantidades por las plantas. Son sintetizados por la vía de los polipropanoides siendo la fenilalanina el compuesto de arranque. Son derivados hidroxilados, metoxilados y glicosilados de la 2 fenil benzo y pirano, que consiste en dos anillos benceno combinados por mediación del oxígeno contenido en el anillo pirano (Paladino, 2007). Todos los flavonoides comparten el esqueleto estructural C6-C3-C6 básico, que consta de dos anillos aromáticos C6 (A y B) y un anillo heterocíclico (C) que contiene un átomo de oxígeno (Figura 3) (Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011).

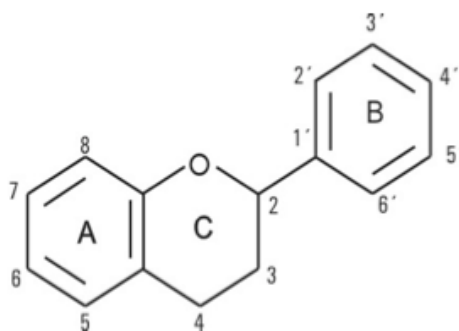


Figura 3. Estructura básica de los flavonoides.

Se han clasificado en seis subgrupos (Figura 4) (Ghasemzadeh y Ghasemzadeh, 2011):

- i) Flavonas (luteonin, apigenina, tangeritin).
- ii) Flavonoles (quercetina, kaemferol, miricetina, isorhamnetin, pachypodol).
- iii) Flavanonas (hesteretin, naringenina, eriodictiol).
- iv) Flavan-3-oles: catequinas y epicatequinas.
- v) Isoflavonas (genisteína, daidzeína, gliciteína).
- vi) Antocianidinas (cianidina, delfinidina, malvidina, pelargonidina, peonidina, petunidina).

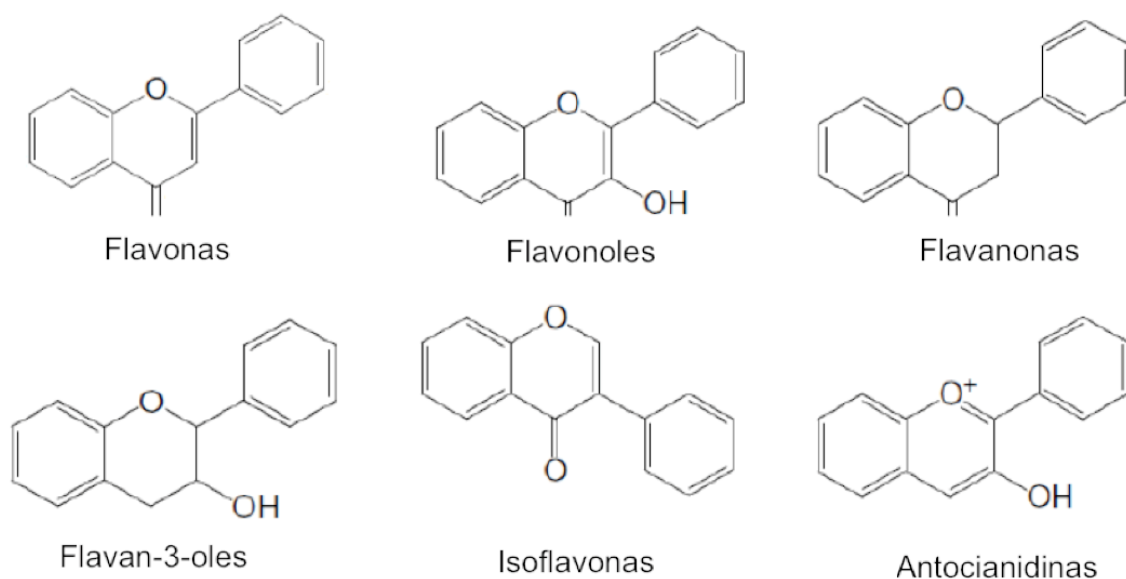


Figura 4. Clasificación de flavonoides

Otros grupos comunes de flavonoides incluyen auronas, xantonas, y taninos condensados. Las catequinas y leucoantocianidinas son estructuralmente similares y sólo en raras ocasiones existen como sus glucósidos. La mayoría de los flavonoides están presentes en nuestra vida diaria (Mañach et al, 2004;. Dahan y Altman, 2004). Hasta la fecha, alrededor de 6000 compuestos flavonoides se han aislado e identificado, y muchos son comunes en las plantas superiores (Tolonen et al, 2002;. Austin y Noel, 2003). Los glucósidos son los compuestos flavonoides que a menudo se acumulan en

las vacuolas de las células vegetales.

La importancia de los flavonoides se encuentra en la respuesta antimicrobiana a una amplia gama de microorganismos y a su capacidad antioxidante (Ciocan y Bara, 2007). Figuran entre los principales metabolitos secundarios de las plantas; la presencia de estos compuestos en el reino animal se debe a su ingesta. Se encuentran distribuidos en todas las partes de la planta, hojas, tallos, flores y frutos, ya sea como moléculas libres o como O-glucósidos (Cala Molina, 2011).

2.2.3 Capacidad antioxidante

Los antioxidantes son sustancias que retrasan significativamente o evitan la oxidación de un sustrato oxidable cuando está presente en concentraciones bajas en comparación con el sustrato (Lucio et al., 2009). Los flavonoides son conocidos por su actividad antioxidante, los antioxidantes son compuestos específicos que protegen las células de la planta humana, animal y en contra de los efectos dañinos de los radicales libres (especies reactivas de oxígeno, ROS). Un desequilibrio entre los antioxidantes y los radicales libres resulta en estrés oxidativo, el cual puede conducir a daño celular (Kukic et al., 2006). Las plantas son fuentes potenciales de valor incalculable antioxidantes. Los antioxidantes naturales o fitoquímicos son metabolitos secundarios en las plantas (Dai y Mumper, 2010), tales como ácidos fenólicos, flavonoides y carotenoides, que se encuentran entre los antioxidantes producidos por las plantas para su sustento (Apak et al., 2007). Recientemente, los compuestos fenólicos y flavonoides han sido considerados como grandes antioxidantes y han demostrado ser más eficaz que la vitamina C, E y los carotenoides (Dai y Mumper, 2010). Las propiedades antioxidantes de los compuestos fenólicos y flavonoides están mediadas por los siguientes mecanismos:

- i) Barrido de especies de radicales tales como ROS / especies reactivas de nitrógeno (RNS).

- ii) La supresión de ROS / RNS formación mediante la inhibición de algunas enzimas o trazas de metales quelantes que participan en producción de radicales libres.
- iii) Por la regulación o protección de defensa antioxidante (Cotelle , 2001).

La actividad de reducción de los compuestos fenólicos y flavonoides depende del número de grupos hidroxilo libres en la estructura molecular, que se fortalece con impedimento estérico (Rice - Evans et al, 1996).

Los organismos han desarrollado sistemas de defensa antioxidante para hacer frente a la atmósfera oxidativa del planeta y al metabolismo oxidativo que permitió la evolución de la vida. Lo que permitió alcanzar eficientes sistemas amortiguadores antioxidantes que mantienen la capacidad de reducir a los radicales libres, las especies reactivas y los oxidantes endógenos y exógenos. Estos sistemas amortiguadores antioxidantes desembocan, se regeneran y se cargan de hidrógenos y electrones a través del sistema de glutatión-NADPH y de la reducción de NADP⁺ a partir del metabolismo (Quintanar y Calderón, 2009).

El conocimiento cada vez más profundo de los procesos oxidativos y las defensas antioxidantes, permite poco a poco y de mejor manera su integración a la etiología o fisiopatología y con ello a elementos diagnósticos en la clínica de múltiples enfermedades asociadas a la oxidación (Quintanar y Calderón, 2009).

2.2.4 Contenido de metabolitos secundarios en pepino

Como parte de la respuesta de la defensa bioquímica contra el daño que ocasionan las heridas y el ataque de microorganismos patógenos en las plantas superiores, se induce la síntesis y acumulación de compuestos de bajo peso molecular, llamados metabolitos secundarios (Sepúlveda *et al.* 2003).

Durante la respuesta hipersensible, algunos compuestos pertenecientes al grupo de alcaloides, terpenoides y fenilpropanoides, participan activamente

matando directamente al microorganismo patógeno o restringiendo su invasión al resto de la planta. De igual manera, otros metabolitos secundarios contribuyen a destruir las especies reactivas de oxígeno que son tóxicas para la misma célula vegetal, las cuales se sintetizan durante las etapas tempranas de la respuesta de defensa (Sepúlveda et al. 2003).

En *Cucumis Sativus L.* el triterpenoide cucurbitacina, es un compuesto de acción nematocida que se encuentra en las raíces, mientras que los terpenos en combinación con otros compuestos como las oxilipinas y los indoles, forman mezclas de volátiles que funcionan como señales químicas para atraer a los enemigos naturales de insectos herbívoros. (Sepúlveda et al. 2003).

Se ha observado en plantas de *Cucumis Sativus* infectadas con *Pythium aphanidermatum* la acumulación de fenoles cercano al sitio de penetración es una evidencia del desencadenamiento de la respuesta defensiva en las plantas y se ha descrito como uno de los eventos moleculares más importantes como parte del proceso defensivo ante el ataque por patógenos. Además, los compuestos fenólicos se inducen en la mayoría de los tejidos vegetales como respuesta de defensa en la interacción con el patógeno siendo de por sí tóxicos a los patógenos y su polimerización hace a la pared celular más gruesa y fuerte (Sánchez et al., 2010)

2.2.5 Efecto de la nutrición orgánica en el contenido de metabolitos secundarios en los cultivos

El contenido de metabolitos secundarios de las hortalizas orgánicas se ha estimado entre 10 a 50 % mayor que el equivalente en los productos alimentarios convencionales (Dossier, 2007). Una razón de este incremento, puede ser que el uso de los productos químicos de protección vegetal, está limitado en el caso de los cultivos producidos de manera orgánica. Esto hace que las plantas deban trabajar más para defenderse del estrés biótico y, como

resultado de esto, producen mayores cantidades de metabolitos secundarios particulares, (Dossier, 2007).

