

# Foro Internacional de Agricultura Orgánica

Juan Pedro Flores Margez  
(Coordinador)

UACJ



*Ciencia en la frontera:*  
*revista de ciencia y tecnología*  
*de la Universidad Autónoma*  
*de Ciudad Juárez*

**DIRECTORIO**  
**Ricardo Duarte Jáquez**  
*Rector*

**David Ramírez Perea**  
*Secretario General*

**Manuel Loera de la Rosa**  
*Secretario Académico*

**Luis Enrique Gutiérrez Casas**  
*Coordinador General de*  
*Investigación y Posgrado*

**Daniel Constandse Cortez**  
*Director del ICB*

**Alejandro Martínez Martínez**  
*Jefe del Departamento de Ciencias Químico Biológicas*

**Ramón Chavira Chavira**  
*Director General de Difusión*  
*Cultural y Divulgación Científica*

**CONSEJO EDITORIAL**  
Daniel Constandse Cortez  
*Director General*

Jorge Alberto Pérez León  
*Coordinador Editorial*

**COMITÉ EDITORIAL**  
Juan Pedro Flores Margez  
*Universidad Autónoma de Ciudad Juárez*

Pedro Osuna Ávila  
*Universidad Autónoma de Ciudad Juárez*

Baltazar Corral Díaz  
*Universidad Autónoma de Ciudad Juárez*

Evangelina Olivas Enríquez  
*Universidad Autónoma de Ciudad Juárez*

Martha Y. Barrón Manzanares  
*Universidad Autónoma de Ciudad Juárez*

Luis R. Alarcón Morales  
*Universidad Autónoma de Ciudad Juárez*

George D. Di Giovanni  
*University of Texas-Houston School of Public Health*

Manoj K. Shukla  
*New Mexico State University*

Genhua Niu  
*Texas A&M University*

Enrique Salazar Sosa  
*Universidad Juárez del Estado de Durango-FAZ*

Ignacio Orona Castillo  
*Universidad Juárez del Estado de Durango-FAZ*

Héctor Idilio Trejo Escareño  
*Universidad Juárez del Estado de Durango-FAZ*

Manuel Fortis Hernández  
*Instituto Tecnológico Agropecuario No. 10-Torreón, Coah.*

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS,**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS**

Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ / Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Coordinación General de Investigación y Posgrado. Vol. 10. (2012). Ciudad Juárez, Chih.: UACJ, 2012, v.; 21 cm. Seriado

Apoyado con Recursos PIFI

*Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ* Vol. II, Núm. ESPECIAL, 2013, es una publicación semestral editada por la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, a través del Instituto de Ciencias Biomédicas y de la Coordinación General de Investigación y Posgrado del ICB y el Departamento de Ciencias Básicas. Editor responsable: Luis Fernando Plenge Tellechea. Reserva al uso exclusivo otorgada por INDAUTOR Núm. 04-2010-11301126-0000-102 y el ISSN 2007-042X. Publicidad, anuncios y suscripciones, dirigirse a: *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, Heroico Colegio Militar 3775, 32310, Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Tel. (656) 688 18 85. **Copyright** © UACJ. Esta obra se terminó de imprimir en octubre de 2013 en los talleres de Solar Editores, calle 2, número 21, San Pedro de Los Pinos, C.P. 03800, México, D.F. Tiraje: 100 ejemplares.

Los manuscritos propuestos para publicación en esta revista deberán ser inéditos y no haber sido sometidos a consideración a otras revistas simultáneamente. Al enviar los manuscritos y ser aceptados para su publicación, los autores aceptan que todos los derechos se transfieren a *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, quien se reserva los de reproducción y distribución, ya sean fotográficos, en micropelícula, electrónicos o cualquier otro medio, y no podrán ser utilizados sin permiso por escrito de *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*; véase, además, notas para autores.