Los polifenoles antioxidantes son los metabolitos secundarios donde recientemente se ha centrado la investigación de cultivos de manejo agrícola convencional y orgánico. Donde las hortalizas y frutas producidas por nutrición orgánica tienden a tener un contenido más alto en polifenoles que sus equivalentes convencionales (Dossier, 2007).

Una de las ventajas de la fertilización orgánica y biorracional, es la producción de metabolitos secundarios en la planta, los cuales, son compuestos colorantes, aromáticas, reguladores del crecimiento, protectores naturales frente a parásitos y otros tipos de bacterias, que no tienen una función nutricional clásicamente definida, o no son considerados esenciales para la salud humana, pero que pueden tener un impacto significativo en el curso de alguna enfermedad, (Palencia, 2005).

2.2.6 Microorganismos relacionados con la producción de compuestos bioactivos

El uso de microorganismos en la agricultura está dado por su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuestos bioactivos (Elein. *et al.* 2005)

En el grupo de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (RPCV), *Azospirillum sp.* Forma parte de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal y es considerado un sistema modelo para el estudio de la asociación entre bacterias y plantas; debido a que las bacterias pertenecientes son fácilmente adaptables en el medio competitivo de la rizosfera. Las bacterias pertenecientes a este género son muy promisorias como inoculantes

para las plantas; puesto que son dominantes y adaptables para establecerse ellas mismas en el medio competitivo de la rizosfera (Elein et al., 2005).

2.3 Fertilización

Para mantener un crecimiento sano de las plantas es necesario que contengan un amplio rango de nutrientes. Las plantas absorben los elementos nutritivos en ciertas proporciones. Es importante que los nutrientes se mantengan balanceados, para satisfacer las necesidades individuales de los cultivos (Graetz, 2008).

En condiciones de baja fertilidad natural, el suelo no proporciona los nutrientes suficientes para lograr un rendimiento satisfactorio de los cultivo. Por lo tanto es necesario suplementar las deficiencias de nutrientes propios del suelo por medio de un suministro de fertilizantes (Graetz 2008). Los fertilizantes son los elementos nutritivos que se suministran a las plantas para complementar las necesidades nutricionales para su crecimiento y de su desarrollo óptimo (López 2006).

Como fertilizantes orgánicos podemos encontrar a los biofertilizantes, los cuales están constituidos por microorganismos fijadores de nitrógeno que son benéficos para los cultivos ya que promueven el crecimiento y la nutrición vegetal. (Sánchez 2007). La incorporación de materia orgánica, mediante la aplicación de abonos, ya sea en forma de estiércol, abonos verdes, compostas, vermiabono y abonos líquidos fermentados, de esta manera, además de aportar nutrientes para el desarrollo y producción de los cultivos, se mejoran las condiciones físicas de los suelos (Salaya 2010).

2.3.1 Tipos de fertilización

2.3.1.1 Fertilización Química / Inorgánica

Los fertilizantes químicos que se conocen clasifican de la siguiente manera de acuerdo a López (2006):

- i) Sólidos: son lo que más se utilizan y pueden ser polvo, cristales o gránulos.
- ii) Líquidos: pueden ser simples (soluciones nitrogenadas) o compuestas (soluciones binarias o terciarias)
- iii) Gaseosa: se utiliza solamente el amoníaco anhidro.

Se considera que los elementos nutritivos principalmente son: el nitrógeno, el fósforo y el potasio. Los fertilizantes se pueden clasificar en:

- i) Abonos simples: se componen de uno elementos nutritivo (nitrogenados, fosfóricos o fosfatados y potásicos).
- ii) Abonos compuestos: mezcla y complejos que a su vez son, binarios y terciarios.

Los fertilizantes químicos representan uno de los mayores insumos agrícolas. La producción y el uso inadecuado de fertilizantes químicos se han incrementado notablemente en las últimas décadas lo cual ha originado serios daños a la ecología y al planeta. Los fertilizantes orgánicos son una alternativa de los fertilizantes químicos (Sánchez 2007).

2.3.1.2 Fertilización orgánica / biofertilización

Uno de los principios básicos de la agricultura orgánica es ser un sistema orientado a fomentar y mejorar la salud del agro-ecosistema, la biodiversidad y los ciclos biológicos del suelo. Para esto, se hace necesario implementar actividades que nos conduzcan a estos fines, que conllevan la restitución de elementos minerales y vivos (microorganismos, bacterias benéficas y hongos) y mantener la vitalidad del suelo donde se desarrollan las plantas.

La diferencia que existe entre los fertilizantes químicos-sintéticos y los abonos orgánicos es que los primeros son altamente solubles y son aprovechados por las plantas en menor tiempo, pero generan un desequilibrio del suelo (acidificación, destrucción del sustrato, etc.); mientras que los orgánicos actúan de forma indirecta y lenta. Pero con la ventaja que mejoran la

textura y estructura del suelo y se incrementa su capacidad de retención de nutrientes, liberándolos progresivamente en la medida que la planta los demanda (Fundación MCCH, 2009)

Algunas de las ventajas de la fertilización orgánica son las siguientes:

- i) Los nutrientes se desprenden de manera estable y con dosificación natural lo que lleva a una dosificación eficiente.
- ii) No tienen caducidad ya que al madurarse los abonos o fertilizantes orgánicos estos se hacen asimilables para las plantas.
- iii) Se logra enriquecer la textura del suelo debido a la cantidad de materia orgánica que contienen, aumentando la aireación y evitando la compactación del mismo.
- iv) Aumenta la capacidad de retención de agua.

2.3.1.3 Fertilización carbónica

La aportación de CO₂ permite compensar el consumo de las plantas y garantiza el mantenimiento de una concentración superior a la media en la atmósfera del invernadero; así la fotosíntesis se estimula y se acelera el crecimiento de las plantas. Para valorar las necesidades de CO₂ de los cultivos en invernadero necesitamos realizar, en los diversos periodos del año, un balance de las pérdidas derivadas de la absorción por parte de las plantas, de las renovaciones de aire hechas en el invernadero y las aportaciones proporcionadas por el suelo a la atmósfera del mismo.

Del enriquecimiento en CO₂ del invernadero depende la calidad, la productividad y la precocidad de los cultivos. Hay que tener presente que un exceso de CO₂ produce daños debidos al cierre de los estomas, que cesan la fotosíntesis y pueden originar quemaduras. Los aparatos más utilizados en la fertilización carbónica son los quemadores de gas propano y los de distribución de CO₂.

En el cultivo del pepino las cantidades óptimas de CO₂ son de 500-900 ppm (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

2.3.1.4 Fertilización biorracional

El termino biorracional representa cualquier sustancia de origen natural o parecidas que poseen un modo de acción único, no son toxicas a los humanos ni al entorno, su efecto no es adverso o de muy bajo riesgo sobre la vida silvestre y el medio ambiente.

Los microorganismos benéficos para la agricultura son muchos y desarrollan sus funciones bajo la influencia de las raíces de las plantas.

La raíz, además de las funciones de anclaje, absorción y transporte de agua y nutrimentos al sistema vascular, pone a la planta en contacto con la rizosfera, es decir, la zona del suelo que rodea a las raíces de las plantas donde abundan los microorganismos, que incluye especialmente la región de crecimiento en la raíz, donde se da un flujo de compuestos orgánicos, que sirven a los microorganismos como fuente de carbono (Aguirre et al. 2009).

Hoy se utilizan diferentes microorganismos con funciones específicas en la agricultura para mejorar la productividad de las plantas. Todos son una fuente facilitadora del manejo de los nutrimentos que benefician el funcionamiento de los cultivos, y forman parte de una tecnología que garantiza una productividad biológica, económica y ecológica más exitosa y sin contaminación del ambiente y de inocuidad reconocida para el hombre.

Los microorganismos del suelo aprovechados en la agricultura han tenido diversas denominaciones. Tradicionalmente se han utilizado los términos “inóculo” o “inocular” que es la introducción de gérmenes en un sustrato cualquiera, pero también se han denominado “fertilizantes bacterianos” e “inoculantes microbianos”.

Algunos productos comerciales que contienen solamente bacterias, son

comúnmente llamados “biofertilizantes”, como el caso de *Rhizobium*, “fitoestimulantes”, como en *Azospirillum*, “biopesticidas” cuando se utilizan para el control biológico como *Pseudomonas* o también, “bioinoculante”. En todos los casos pueden utilizarse en los cultivos anuales, las praderas de gramíneas y leguminosas, hortalizas y frutales.

En general, los microorganismos promotores del crecimiento vegetal a base de bacterias, son llamadas rizobacterias (PGRP por sus siglas en inglés *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) y generalmente provienen de un cultivo puro del microorganismo aislado de la raíz de alguna planta de interés y se multiplica en un medio de cultivo específico para luego ser transferido al sustrato, y de esta forma son utilizados en la agricultura.

Los principales mecanismos de acción de las rizobacterias son la fijación del nitrógeno atmosférico, la solubilización de minerales, la producción de sustancias reguladoras del crecimiento, el incremento en el volumen de la raíz la inducción de resistencia sistémica a patógenos, inhibición del crecimiento de organismos patógenos y la interacción sinérgica con otros microorganismos del suelo (Aguirre et al. 2009).

2.3.1.5 Fertilización Alternativa

Se han propuesto esquemas alternativos de manejo nutrimental para la producción de pepino en condiciones de invernadero, que incluyen prácticas de bajo impacto ambiental. La aplicación de materia orgánica (estiércol vacuno) junto con diferentes dosis de fertilización mineral satisfacen la demanda nutrimental, con independencia de la época de siembra permite la reducción del 25 % de la dosis de los fertilizantes minerales, así mismo con la aplicación simultáneamente de microorganismos biofertilizadores (*Azotobacter chroococcum*; *Bacillus megatherium* var. *phosphaticum* y *Glomus* sp.) se incrementa la respuesta vegetal a esa enmienda orgánica, en términos de crecimiento, desarrollo y rendimiento agrícola (Lino et al 2006).