Permisos para otros usos: el propietario de los derechos no permite utilizar copias para distribución en general, promociones, la creación de nuevos trabajos o reventa. Para estos propósitos, dirigirse a: *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, correo electrónico: fplenge@uacj.mx

## CONTENIDO

<b>Presentación .....</b>	<b>9</b>
<b>Salinity in Irrigated Agricultural Soils under Organic Farming System</b> <i>Kulbhushan Grover, Manoj Shukla, Sukhbir Singh, Sanjit Deb .....</i>	<b>11</b>
<b>Growth and Physiological Responses of Plants to Salt Stress</b> <i>Niu, G., Osuna-Avila, P., Sun, Y. ....</i>	<b>19</b>
<b>Estudios de injertos en chiles y <i>Azospirillum brasilense</i> en tipo cayene, jalapeño y chilaca en el noroeste de Chihuahua, México</b> <i>Osuna-Ávila, P., Corral-Díaz, B., Flores-Margez, J.P., Olivas E., E. y Borrego-Ponce A. ....</i>	<b>27</b>
<b>Disponibilidad de nitrógeno y fósforo en suelos tratados con estiércol y agua residual en el cultivo de Rábano</b> <i>Juan Pedro Flores-Margez, Mónica J. Garcia-Rodriguez, Evangelina Olivas-Enriquez, Pedro Osuna-Ávila, Baltazar Corral-Díaz y Enrique Salazar-Sosa .....</i>	<b>37</b>
<b><i>Cryptosporidium</i> y <i>Giardia</i> en suelos del Valle de Juárez, Chihuahua, México</b> <i>Evangelina Olivas-Enríquez, Juan Pedro Flores-Margez, J. Abraham Gómez-Carbajal, Pedro Osuna-Ávila, Baltazar Corral-Díaz y George D. Di Giovanni .....</i>	<b>53</b>
<b>Importancia de la identificación del parásito <i>Cryptosporidium</i> por medio de la genotípificación</b> <i>Luis R. Alarcón, Juan Pedro Flores-Margez, Evangelina Olivas-Enríquez, Pedro Osuna-Ávila, Baltazar Corral-Díaz y Enrique Salazar-Sosa .....</i>	<b>61</b>
<b>Enterobacterias patógenas en productos vegetales mínimamente procesados para el consumo en Ciudad Juárez</b> <i>Martha Y. Barron-Manzanares, N. Chacón-Barajas, A. Galván-Sotelo, E. Olivas Enríquez, J. Pedro Flores-Margez, Pedro Osuna-Ávila y Baltazar Corral-Díaz .....</i>	<b>65</b>
<b>Perspectivas de la Agricultura Orgánica</b> <i>Enrique Salazar Sosa, Héctor Idilio Trejo Escareño, Enrique Salazar Meléndez, Rafael Zúñiga Valenzuela, Ignacio Orona Castillo, Jesús Luna Anguiano y Juan P. Flores Margez .....</i>	<b>73</b>



## ABSTRACTS

**Salinity in Irrigated Agricultural Soils under Organic Farming System***Kulbhushan Grover, Manoj Shukla, Sukhbir Singh, Sanjit Deb ..... 11*

Organic agriculture is growing rapidly in New Mexico, USA and world-wide primarily due to the concerns related to soil and environmental problems associated with conventional farming system. The organic system relies on manure and the salts associated with the feed and manure carries a risk of soil salinization. The objective of this study was to determine the salinity and sodicity levels of furrow or flood irrigated soil under several years of organic farming system. In 2009, three organic farms selected were under organic agriculture for last seven (OF7), ten (OF10) and thirteen (OF13) years since certification. A conventional farm was also selected as a control. The estimated nitrogen content in soils of organic farms showed a surplus; however, care must be taken to account properly for soil nitrogen losses due to leaching, immobilization and other complex processes related to nitrogen transformation in soil. The soil salinity (1:1 soil to water extract method) determined during 2009 ranged from 0.67 to 1.04 dS/m under OF7, from 0.65 to 0.80 dS/m under OF10, and from 1.09 to 1.41 dS/m under OF13, indicating slightly saline conditions under the oldest organic farm below the 4 dS/m threshold for soil salinity for crops grown in experimental farms. Similarly, sodium adsorption ratio (SAR) showed an increasing trend from OF7 (4.9) to OF13 (8.8), but was below the threshold of 15 for most agricultural crops. There is a need to continuously monitor the soil fertility, salinity and sodicity in the organic fields.

Key words: Organic, agriculture, soil, salinity, nitrogen, sodium.

**Growth and Physiological Responses of Plants to Salt Stress***Niu, G., Osuna-Avila, P., Sun, Y. .... 19*

Water shortage and poor water quality are global issues. With rapid population growth and the diminishing water supply in the border land, use of alternative water sources such as municipal recycled water and brackish ground well water for agriculture and landscape irrigation is inevitable. Soil salinization and poor water quality is already a critical issue in this semi-arid border region. Selecting salt tolerant plants is one of the approaches to cope with high soil salinity and poor quality of irrigation water. This paper summarizes the methodology of screening and evaluating salt tolerance of plants under controlled environment. Quantification of salinity, effects of environmental conditions, general response of plants to salinity, and mechanism of salt tolerance are also discussed.

Key words: Plants, salt tolerance, halophyte, sodium, chloride.

### **Grafting Studies in Chile and *Azospirillum brasilense* in type Cayene, Jalapeño and Chilaca at Northwest Chihuahua, Mexico**

*Osuna-Ávila, P., Corral-Díaz, B., Flores-Margez, J.P., Olivas, E. E. y Borrego-Ponce A.*.....27

This study determined the influence on the timing of the diameters of jalapeno, chilaca and Cayene stems as grafts and landrace Morelos CM-334 as the rootstock. The stem diameter of CM 334 showed high compatibility with jalapeno and chilaca, and was very distant with Cayenne. Abundant callus formation between the unions of the tested grafts showed good aptitude and affinity which allowed the firm connection of the vascular cambium. The rates of graft survival were of 90% with chilies, which is within the acceptable range for commercial purposes. Also the effect of *Azospirillum brasilense* as biofertilizer in three types of chili was studied as alternatives to avoid the excessive use of chemical fertilizer through the inoculation with growth promoting microorganisms named “biofertilizers”. Among these microorganisms *Azospirillus* has been one of the best in cereal crops. The soaked seeds were mixed with *A. brasilense*. After five weeks of the transplant, it was observe significant differences only for the height variable in the inoculated treatments with the *A. brasilense* bacterium. The most remarkable was an intense green color in the area part, which may be due to the nitrogen translocation by *Azospirillum*. The use of CM 334 as a rootstock resistant to *P. capsici* as well as *A. brasilense* could be part of an integrated control for wilt in these types of commercial chilies.

Key words: Chile, rootstock, biofertilizer, Morelos CM-334, *Azospirillum*.

### **Nitrogen and Phosphorus Availability in Soils Treated with Manure and Wastewater on Radish Crop**

*Juan Pedro Flores-Margez, Mónica J. Garcia-Rodriguez, Evangelina Olivas-Enriquez, Pedro Osuna-Ávila, Baltazar Corral-Díaz y Enrique Salazar-Sosa* .....37

The production of manure and wastewater have been increased tremendously in México, and there is a need to generate information for improving the management of these resources, as they may have both positive and negative impact on agricultural production and natural resources. The objective was to evaluate the response of radish crop to different soil amendments and type of irrigation water. The experiment was conducted in a greenhouse located at the Institute of Biomedical Sciences in UACJ. Treatments were: soil (control), soil treated with dairy manure without solarization, and soil with manure solarized, and irrigation with tap water and wastewater collected from the main irrigation canal. Experimental design was completely randomized with factorial arrangement and four replications. Inorganic N detected in soil ranged from 53 to 75 mg/kg, and was sufficient to supply the physiologic demand of radish plants. No significant effect of type of manure and water on fruit and biomass production was detected. The greatest N content was detected in the treatment composed by manure without solarization and tap water, and it was higher than the control with 40 mg/kg, which was the amount of N mineralized from the manure applied. Soil P concentration increased with manure application to 64 mg/kg, but the P concentration in the

treatment with wastewater was 51 mg/kg. As a result of manure application, soluble salts in soil increased on average of 4,772  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , and 1,614  $\mu\text{S}/\text{cm}$  in treatment with wastewater.