Además, la aplicación de productos foliares comerciales que ejercen funciones biorreguladoras y estimuladoras del crecimiento vegetal, junto con aplicaciones de humus de lombriz en disolución acuosa. Y se observa un mejoramiento en indicadores de crecimiento (longitud de planta, número de hojas activas) y productividad (segunda cosecha, longitud de fruto, diámetro de fruto, peso promedio de fruto) (Rodríguez y Castillo 2010).

Por otra parte la aplicación de humus sólido de lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) en combinación con fertilizantes químicos (Limpio, 2005) obtuvo un comportamiento superior en cuanto al diámetro y largo del fruto así como un rendimiento total de los frutos mayor. Este tipo de aplicaciones también se han probado en cultivos como la col y lechuga (Añez y Espinoza 2001).

El uso de sustratos orgánicos (cachaza, fertilizante órgano-mineral, compost, compost enriquecido con roca fosfórica parcialmente acidulada, compost enriquecido con superfosfato triple y lombricompuesto). Han demostrado que hay un aumento en la longitud de los frutos con la compost enriquecido con superfosfato triple y la cachaza, pero no hubo diferencia en el diámetro (3,08 cm a 3,17 cm) y calidad de los frutos entre los diferentes sustratos. Donde la valoración económica demostró la factibilidad del uso de los compostas y el lombricompuesto, encontrándose en este último los mayores beneficios y efecto económico (Vega et.al.2009).

Como fertilizantes orgánicos podemos encontrar a los biofertilizantes, los cuales están constituidos por microorganismos fijadores de nitrógeno que son benéficos para los cultivos ya que promueven el crecimiento y la nutrición vegetal. (Sánchez 2007). La incorporación de materia orgánica, mediante la aplicación de abonos, ya sea en forma de estiércol, abonos verdes, compostas, vermiabono y abonos líquidos fermentados, de esta manera, además de aportar nutrientes para el desarrollo y producción de los cultivos, se mejoran las condiciones físicas de los suelos (Salaya 2010).

2.3.1.6 Fertirrigación

En los cultivos protegidos de pepino, el aporte de agua y gran parte de los nutrientes se realiza mediante riego por goteo y está en función del estado fenológico de la planta así como el tipo de suelo, condiciones climáticas, calidad del agua de riego, etc. En cultivo en suelo y en enarenado, el establecimiento del momento y volumen de riego está dado por las siguientes variables:

- i) Tensión del agua en el suelo (tensión mátrica), que se determina mediante un manejo adecuado de tensiómetros.
- ii) Tipo de suelo (capacidad de campo, porcentaje de saturación).
- iii) Evapotranspiración del cultivo.
- iv) Eficacia de riego (uniformidad de caudal de los goteros).
- v) Calidad del agua de riego, si es de baja calidad los volúmenes de riego son mayores.

En cuanto a la nutrición, cabe destacar la importancia de la relación N/K a lo largo de todo el ciclo de cultivo, que suele ser de 1/0.7 desde el trasplante hasta la cuarta-quinta semana, cambiando hacia 1/1 hasta el comienzo del engorde del fruto y posteriormente hasta 1/3.

El fósforo juega un papel relevante en las etapas de enraizamiento y floración, ya que es determinante sobre la formación de raíces y sobre el tamaño de las flores. El calcio es un elemento determinante en la calidad y favorece una mejor defensa de las plantas frente a enfermedades. Los microelementos van a incidir notoriamente en el color de la fruta, su calidad y la resistencia de la planta, principalmente el hierro y manganeso (Comisión veracruzana de comercialización agropecuaria, 2010).

2.3.1.7 Importancia agronómica y medioambiental de la fertilización

El suelo agrícola es un recurso limitado del que depende la cantidad y calidad de los alimentos que produce. Por tanto se debe cuidar la calidad y

capacidad productiva del mismo. Los fertilizantes, orgánicos y minerales, constituyen una excelente herramienta para lograr ese objetivo puesto que suponen:

- i) Importante factor de producción.
- ii) Herramienta para mantener la capacidad de producción del suelo.

El uso de fertilizantes evidentemente también puede provocar consecuencias medioambientales negativas, especialmente si se aportan en exceso. Siendo, el Nitrógeno es el elemento que más problemas presenta, seguido por el Fósforo, el uso del Nitrógeno como fertilizante implica distintas afecciones medioambientales. Cabe destacar, como una de las principales afecciones del uso del Nitrógeno, la posibilidad de contaminar las aguas subterráneas con nitratos, impidiendo que puedan utilizarse para consumo humano (Irañeta et al 2010).

2.3.1.8 Impacto de los biofertilizantes en México

Los fertilizantes sintéticos presentan baja eficiencia (50%) para ser asimilados por los cultivos, el fertilizante no incorporado por las plantas trae un impacto ambiental adverso, tal como contaminación de mantos acuíferos con NO_3^- , eutrofización, lluvia ácida y calentamiento global.

Una alternativa para frenar esto es el uso de biofertilizantes, preparados con microorganismos aplicados al suelo y/o planta, con el fin de sustituir parcial o totalmente la fertilización sintética. La respuesta de los biofertilizantes varía considerablemente, dependiendo de los microorganismos, tipo de suelo, especies de plantas, y condiciones ambientales. Los microorganismos aplicados deben competir con una microflora nativa mejor adaptada a condiciones ambientales adversas, incluyendo falta de humedad en el suelo, predación, alta salinidad y pH extremos, que pueden disminuir rápidamente la población de cualquier especie microbiana introducida (Armenta Bojorquez et al. 2010).

La recomendación del uso de biofertilizantes, debe hacerse inicialmente como un complemento a la fertilización sintética, con visión de sustituirla a mediano o largo plazo de acuerdo a las condiciones de suelo, manejo y respuesta del cultivo (Armenta Bojorquez et al. 2010).

2.3.1.9 Efecto de la fertilización en el contenido de compuestos bioactivos en las plantas

En trabajos como el de Nur Faezah et al, 2012, compararon la aplicación de fertilizantes orgánicos y minerales y su relación con el contenido de compuestos bioactivos tales como los compuestos fenólicos, flavonoides totales y la capacidad antioxidante en cultivares de yuca, demostrando que la fertilización orgánica a base de vermicompost aumentó en el contenido de fenoles y flavonoides totales en un 38% y 39% respectivamente en comparación con la aplicación química tradicional, mientras que la actividad antioxidante refleja cantidades altas en los tratamientos de fertilización organica usando DPPH.

También, se ha estudiado la manera en como la fertilización tanto orgánica como bio-orgánica o biorracional, afecta la concentración de compuestos bioactivos tales como los fenoles y flavonoides; según El-Momiem et al, 2012, en su trabajo con cultivares de broccoli (Calabrese and Southern star) la fertilizacion tipo bio-orgánica, como se le llama, dieron mejores resultados para el contenido de fenoles totales y flavonoides totales con respecto a los tratamientos con la fertilizacion de tipo organica. Concluyendo que la fertilización tanto orgánica como bio-orgánica potencian la producción de metabolitos secundarios en estos cultivares, siendo una aplicación para la producción de alimentos nutraceuticos.

3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, se encuentran suelos agrícolas con diferente nivel de deterioro tanto en la rizosfera como en el suelo mismo, y este nivel depende de la intensidad, frecuencia y duración de la aplicación de fertilizantes químicos. Resulta evidentemente que el uso de fertilizantes puede provocar consecuencias medioambientales negativas, especialmente si se aportan en exceso. Ante esa situación, una de las alternativas para la producción de alimentos es el uso de biofertilizantes. Sin embargo, esta práctica aún y con todos los beneficios que proporciona, dejó de emplearse debido al uso de los fertilizantes que tuvieron su mayor auge durante la revolución verde. Hoy en día, existe una gran preocupación por el cuidado del medio ambiente, por lo que la concientización sobre el uso de biofertilizantes en lugar de agroquímicos, ha ganado terreno para la producción de alimentos. Debido a que con el uso combinado de biofertilizantes, biocompostas y fertilización química, se obtienen mejores rendimientos y más calidad en la producción que tan sólo con la fertilización química. Sin embargo, las investigaciones realizadas tanto por el uso de fertilizantes como de biofertilizantes en los cultivos, se ha centrado en la nutrición de la planta para la obtención de frutos de calidad que representan las ganancias netas de los cultivos. En el mismo contexto, la producción de compuestos bioactivos generados en la planta por la aplicación de fertilizaciones biorracionales ha sido poco investigada. Por lo anterior, es necesario investigar el efecto que tiene la fertilización biorracional en la producción de estos metabolitos secundarios en la planta. Usando como sistema vegetal el cultivo de pepino *Cucumis sativus* L. con la finalidad de evaluar si la fertilización biorracional tiene un efecto directamente proporcional en la producción de metabolitos secundarios en la planta y darle un valor agregado al follaje del cultivo, minimizando además los residuos agrícolas.

4. HIPÒTESIS

La fertilización biorracional en el cultivo de pepino en invernadero, incrementa la producción de compuestos bioactivos en la zona foliar de la planta.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar los compuestos bioactivos de la planta *Cucumis sativus L* generados por la fertilización biorracional en condiciones de invernadero.

5.2 Objetivos específicos

- i) Evaluar la cantidad de fenoles y flavonoides producidos por efecto de la fertilización biorracional.
- ii) Determinar la capacidad antioxidante por efecto de los tratamientos de fertilización biorracional.