Key words: Manure, nitrogen, phosphorus, wastewater, radish

### ***Cryptosporidium* and *Giardia* in Soils of Juarez Valley, Chihuahua, México**

*Evangelina Olivas-Enríquez, Juan Pedro Flores-Margez, J. Abraham Gómez-Carbajal,*

*Pedro Osuna-Ávila, Baltazar Corral-Díaz y George D. Di Giovanni*.....53

This work was based on previous reports regarding the high prevalence of intestinal parasites in people of the Juarez Valley, Chihuahua. Agricultural irrigation with wastewater promotes soil contamination with enteric parasites including *Giardia* and *Cryptosporidium*, which are very common in this region. The objective was to identify and count the parasites *Cryptosporidium* spp. and *Giardia lamblia* in soil samples from field, agricultural implements and residential backyards, from different villages during 2008-2009. The microscopy method takes up more than just *C. parvum*, including *C. hominis* from humans and other species. Moisture, pH and electrical conductivity were also measured. The parasites were concentrated in 25 g soil samples, and then separated by an immunomagnetic technique, followed by immunofluorescent staining. The identification and quantification of the parasites was performed by epifluorescence microscopy. *Giardia* and *Cryptosporidium* were detected in 21% of the field soil samples and agricultural implements, observing no effect of pH, moisture, or electrical conductivity on parasite levels. Agricultural irrigation and animal activities are therefore likely important soil contaminant factors. Both parasites were detected in 100% of the residential backyard soil samples, coinciding with the presence of pets in all of them, without control of their excreta. The high prevalence of these parasites in soils represents a potentially serious health risk for Juarez Valley farmers and villagers.

Key words: soil, wastewater, parasites, *Giardia*, *Cryptosporidium*.

### **Importance of Identification the Parasite *Cryptosporidium* by Using Genotyping**

*Luis R. Alarcón, Juan Pedro Flores-Margez, Evangelina Olivas-Enríquez,*

*Pedro Osuna-Ávila, Baltazar Corral-Díaz y Enrique Salazar-Sosa* .....61

The parasite of the genus *Cryptosporidium* is the etiologic agent of *cryptosporidiosis*, an illness characterized by diarrhea, which especially affects immunocompromised people and those in underdeveloped countries. A wide variety of host feces act as sources of *Cryptosporidium* contamination of water and food, especially of raw consumed food. Therefore it is very important to establish the genotype and human or animal origin of oocysts in order to prevent the emergence of epidemics. *Cryptosporidium parvum* and *hominis* are the main causes of human *cryptosporidiosis* and *C. hominis* generally comes from humans and *C. parvum* can come from both humans and animals. Immunocompromised persons and people in poor health can also be infected by other *Cryptosporidium* species which are typically associated only

with animals in developed countries. It would be important to know if Juarez residents are being infected with some of these other *Cryptosporidium* species as it would have implications for disease prevention.

Key words: *Cryptosporidiosis*, *Cryptosporidium parvum*, water, soil, animal feces.

**Pathogenic enterobacteria in minimally processed vegetable products for consumption in Ciudad Juarez, Chihuahua**

Martha Y. Barron-Manzanares, N. Chacón-Barajas, A. Galván-Sotelo, E. Olivas Enríquez, J. Pedro Flores-Margez, Pedro Osuna-Ávila y Baltazar Corral-Díaz .....65

The aim of this study was to identify the presence of enteropathogenic bacteria *Escherichia coli* and *Salmonella spp.*, and to determine the levels of fecal coliform bacteria in minimally processed vegetable products from supermarkets in Ciudad Juarez, Chihuahua, México. Samples of salad lettuce and vegetable mixtures were tested with microbiological techniques described in Official Mexican Standards. *E. coli* was detected in 15% of the salad samples. Fecal coliforms were found in vegetable mixtures ranging from 130 to 305,000 MPN/g, while salads ranged from 3 to 1,100 MPN/g. These results indicate that deficiencies in the hygienic handling of these products and monitoring must be performed in compliance with regulations on hygienic practices for food preparation in order to detect the source of sanitary problems.