6. METODOLOGÍA

6.1 Localización geográfica del proyecto

El proyecto se llevó a cabo en la Facultad de Ingeniería- Campus Amazcala de la Universidad Autónoma de Querétaro. El Campus pertenece a la comunidad de Amazcala en el municipio del Marqués, Qro., el cual se localiza en el sector Suroeste del estado, ubicada entre las coordenadas $20^{\circ} 31'$ y $20^{\circ} 58'$ de latitud Norte. Su longitud se encuentra entre los $100^{\circ} 09'$ y los $100^{\circ} 24'$ del Oeste a 1,850 m sobre el nivel del mar. Colinda al Oeste con el municipio de Querétaro, al Norte con el estado de Guanajuato, al Este con el municipio de Colón y al Sur con los municipios de Huimilpan y Pedro Escobedo. Las carreteras disponibles para llegar al poblado de Amazcala son la carretera 57, la carretera a Chichimequillas y México libre (Balan, 2007).



Figura 5. Ubicación geográfica de Amazcala, El Marques, Querétaro.

La temperatura media anual (TMA) de la comunidad de Amazcala es de 18.5° C. Los meses más calurosos son Mayo y Junio, con temperaturas máximas de 36° C, los más fríos son en Diciembre y Enero, registrándose temperaturas mínimas de -3° C (INAFED, 2005 y INEGI, 2010). La precipitación pluvial anual promedio es de 450 mm datos de la estación

climatológica de Nogales y el Zamorano. La evaporación potencial media anual en el Valle es el orden de 2,125 mm, valores que sobrepasan por mucho a la precipitación pluvial (INAFED, 2005).

6.1.1 Descripción de la unidad de producción (Invernadero)

El proyecto se desarrolló en un invernadero tipo gótico con una superficie total de 108 m². El Invernadero se encontraba cubierto de plástico de 800 galgas y con malla antiáfidos de paredes y ventanas, además contaba con un sistema mecánico de ventilación lateral.

Desinfección de la instalación. La estructura del invernadero se desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio a una concentración de 10 mL/L de agua, aplicado de manera uniforme sobre cada superficie del invernadero. Preparación del suelo. Se niveló el terreno dentro del invernadero; después se formaron 10 camas de 70 cm de ancho por 20 m de largo cada una.



Figura 6. Invernadero de 108 m².

6.2 Material Vegetal

Se usaron plantas de *Cucumis Sativus* L tipo francés variedad Paraíso, de la empresa Enza Zaden. De acuerdo con el proveedor, las plantas cuentan con las siguientes características:

- i. **Planta:** Muy vigorosa. Gran capacidad de rebrote y elevada producción con buena calidad.
- ii. **Fruto:** Muy oscuros y con muchos pinchos. Tamaño aprox.: 19-22 cm.
- iii. **Siembra:** Recomendado para siembras desde Octubre hasta mediados de Diciembre.

6.2.1 Siembra y sistema de riego

La siembra de las semillas de *Cucumis Sativus* L. Var .Paraíso se realizó en charolas de plástico de 38 cavidades, utilizando como sustrato Peatmoss y perlita. Posteriormente, las charolas se mantuvieron en una cámara de germinación a una temperatura promedio de 22-26 °C y con una humedad relativa del 70%. Las semillas se pasaron a la unidad de producción experimental para su crecimiento. El trasplante se realizó 30 días posteriores a la siembra, en bolsas negras de 20 kg y utilizando tezontle como sustrato. Las bolsas fueron llenadas al 70% de su capacidad.

El sistema de riego utilizado fue por goteo, el cual consiste en un riego localizado de 1 gotero por planta a través de una cintilla de riego.

6.3 Diseño Experimental

Se usó el diseño de tratamientos de bloques al azar, para evaluar el tipo de fertilización que mejor induzca la síntesis de compuestos bioactivos en la planta de pepino. El diseño constó de 8 tratamientos definidos en cuadro 1 de tratamientos de fertilización, cada uno con tres repeticiones, tomando como unidad experimental 8 plantas por tratamiento.

Cuadro 1. Tratamientos de fertilización para *Cucumis sativus* L.

Número de Tratamiento	Nombre del tratamiento	Composición
Tratamiento 1	Convencional	Solución nutritiva Steiner al 100%
Tratamiento 2	Biorracional 1	Solución nutritiva Steiner al 100% + Rhizobacterias
Tratamiento 3	Orgánico 1	Qenergy
Tratamiento 4	Orgánico 2	Qenergy + Rhizobacterias
Tratamiento 5	Biorracional 2	Solución balanceada (Steiner + Qenergy)
Tratamiento 6	Biorracional 3	Solución balanceada (Steiner + Qenergy) + Rhizobacterias
Tratamiento 7	Biorracional 4	Solución balanceada (lavado de suelo + Qenergy)
Tratamiento 8	Biorracional 5	Solución balanceada (lavado de suelo + Qenergy + Rhizobacterias)

En total se contaron con 192 plantas, que conforman una densidad poblacional de 1.7 plantas/m². La figura 7 muestra la distribución de los tratamientos en el invernadero.



Figura 7. Distribución de tratamientos de fertilización.

6.3.1 Composición de los fertilizantes.

6.3.1.1 Solución Steiner

La solución nutritiva convencional utilizada es la descrita por Steiner (1984), para el tratamiento testigo se aplicó únicamente solución Steiner al 100%, descrita en el cuadro 2, debido a que esta solución nutritiva es la que se utiliza convencionalmente como fuente nutricional en el cultivo de pepino como de otras hortalizas.

Cuadro 2. Fuente de elementos minerales y concentraciones en la solución nutritiva Steiner (1984).

Nutriente	Fuente (s)	g*100 litros⁻¹	Concentración mg* litro⁻¹
N	KNO ₃ Ca(NO ₃) ₂	75, 260	550
P	H ₃ PO ₄	10 ml	27
K	KNO ₃ , K ₂ SO ₄	75, 100	514
Ca	Ca (NO ₃) ₂	260	634
Mg	MgSO ₄ , 7 H ₂ O	125	122
Fe	FeSO ₄ 7 H ₂ O	5	10
Cu	CuSO ₄ 5 H ₂ O	0.2	0.5
Zn	ZnSO ₄ 7 H ₂ O	0.2	0.45
Mn	MnSO ₄ 4 H ₂ O	0.5	1.23
B	Na ₂ B ₄ O ₇ 10 H ₂ O	1	0.29

6.3.1.2 Fertilizante orgánico Q energy

Se utilizó fertilizante orgánico Q energy, de la empresa Quimcasa. Su composición se describe en el cuadro 3.

Cuadro 3. Composición total del fertilizante orgánico.

Composición del producto	Porcentaje total
Aminoácidos libres	7.00%
Macro y micronutrientes	20.00%
Carbohidratos	5.00%
Bioestimulante	8.00%
Estabilizadores	5.00%
Vehículo y diluyentes	52.00%

También se utilizaron rizobacterias de la empresa vitaverde, las cuales son promotoras de crecimiento vegetal (RPCV) estimulan el crecimiento y rendimiento de algunos cultivos a través de mecanismos como: síntesis de fitohormonas, fijación de nitrógeno, solubilización de fosfatos, producción de sideróforos y control de fitopatógenos.

6.3.1.3 Extracto de suelo

Además de los fertilizantes orgánicos, se usó extracto de suelo acuoso como solución mineral. El extracto de suelo se preparó con suelo agrícola de un campo experimental del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). La preparación del extracto consistió de tomar un volumen de suelo por tres volúmenes de agua. Posteriormente se mezcló y se esterilizó en autoclave por 15 minutos a 121 ° a 1 libra de presión. Una vez estéril, se filtró con un papel Whatman y se recuperó el extracto de suelo.

6.4 Determinación de compuestos bioactivos

6.4.1 Preparación del extracto metanólico de *Cucumis sativus* L

Para la determinación del contenido de compuestos bioactivos en *Cucumis sativus* L., se llevó a cabo la extracción metanólica de los tratamientos de fertilización biorracional. La cual sirvió para la posterior determinación de contenido de fenoles y flavonoides totales, así como la determinación de la capacidad antioxidante. La extracción se realizó de la siguiente manera:

- i) Las hojas de *Cucumis sativus* L. de cada tratamiento de fertilización biorracional, fueron secadas y molidas, para después colocarse en un solo recipiente teniendo de esta manera las muestras de cada tratamiento.
- ii) Se pesó 1 gr de cada muestra. Posteriormente, se disolvió en 10 mL de metanol y se agitaron a temperatura ambiente durante 2 hrs.
- iii) Finalmente el extracto se filtro y se colocó en tubos falcón de 15 mL previamente cubiertos con papel aluminio , y fueron preservados a 4°C, para la posterior determinación de fenoles totales, contenido de flavonoides y capacidad antioxidante.

6.4.2 Determinación del contenido total de fenoles en hojas de pepino (*Cucumis sativus* L.)

El contenido de fenoles totales (FT) se determinó usando el método espectrofotométrico de FOLIN-CIOCALTEU (Singletón et al., 1999). Éste método se basa en la oxidación de los compuestos fenólicos por el reactivo de Folin-Ciocalteu, el cual está formado por una mezcla de ácido fosfowolfrámicos y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos

fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La coloración azul producida se absorbe a una longitud de onda de 764 nm. La determinación de FT en los extractos metanólicos se realizó de la siguiente manera:

- i) Se tomaron 50 μ L del extracto metanólico, se adicionaron 200 μ L de agua destilada, 125 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu 1N y 625 μ L de Na_2CO_3 al 20%.
- ii) Se dejó reposar en oscuridad por 2 hrs a temperatura ambiente y trascurrido este tiempo se agregaron 300 μ L de la muestra en cada pozo de la placa con su respectivo blanco (agua).
- iii) La cuantificación de la cantidad de FT se expresó como mg equivalentes de ácido gálico (GA) por gramo de muestra seca (mg Eq AG/g ms). Para lo cual se realizó una curva de calibración de AG. Se utilizó una solución estándar de ácido gálico (0.1 mg/mL), de la cual se tomaron volúmenes de 0 μ L a 80 μ L en intervalos de 10 μ L y se completo el volumen de cada uno a 500 μ L con agua destilada. A cada uno de los estándares y muestras previamente preparadas se le adicionó 125 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu 1N (50:50), se agitaron y finalmente, se le adicionó 625 μ L de Na_2CO_3 (20%). Se dejó reposar en oscuridad por 2 hrs a temperatura ambiente. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro.

6.4.2.1 Curva de calibración de fenoles

Se utilizó una solución estándar de ácido gálico (0.1 μ g/mL), de la cual se tomaron volúmenes de 0 μ L a 80 μ L en intervalos de 10 μ L y se completo el volumen de cada uno a 500 μ L con agua destilada. A cada uno de los estándares y muestras previamente preparadas se le adicionó 125 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu 1N (50:50), se agitaron y finalmente, se le adicionó 625 μ L de Na_2CO_3 (20%). Se dejó reposar en oscuridad por 2 hrs a temperatura ambiente. La absorbancia se midió en un espectrofotómetro.

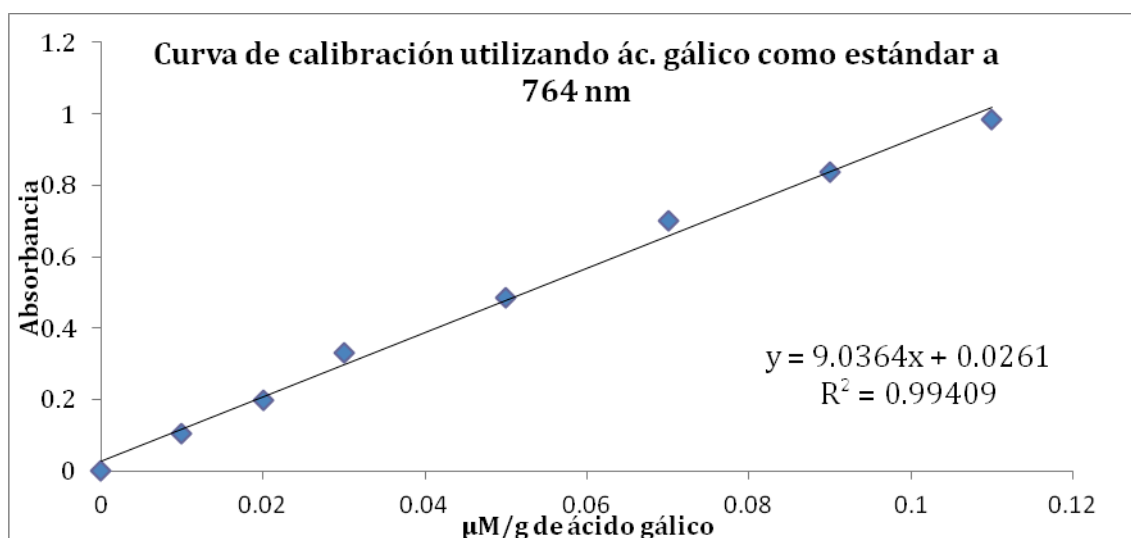


Figura 8. Curva de calibración de fenoles.

6.4.3 Determinación del contenido total de flavonoides en hojas pepino (*Cucumis sativus* L.)

El contenido de flavonoides en el extracto metanólico, se determinó mediante el ensayo espectrofotométrico de Robertson y Hall, 1989. Donde El compuesto 2-aminoetildifenil borato reacciona en metanol con el grupo hidroxilo de los flavonoides en la posición 2' del anillo B para formar el 2'-difenilborato del flavonoide correspondiente, estos compuestos presentan una coloración amarilla. La presencia de ese compuesto, se determina a partir de espectrofotometría a una longitud de onda de 404 nm. La rutina pertenece al grupo de los flavonoles y se usa rutinariamente como estándar en esta técnica, haciéndose en un medio neutro.

- i) Se tomaron 50 μL del extracto metanólico, adicionando 180 μL de metanol y 20 μL de la solución 2-aminoetildifenil borato al 1% para un volumen final de 250 μL.
- ii) La absorbancia se midió a 404 nm. Para el blanco se usaron 50 μL del extracto metanólico más 200 μL de metanol.

- iii) Se compararon con la curva estándar de calibración, para la cual se utilizó una solución stock de Rutina (0.025 g /10 mL de metanol). De esta solución, se tomó una muestra para hacer las siguientes diluciones: 50 µg /mL, 25 µg /mL, 10 µg /mL, 5 µg /mL, 2.5 µg /mL y 1.0 µg /mL. De cada solución se tomaron 50 µL por triplicado, se adicionaron 180 µL de metanol y se incorporaron 20 µL de solución 2-aminoetildifenil borato al 1% para un volumen final de 250 µL. Y se midió la absorbancia a 404 nm en el espectrofotómetro usando como blanco 230.
- iv) El resultado se expresó como mg equivalentes de rutina por gramo de muestra fresca (mg Eq R/g mf).

6.4.3.1 Curva de calibración de flavonoides

Se preparó una solución de (+) Rutina a partir de la cual se realizó la curva estándar a una concentración de 0 – 50 µg (+) Rutina /mL a cada 10 mg/mL y se leyó en el espectrofotómetro a 404nm

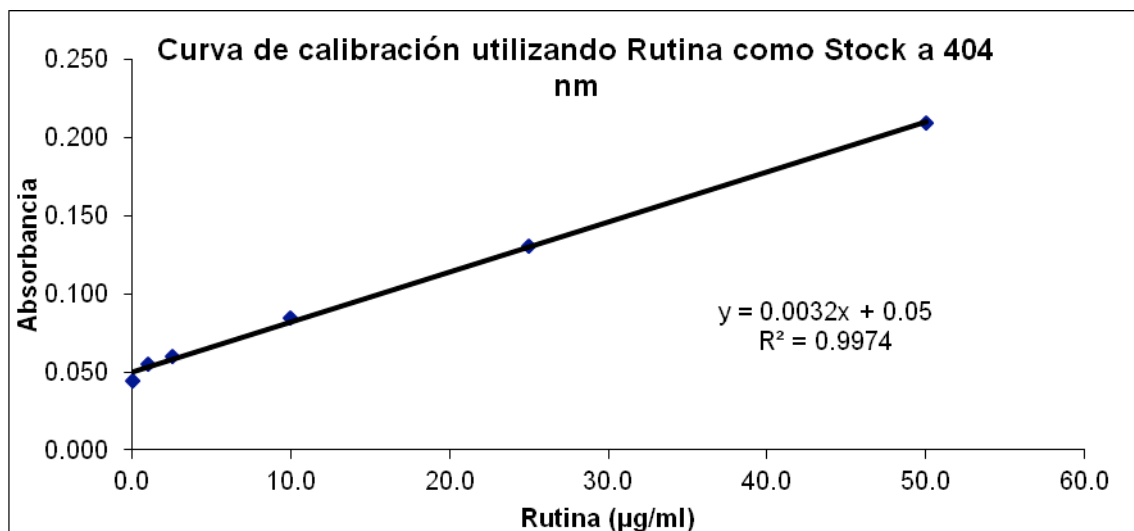


Figura 9. Curva de calibración de flavonoides.

6.4.4 Determinación de la capacidad antioxidante en hojas de pepino (*Cucumis sativus* L.)

La actividad antioxidante de un compuesto puede evaluarse *in vitro* por medio de experimentos sencillos que examinan directamente dicha habilidad y que a la vez evalúan el posible efecto prooxidante sobre diferentes moléculas.

La actividad inhibidora del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), se midió en los extractos metanólicos de los tratamientos de fertilización biorracional. La reacción vira del color azul-violeta al amarillo pálido por la presencia de una sustancia antioxidante.

Para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH, se tomaron 20 μ L del extracto metanólico, se adicionaron 200 μ L del radical DPPH, con su respectivo blanco (metanol) y control (radical DPPH). Las muestras se dejaron en oscuridad por 30 minutos y posteriormente se leyeron en el espectrofotómetro a 520 nm. El valor obtenido substituyó utilizando la formula de reducción de DPPH, descrita a continuación.

$$\% \text{ Reducción del DPPH}^* = (A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{control}}$$

Donde:

A_{muestra} = absorbancia del extracto metanólico o Trolox,

A_{control} = absorbancia del control (metanol)

El resultado obtenido se expresó como mg equivalentes de Trolox por gramo de muestra seca (mg Eq Trolox/g ms).

6.4.4.1 Curva de calibración de capacidad antioxidante.

Se usó una curva de calibración a base de trolox (0.25 mg/mL) como sustancia antioxidante control, de la cual se usó en concentraciones de 50 a 700 μ M con intervalos de 100 μ M (100 μ L) completando el volumen de cada uno a 1000 μ L con metanol.

De cada estándar se tomó 20 μL y se adicionaron 200 μL del radical DPPH previamente preparado (1.5 mg de DPPH con 20.5 mL de metanol y 4.5 mL de agua destilada). La absorbancia se midió a 520 nm de 0 a 90 minutos en intervalos de 10 minutos.