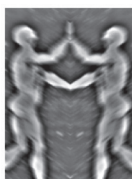
Key words: soil, wastewater, parasites, *Giardia*, *Cryptosporidium*.

**Prospects of organic agriculture**

Enrique Salazar Sosa, Héctor Idilio Trejo Escareño, Enrique Salazar Meléndez, Rafael Zúñiga Valenzuela, Ignacio Orona Castillo, Jesús Luna Anguiano y Juan P. Flores Margez.....73

The world population has increased continuously, so that by 2050 is expected to be about nine billion people (UNFPA. 2004, United Nations, 2003) which in addition to requiring the food for daily consumption, need wherever possible and innocuous products for good health and quality of life. Therefore, it is required that from this moment you make changes in current production systems, without any control limit, which carry the risk not only to increase production costs, but does not represent the most suitable from the point of view of food safety. Thus, organic farming is already a viable and safe, not only from a safety standpoint, but also as a holistic production system to obtain cost effective and safe products in their biological quality.

Key words: Safety, organic fertilizers, biofertilizers, *Cryptosporidium*.





# Presentación

La presente edición especial de nuestra Revista Ciencia en la Frontera está dedicada a difundir la información científica presentada durante el Foro Internacional de Agricultura Orgánica celebrado el 15 de marzo de 2013 en el Instituto de Ciencias Biomédicas de la UACJ. Este evento fue organizado por los integrantes del Cuerpo Académico Consolidado “Sistemas de Producción Agrícola”, UACJ-CA-60. Asimismo, contó con la participación de los Cuerpos Académicos Consolidados de “Optimización de los Recursos Suelo y Agua” de la Facultad de Agricultura y Zootecnia, de la Universidad Juárez del Estado de Durango, y el de “Manejo de Recursos Naturales” del Instituto Tecnológico de Torreón.

El foro fue parte estratégica de las actividades de investigación colegiadas que realiza la Red Internacional de Agricultura Orgánica en forma permanente como en los Congresos Nacionales de la Ciencia del Suelo, en la cual también han participado investigadores de New Mexico State University (NMSU) y Texas A&M University quienes en esta ocasión hicieron aportaciones de sus investigaciones recientes sobre tolerancia de plantas a salinidad de suelos y agua. Por esta razón, en complemento a las ponencias del evento, se consideró apropiado difundir la información generada de forma escrita como artículos científicos y artículos de revisión para su utilización en docencia e investigación tanto nacional como internacional.

Es propicia la ocasión para agradecer a los estudiantes, docentes, personal administrativo y directivos de las mencionadas instituciones que participaron y apoyaron la realización del foro, así como a los autores de los artículos incluidos en este Número Especial por su esfuerzo y confianza al compartir sus hallazgos científicos para el bien de la sociedad y el campo mexicano.

Juan Pedro Flores Margez, Ph.D.

*Compilador y editor del número especial: Foro Internacional  
sobre Agricultura Orgánica, Volumen XI.*



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

# Salinity in Irrigated Agricultural Soils under Organic Farming System

Kulbhushan Grover<sup>1</sup>, \*Manoj Shukla<sup>1</sup>, Sukhbir Singh<sup>1</sup>, Sanjit Deb<sup>1</sup>

---

## ABSTRACT

Organic agriculture is growing rapidly in New Mexico, USA and world-wide primarily due to the concerns related to soil and environmental problems associated with conventional farming system. The organic system relies on manure and the salts associated with the feed and manure carries a risk of soil salinization. The objective of this study was to determine the salinity and sodicity levels of furrow or flood irrigated soil under several years of organic farming system. In 2009, three organic farms selected were under organic agriculture for last seven (OF7), ten (OF10) and thirteen (OF13) years since certification. A conventional farm was also selected as a control. The estimated nitrogen content in soils of organic farms showed a surplus; however, care must be taken to account properly for soil nitrogen losses due to leaching, immobilization and other complex processes related to nitrogen transformation in soil. The soil salinity (1:1 soil to water extract method) determined during 2009 ranged from 0.67 to 1.04 dS/m under OF7, from 0.65 to 0.80 dS/m under OF10, and from 1.09 to 1.41 dS/m under OF13, indicating slightly saline conditions under the oldest organic farm below the 4 dS/m threshold for soil salinity for crops grown in experimental farms. Similarly, sodium adsorption ratio (SAR) showed an increasing trend from OF7 (4.9) to OF13 (8.8), but was below the threshold of 15 for most agricultural crops. There is a need to continuously monitor the soil fertility, salinity and sodicity in the organic fields.