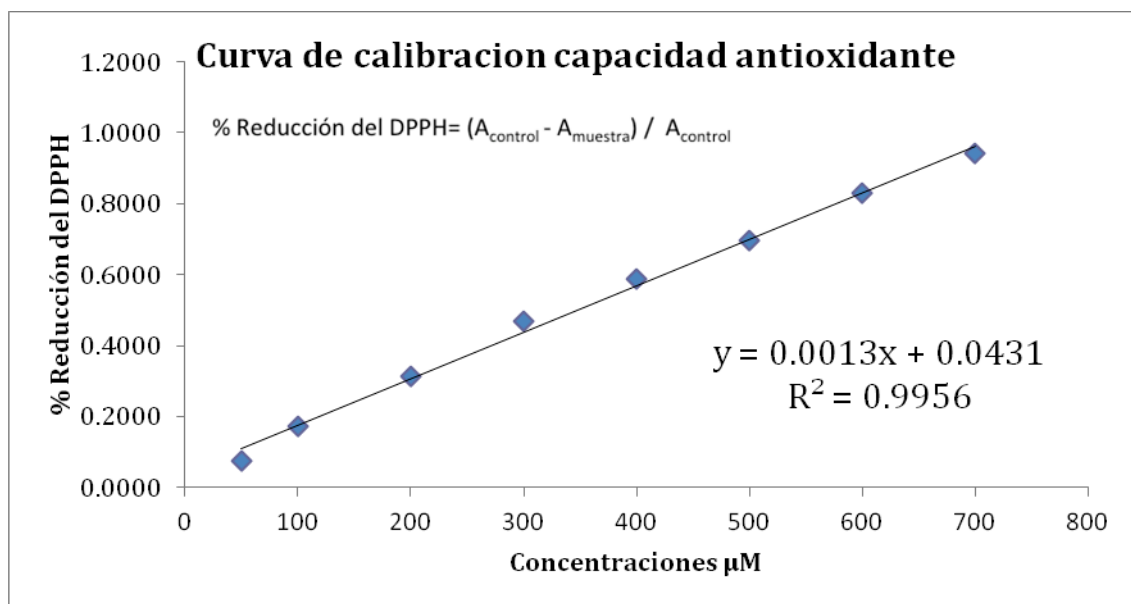


Figura 10. Curva de calibración de capacidad antioxidante.

6.5 Análisis Estadístico

El análisis de varianza (ANOVA) de los resultados de cantidad de fenoles totales, contenido de flavonoides y actividad antioxidante de cada tratamiento de fertilización biorracional, se realizó con el paquete estadístico JMP 9.0.

7.RESULTADOS

7.1 Contenido de fenoles totales en hojas de pepino *Cucumis sativus* L

En el presente trabajo se evaluó el efecto que tiene la fertilización sobre la acumulación de compuestos fenólicos en el tejido foliar de la planta de pepino. Puede observarse en la Figura 10 que la aplicación biorracional de fertilizantes en el ciclo del cultivo del pepino bajo condiciones de invernadero, tuvo un efecto significativo de acuerdo al análisis ANOVA realizado, con un valor de $p < 0.0001$. También puede observarse que los tratamientos biorracionales son estadísticamente diferentes al tratamiento convencional (control). Sin embargo, sólo el tratamiento biorracional 1 compuesto por solución nutritiva Steiner al 100% y rizobacterias, generó mayor cantidad de fenoles en la planta de pepino al tiempo de la cosecha. Lo que resulta relevante, debido a que los otros biorracionales se encuentran por debajo del convencional, esto podría deberse a que en este periodo la planta ha adquirido su madurez y no se encuentra bajo otro estrés. Por otro lado, los tratamientos de orgánico 1 y 2 no mostraron diferencia significativa respecto al tratamiento convencional y biorracional 1, pero si, respecto al biorracional 2-5.

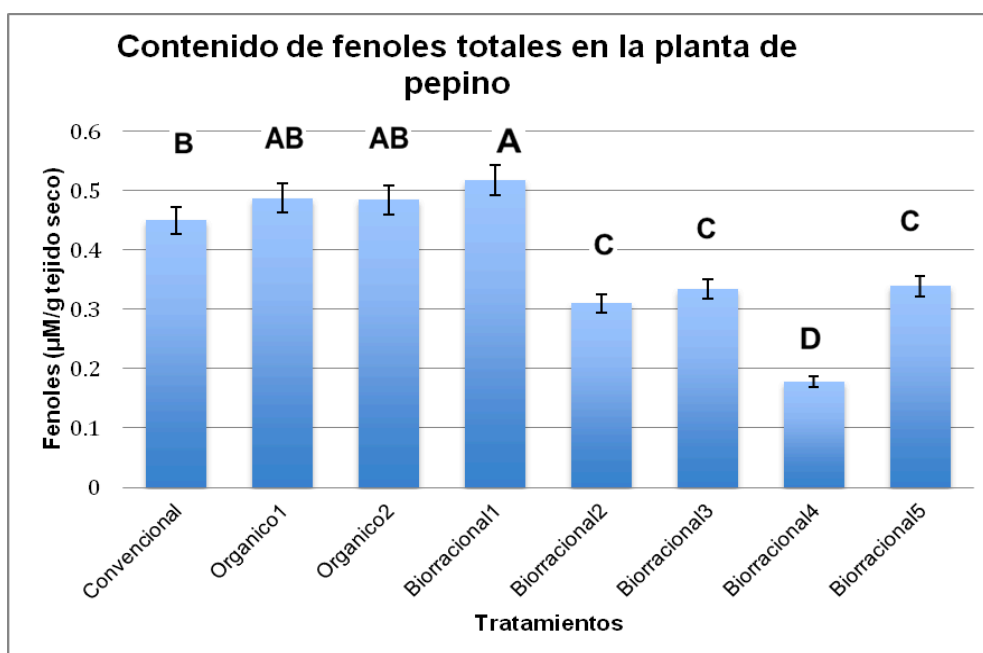


Figura 11. Grafica de los resultados del análisis de comparación de medias de cantidad de fenoles totales. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa de acuerdo a la prueba de Tukey.

7.2 Contenido de flavonoides en hojas de *Cucumis sativus* L

También se evaluó el efecto que tiene la fertilización sobre la acumulación de flavonoides en hojas de la planta de pepino. En la figura 11 se muestran los resultados donde nos indica que en general todas las aplicaciones de los diferentes tipos de fertilización en el ciclo del cultivo del pepino bajo condiciones de invernadero, fueron uniformes de acuerdo al análisis ANOVA realizado, con un valor de $p < 0.0001$ con cuatro tratamientos con el mismo nivel de significancia seguido por 3 de el segundo nivel de significancia y un ultimo tratamiento en el siguiente nivel de significancia para la determinación de la concentración de flavonoides en las hojas respecto al tratamiento de fertilización convencional que se tomo como testigo experimental, siendo los que lo sobrepasaron los siguientes tratamientos, ordenados de mayor a menor concentración:

- Organico1.
- Biorracional1.
- Organico2.

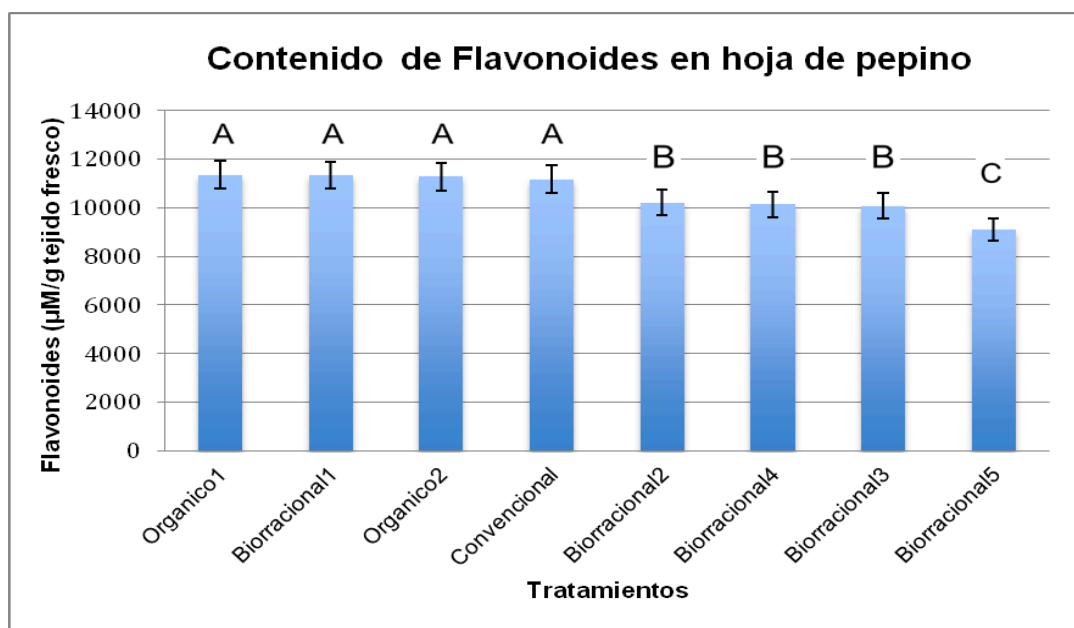


Figura 12. Grafica de los resultados del análisis de comparación de medias de cantidad de flavonoides totales.

7.3 Capacidad antioxidante en hojas de *Cucumis sativus* L

La capacidad antioxidante medida por la capacidad de reducción del agente DPPH observando una decoloración en las muestras dio como resultado los siguientes valores.

A los resultados obtenidos en laboratorio, se les aplicó el análisis estadístico de comparación de medias con un valor de $p < 0.0001$ y donde las letras diferentes indican diferencia estadística significativa de acuerdo a la prueba de Tukey.

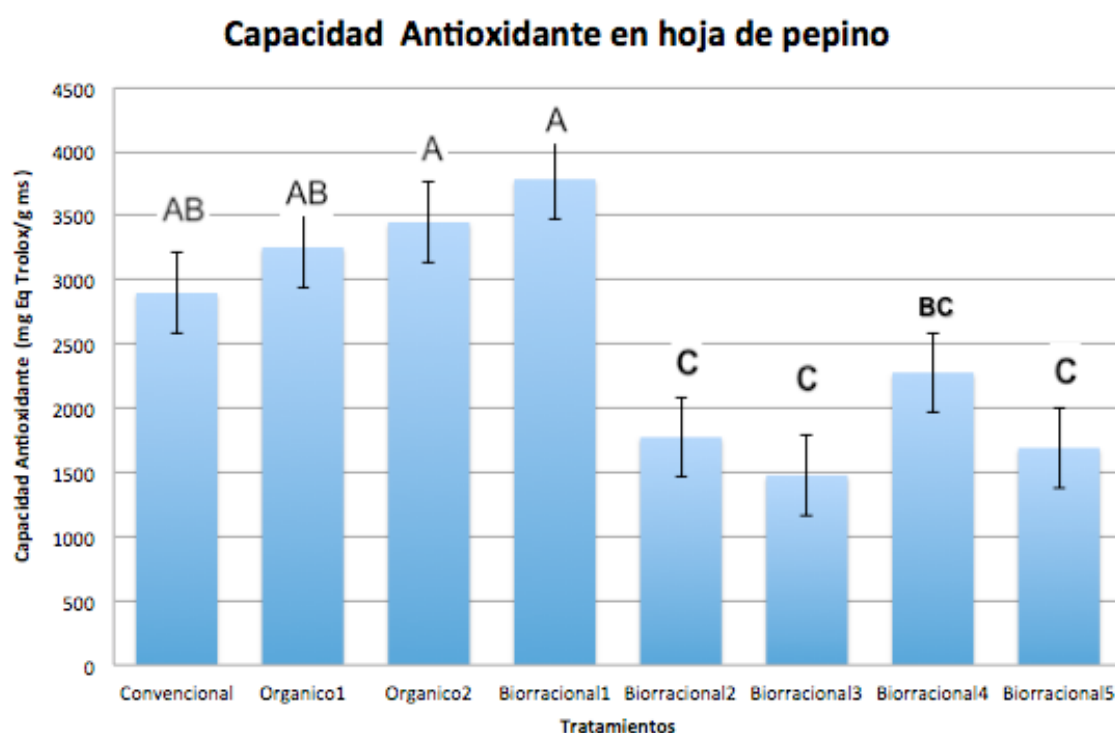


Figura 13. Grafica de los resultados de análisis de comparación de medias de capacidad antioxidante.

En la figura 13, se observa que se obtuvo mejor capacidad antioxidante con el tratamiento orgánico 2 que consiste de 3448.9301 μg Eq Trolox/ gr muestra seca, y biorracional 1 que consiste de 3784.2155 μg Eq Trolox/ gr muestra seca, respecto al tratamiento convencional. Esto puede deberse a la simbiosis entre planta y bacterias, que aun siendo benéficas, mantienen a la planta en un modo de alerta incrementando esa capacidad antioxidante como modo de defensa.

8. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La aplicación del tratamiento biorracional 1, que consiste de la combinación de la solución Steiner más Rhizobacterias, en la planta de *Cucumis sativus* L. produjo una mayor acumulación de fenoles totales y mejor respuesta de la capacidad antioxidante. En cuanto a la acumulación de flavonoides, fue el segundo mejor tratamiento después del tratamiento orgánico convencional. Sin embargo no se observaron diferencias significativas respecto a los demás tratamientos, el cuadro 7 muestra los tratamientos y sus resultados obtenidos en las diversas pruebas.

Cuadro 7. Resultados de los análisis químicos de los tratamientos de fertilización usados.

Fertilización	Composición	Fenoles totales (mg Eq AG/ g ms)	Flavonoides totales (mg de rutina/ gr ms)	Capacidad Antioxidante (mg Eq Trolox/g ms)
Convencional	Solución nutritiva Steiner al 100%	0.45014239	11173.438	2898.5186
Orgánico 1	Qenergy	0.48712245	11357.292	3253.3249
Orgánico 2	Qenergy + Rhizobacterias	0.4844112	11280.208	3448.9301
Biorracional 1	Solución nutritiva Steiner al 100% + Rhizobacterias	0.51755493	11341.146	3784.2155
Biorracional 2	Solución balanceada (Steiner + Qenergy)	0.31039278	10218.75	1775.1409
Biorracional 3	Solución balanceada (Steiner + Qenergy) + Rhizobacterias	0.33389034	10081.771	1477.4465
Biorracional 4	Solución balanceada (lavado de suelo + Qenergy)	0.17836196	10130.208	2278.3328
Biorracional 5	Solución balanceada (lavado de suelo + Qenergy + Rhizobacterias)	0.3391653	9116.667	1691.9131

Yu-Hong et al (2011) demostraron que el manejo de diferentes tipos de fertilización pueden modificar la estructura microbiana del suelo rizosferico en tabaco, en este caso los diferentes tipos de fertilización modificaron los niveles de fenoles y flavonoides totales además de la capacidad antioxidante. Lo cual coincide con los resultados de este trabajo, debido a que se demostró que la fertilización biorracional elevó considerablemente el contenido de fenoles

totales y aumento la capacidad antioxidante respecto a la fertilización convencional utilizada, mientras que el contenido de flavonoides se mantuvo prácticamente constante en todos los tratamientos de fertilización.

También Eleiwa et al (2012) al hacer diversas combinaciones de micronutrientes con bacterias del genero *Azospirillum brasilense* y compararlas con plantas no inoculadas en trigo, estas incrementaron significativamente el rendimiento de trigo en campos recuperados de Egipto. Mientras que por su parte Adesemoye et al (2008) concluyeron que se podía reducir en hasta un 75% la tasa de fertilización recomendada en una combinación de rizobacterias promotoras de crecimiento (PGPR) y de hongos micorrizicos arbusculares (AMF), siendo la fertilización biorracional una constante en diversas investigaciones alrededor del mundo.

Cabe mencionar que durante el desarrollo del trabajo, el cultivo tuvo el ataque del hongo *Erysiphe cichoracearum* cenicilla polvorienta, el cual es controlado por medio de azufre elemental. Al ser aplicado, hubo un efecto negativo como el quemado de una gran área foliar en los tratamientos organico1, biorracional2, biorracional4 y biorracional5, mientras que en el tratamiento convencional, organico2, biorracional1 y biorracional3, se detuvo el ataque del hongo sin que la planta presentara ningún efecto secundario, con la particularidad de que en todos los tratamientos donde no hubo afectaciones contaban con rizobacterias, excepto el tratamiento convencional, esto puede deberse al modo de alerta en el que fue inducido la planta al estar en contacto con bacterias.

Mientras que para el caso de flavonoides, al contar con una concentración uniforme en los tratamientos, se puede deducir que la fertilización no tiene efecto significativo sobre la producción de flavonoides en la planta, sino que la producción de estos esta ligada a otros factores que no se fueron evaluados en este trabajo.

9. CONCLUSIÓN

En general, puede concluirse que la aplicación de la fertilización biorracional en el cultivo de *Cucumis sativus* L., incide directamente en la acumulación de compuestos bioactivos en el tejido foliar de la planta. Por lo tanto, puede considerarse como una buena estrategia para la inducción de estos compuestos en el tejido foliar, además del fruto, y así sumarle valor agregado al cultivo. Y disminuir simultáneamente los residuos agrícolas.

Además, la fertilización biorracional podría ser una alternativa para el mayor aprovechamiento de nutrientes en el suelo, como las rizobacterias que elevan la concentración de metabolitos secundarios sin minimizar la producción, y generación de resistencia a los ataques de hongos.

La tecnología es barata y fácil de manejar. Por lo tanto, puede servir como un componente estratégico para los agricultores a hacer frente a los ambientes difíciles y elevar la producción de compuestos bioactivos.

10.REFERENCIAS

- [1] Adesemoye A.O., Torbert H. A. y Kloepper J. W. 2009. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Allow Reduced Application Rates of Chemical Fertilizers. Springer Science + Business Media, LLC.
- [2] Aguirre Medina JF., Irizar Garza MB., Durán A., Grajeda OA Peña del Río MA., Loredó Osti C. y Gutiérrez Baeza A. 2009. Los *Biofertilizantes microbianos*: alternativa para la agricultura en México. centro de investigación regional pacífico sur campo experimental rosario izapa. INIFAP, México.
- [3] Añez B. y Espinoza W. 2001. Efecto de humus de lombriz sobre el cultivo de la col. Revista De Riego. Pp 62-65.
- [4] Apak R., Guclu K., Demirata B., Ozyurek M., Esin CS., Bektasoglu B., Berker K. y Ozyur D. 2007. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12: 1496-547.
- [5] Armenta-Bojórquez A. D., García-Gutiérrez C., Camacho-Báez J.R., Apodaca-Sánchez M. A., Gerardo-Montoya L. Y Nava-Pérez E. 2010. *Biofertilizantes en el desarrollo agrícola de México*. Mexico
- [6] Austin MB. y Noel JP. 2003. The chalcone synthase superfamily of type III polyketide synthases. *Natl. Prod. Rep.*, 20: 79-110.
- [7] Avalos G.A. y Perez-Urrias C.E.. [2009](#). *Metabolismo secundario de plantas*. Departamento de Biología Vegetal I (Fisiología Vegetal). Facultad de Biología. Universidad Complutense. Madrid. España.
- [8] Cala Molina M. P. 2011. Determinación de antioxidantes fenólicos en plantas aromáticas del género *lippia sp.* (familia verbenaceae) empleando

cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta eficiencia. Universidad Industrial de Santander. Colombia

[9] Caballero J. 2009. Uso de Biofertilizantes en la agricultura nacional. Investigación y desarrollo. Recuperado 15 de marzo de 2013 de <http://www.invdes.com.mx/suplemento-noticias/416-uso-de-biofertilizantes-en-la-agricultura-nacional><http://www.invdes.com.mx/suplemento-noticias/416-uso-de-biofertilizantes-en-la-agricultura-nacional>

[10] Campos H.A y Ambriz C.R. 2011. Validación de biofertilizantes en caña de azúcar en el estado de morelos. INIFAP. México.

[11] Casaca A.D. 2005. El cultivo del pepino. proyecto de modernización de los servicios de tecnología agrícola, promosta. 2005. Costa Rica.

[12] Ciocan I.D., Băra I.I., 2007 Plant products as antimicrobial agents. Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, TOM VIII,

[13] Comisión veracruzana de comercialización agrícola. 2010. Monografía del pepino. México.

[14] Conn EE.1986. The Shikimic Acid Pathway (Recent Advance in Phytochemistry). New York: Springer, Plenum Press.

[15] Cotelle N. 2001. Role of flavonoids in oxidative stress. Curr. Topics Med. Chem., 1: 569-590.