Index words: Organic, agriculture, soil, salinity, nitrogen, sodium.

---

<sup>1</sup> Plant and Environmental Sciences, New Mexico State University, Las Cruces, NM-88011  
\* Corresponding author: shuklamk@nmsu.edu

## INTRODUCTION

Soil is the most fundamental resource for agriculture. Some of the management practices such as, crop rotations, green manure application, animal manure application, compost application, and growing cover crops improve structure, water retention, water movement, and quality of the soil (Shukla *et al.*, 2004; Ikemura and Shukla, 2010). Modern day agriculture has been highly successful with increasing crop productivity over the past several decades. The advancement in productivity has largely been due to the use of improved technology and increased use of synthetic chemicals such as fertilizers and pesticides to realize high yields. These new technologies could be expensive and could increase cost of production for farmers, and may not necessarily help improving farm profitability and sustainability in spite of increased productivity. There has been growing concern about the potential adverse effect of these synthetic chemicals to the environment and human health. These economic and environmental concerns about chemical intensive farming have driven increasing interest in and demand for organically produced food. Organic production systems mainly focus on growing crops utilizing natural resources and without using synthetic chemicals (Shukla *et al.*, 2008).

Until recently, there have been diverse interpretations of organic agriculture system. In 2002, United States Department of Agriculture (USDA) established standards for organic production and set up agencies for certification based on a set of principles. A certified organic system excludes use of synthetic fertilizer and pesticides and should have a rotation plan (USDA-NOP, 2011). Organic farming has, therefore, risen as a viable alternative to conventional agriculture and has grown significantly over the past several years.

In the United States, certified organic crops tripled from 850,177 acres in 1997 to 2,643,221 acres in 2008, while area under certified organic pasture and rangeland quintupled from 496,385 acres in 1997 to 2,160,577 acres in 2008 (USDA-ERS,

2011a). Similar to its national trend, for over a decade organic agriculture has grown significantly in New Mexico as well and from 1997 to 2008, area under organic crops increased from 6,058 acres to 44,602 acres, and area under organic pasture land went up from 20,397 acres to 314,708 acres (USDA-ERS, 2011b).

In spite of all the opportunities, organic production systems have their specific challenges as well. Poor weed control and low soil fertility, particularly low N availability is one of the major issues in most organic production systems including those in NM. When applied to the soil, organic amendments, such as animal manures buildup organic matter in the soil in addition to supplying nutrients to the soil. There are several sources of salts including natural as well as anthropogenic. Salt is added to the animal diet and is used as a carrier for feed additives. Salt content in cattle manure is generally high, and a common concern is that the addition of large amounts of manures containing high salt levels for long periods can lead to salt-build up in the soil. In irrigated agriculture such as southern NM, irrigation water could also be a source of salts. The river water usually has low salt loadings but when groundwater is used for irrigation, depending upon the depth of the aquifer, salt loadings could become a concern.

Since organic farming is perceived as a valid alternative for environmental sustainability, this research was conducted to evaluate the effect of amount of time under certified organic agriculture on soil salinity and sodicity in selected irrigated organic farms of southern New Mexico.

## MATERIALS AND METHODS

We selected four fields located in Anthony, Doña Ana County of New Mexico at about 1152 m above sea level. In 2009, three organic farms selected were under organic agriculture for last seven years (OF7), ten years (OF10) and thirteen (OF13) years since certification (N 32° 01'58", W 106° 38'15") (Fig 1). A conventional farm was also se-

lected as a control (N32° 03'13", W106° 38'29"). Soil was classified as Harkey (coarse-silty, mixed, calcareous, thermic typic Torrifuvents) and was deep, nearly level, well drained, and formed in alluvium on flood plains and stream terraces along the Rio Grande Valley (Bulloch and Neher, 1980). The climate of the area is arid with mean annual temperatures ranging from 19-20 oC and mean annual precipitation from 180-230 mm (Ikemura and Shukla, 2009). Details on cropping system, fertilizer and manure application, tillage and irrigation are presented in Table 1 for all organic farms and the reference conventional farm.