[16] Dahan A. y Altman H. 2004. Food–drug interaction: grapefruit juice augments drug bioavailability Fmechanism, extent and relevance. Eur. J. Clin. Nutr., 58: 1-9.

[17] Dai J., Mumper R. 2010. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. Molecules, 15: 7313-7352.

- [18] Dossier FIBL. 2007. La calidad y seguridad de los productos ecológicos. Research Institute of Organic Agriculture (Forschungsinstitut für biologischen Landbau, FiBL) Switzerland, Germany, Austria.
- [19] Elein T.A., Leyva A., Hernández A. 2005. Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill). Rev. Colomb. Biotecnol. Vol. VII No. 2 Diciembre 2005 47-54. Colombia.
- [20] Eleiwa ME., Hamed ER. y Shehata HSH. 2012. Biofertilizers and/or some micronutrients role on wheat plants grown on newly reclaimed soil. Department of Botany, Faculty of Science, Cairo University, PO Box 12411, Giza, Egypt, 2Department of Chemistry of Natural and Microbial Products, National Research center, PO Box 12411, Giza, Egypt and 3Water and Environment Research Institute, Agricultural Research Center, PO Box 12411, Giza, Egypt.
- [21] El-Moniem A., Naguib M., K. El-Baz F., A. Salama Z., El Baky Hanaa HA., F. Ali H, y A. Gaafar A. 2012. Enhancement of phenolics, flavonoids and glucosinolates of Broccoli (*Brassica oleracea*, var. *Italica*) as antioxidants in response to organic and bio-organic fertilizers. Department of Biochemistry, Faculty of Agriculture, Cairo University, Egypt
- [22] FAO. 2009. Current world fertilizer trends and outlook to 2013. Recuperado 15 de marzo de 2013 de <ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/cwfto13.pdf>
- [23] Fuentes J., Magaña C., Suárez L., Peña R., Rodríguez S., Ortiz de la Rosa B. 2001. análisis químico y digestibilidad “*in vitro*” de rastrojo de maíz (*zea mays* l.). Agronomía mesoamericana. México.
- [24] Fundación MCCH. 2009. Fertilización organica. Av. Rumichaca S26-365 y Moro Moro, Barrio Turubamba. Quito, Ecuador.

- [25] Ghasemzadeh A. y Ghasemzadeh N. 2011. Flavonoids and phenolic acids: Role and biochemical activity in plants and human. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(31), pp. 6697-6703, 23.
- [26] Graetz H.A. 2008. Suelos y Fertilización. Manuales para Educación Agropecuaria. Editorial Trillas. México.
- [27] Harborne, J.B. 2001, *Phytochemistry: Advances in Research Nat. Prod. Res.* 18, 361.
- [28] Irañeta J., Sánchez L. y Malumbres A. 2010. Agricultura, Fertilización y Medio Ambiente. ITG Agrícola. Navarra, España.
- [29] Kukic J., Petrovic S. y Niketic M. 2006. Antioxidant activity of four endemic *Stachys taxa*. *Biol. Pharmaceut. Bull.*, 29: 725-729.
- [30] Lattanzio V., Veronica M. T. Lattanzio y Cardinali A. 2006. Role of phenolics in the resistance mechanisms of plants against fungal pathogens and insects.
- [31] Lino B. A., Arozarena D. N.J., Dibut A.B., Ríos R. Y., Croche A. G., Fernández A. J., Ramos C. H., Creagh B. 2006. *Agrotecnia de Cuba*. Volumen 30, Número 1.
- [32] Limpio P.J. 2005. Efecto comparativo entre el humus sólido de lombriz roja californiana (*Eisenia foetida*) y fertilizantes químicos sobre el comportamiento agronómico del pimentón (*Capsicum annum* L.) y del pepino (*cucumis sativus* L.) Tesis para obtener el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Oriente.
- [33] López T.M. 2006. Horticultura. 2ª Edición. Editorial Trillas. México.

- [34] Lucio M., Nunes C., Gaspar D., Ferreira H., Lima JLFC. y Reis S. 2009. Antioxidant activity of vitamin E and Trolox: understanding of the factors that govern lipid peroxidation studies *in vitro*. *Food Biophysics*, 4: 312-320.
- [35] Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C., Jimenez L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clinical Nutr.*, 79: 727–747.
- [36] Mandal SM, Chakraborty D, Dey S. 2010. Phenolic acids act as signaling molecules in plant–microbe symbioses. *Plant Signal. Behav.*, 5: 359-368.
- [37] Mata V.H., Patishtán P.J., Alejandro A.F., Vázquez G.E., Ramírez M.M. 2011. Efectos de biofertilizantes y biocompostas con fertilización química sobre el rendimiento y calidad de cebolla *allium cepa*. INIFAP. México.
- [38] Nur Faezah O., Siti Aishah H., Umi Kalsom Y., Nur Ashikin PA., Puteri Edaroyati MW. y Uma Rani S. 2012. Phenolics, Flavonoids, Antioxidant Activity and Cyanogenic Glycosides of Organic and Mineral-base Fertilized Cassava Tubers. Department of Crop Science, Universiti Putra Malaysia, Serdang 43400, Selangor, Malaysia
- [39] Olajire A. A y Azeez L. 2011. Total antioxidant activity, phenolic, flavonoid and ascorbic acid contents of Nigerian vegetables. *African Journal of Food Science and Technology*.
- [40] Paladino S.C. 2007. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.).
- [41] Palencia M. Y. 2005. Sustancias bioactivas en los alimentos. Universidad de Zaragoza. España.
- [42] Quintanar E. MA. y Calderón S. JV. 2009. La capacidad antioxidante total.

Bases y aplicaciones. Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Universidad Juárez del Estado de Durango. México.

[43] Rice-Evans CA., Miller NJ. y Paganga G. 1996. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.*, 20: 933-956.

[44] Robertson A. y M. N. Hall. 1989. A critical investigation into the flavonol method for thea. *Food Chem.* 34, 57-70. In: Martínez V., J.V. 2007. Oaxaca.

[45] Rodríguez F.P. y Castillo C. J., 2010. Producción local de pepino (*Cucumis sativus*, L.) Híbrido sarig 454 y su impacto sobre el crecimiento y productividad del cultivo en dependencia de la biofertilización foliar en un agroecosistema Santiaguero. *Ciencia en su PC*, núm. 2., pp. 114-124. Instituto de Información Científica y Tecnológica Santiago de Cuba, Cuba.

[46] Sánchez N.J. 2007. Fertilizantes, El alimento de nuestro alimento. Editorial Trillas. México.

[47] Salaya D. Jotam. 2010. Elaboración artesanal de dos abonos líquidos fermentados y su efectividad en la producción de plántulas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq). Tesis Maestro en Ciencias. Colegio de Postgraduados. H. Cárdenas, Tabasco.

[48] Sánchez G. C., Alvarado C.Y., Cruz M. M., Acosta S.M., Leiva M.M. Berkis R. 2010. Detección de compuestos bioquímicos relacionados con la respuesta defensiva en plantas de *Musa* spp. inoculadas artificialmente con *Mycosphaerella fijiensis*. Instituto de Biotecnología de las Plantas. Universidad Central 'Marta Abreu' de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5.5. Santa Clara. Villa Clara. Cuba.

[49] Secretaría de Salud. 2010. Acuerdo Nacional para la Salud Alimentaria Estrategia contra el sobrepeso y la obesidad. Primera edición, enero, 2010 D.R. © Secretaría de Salud Lieja 7, Col. Juárez 06696, México, D.F.

[50] Sepúlveda J. G., Porta D.H. y Rocha S. M. 2003. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. *Revista mexicana de fitopatología*, diciembre, año/vol. 21. Numero 003.

[51] Servicio de Información y Estadística Agroalimentaria y Pesquera SIAP, SIACON, Anuario Agrícola por Municipio, SAGARPA. Consulta de Indicadores de Producción Nacional de Pepino. Recuperado 13 de marzo de 2013 de www.siap.sagarpa.gob.mx

[52] Singleton V.L.; Orthofer R. y Lamuela-Reventos R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Meth Enzymol.* 229: 152-178.

[53] The Statistics Division of the FAO. Consulta de base de datos de producción mundial y comercio internacional de pepino. Recuperado 13 de marzo de 2013 de <http://faostat.fao.org>.

[54] Tolonen M., Taipale M., Viander B., Pihlava JM., Korhonen H. y Ryhanen EL. 2002. Plant-derived biomolecules in fermented cabbage. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 6798-6803.

[55] Robertson A. y M. N. Hall. 1989. A critical investigation into the flavonol method for thea. *Food Chem.* 34, 57-70. In: Martínez V., J.V. 2007. Oaxaca.

[56] Valentine I. Kefeli, Maria V. Kalevitch y Bruno Borsari. 2003. Phenolic cycle in plants and environment. *Journal of Cell and Molecular Biology* 2: 13-18. Haliç University, Printed in Turkey.

[57] Vega R.E., Rodríguez G.R., Serrano G.N. 2009. Sustratos orgánicos usados para la producción del ají chay (*Capsicum annum* L.) en un huerto orgánico intensivo del trópico. *Revista UDO Agrícola* (3): 522-529.

[58] Vermerris, W., Nicholson, R. 2006. Phenolic Compound biochemistry. Springer. 1ra. Ed. New York: 1-32.

[59] Wink M. 2010. Biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. In Biochemistry of Plant Secondary Metabolism (second edition), ed. M. Wink, pp. 1-17. New York: Wiley–Blackwell Publishing.

[60] Yu-Hong Y., Dong-Mei C., Yan J., Hai-Bin W., Yu-Qi D., Xu-Kui G., Hai-Bin H., Wen-Xiong L. Effect of Different Fertilizers on Functional Diversity of Microbial Flora in Rhizospheric Soil Under Tobacco Monoculture. 2011. Yunnan Provincial Institute of Tobacco Research. China