Bulk soil samples were collected in triplicate at 0-10, 10-20, and 20-30 cm depths from all four fields during October 2009. Bulk soil samples were air-dried and passed through a 2 mm sieve and particle size distribution was determined by the hydrometer method (Gee and Bauder, 1986). Soil pH and electrical conductivity (EC) were measured by a handheld pH and EC meter (OAKTON Instruments, Vernon Hills, IL) using the 1:1 soil:water extract method. The Calcium, Magnesium and Sodium concentrations were obtained using ICP-OES (Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer; 4300 DV). SAR was computed as the ratio of Na (meq/L) and square root of the half of the Ca plus Mg (meq/L). The one-way analysis of means was performed at the 5% significance level

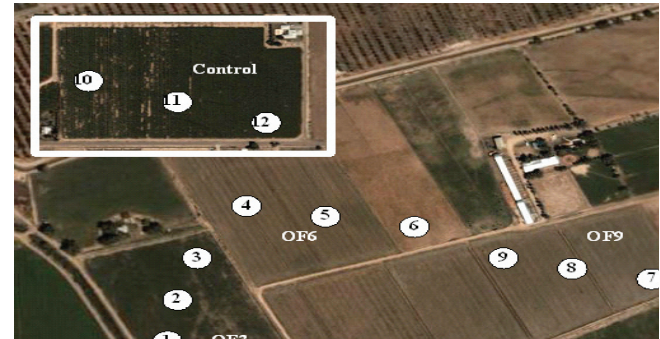
at each depth, separately (SAS Institute, 1989).

The cropping history for all farms presented in Table 1 indicates that organic farms were under rotation although crop rotation was not consistent. All three organic farms were furrow or flood irrigated and moldboard plowed every year followed by chisel tillage using a 35 cm long chisel plow. In all three organic farms, 50 Mg/ha of dried cow manure was applied and was incorporated into the soil. In all alfalfa fields, 0.18 Mg/ha of dry chicken pellet was applied twice during the growing season. The conventional farm was mostly under cotton. Conventional farm was furrow irrigated and moldboard plowed followed by 35 cm deep chisel tillage every year. Conventional farm was fertilized at pre plant stage and 30 gallons/ha of 10-34-0 (N-P-K) liquid fertilizer was applied.

## RESULTS AND DISCUSSION

Soil texture was reported as silt loam for the conventional farm at all depths, loam at 0-10 cm depth and silt loam at 10-20 and 20-30 cm depth of OF3, and loam at all depths of OF6 and OF9 (Ikemura *et al.*, 2008). No particle size analysis was performed for samples collected in 2009 because soil texture changes are primarily due to the pedogenic processes that require much longer time scales than exists in this study. Some differences in silt and sand contents were noted in the Table 2.





**Figure 1.** Location of Organic farms (OF7, OF10, OF13) and conventional farm (Control) and a picture of the aged cow manure applied on the organic farms.

**Table 1.** Management history of three organic and conventional farm.

Field	Cropping history	Manure/Fertilizer
Organic Farm OF7	Alfalfa: 2000-2002 Pima Cotton: 2003-2006 Alfalfa: 2007-2010	Alfalfa: 360 pound acre-1 yr-1 (in 2000-02) and 300 pound acre-1 yr-1 (in 2008-10) of dry chicken pelletized manure after first cutting in June (no manure to alfalfa in 2007). Cotton: 22 tons acre-1 yr-1 dried cow manure at pre-plant in Feb. (no manure to cotton in 2003 and 2011).
Organic Farm OF10	Corn: 2000 Alfalfa: 2001-2004 Lettuce : 2005 Chile: 2006 Upland Cotton: 2007 Chile: 2008 Alfalfa: 2009	Corn: 22 tons acre-1 dried cow manure at pre-plant in Feb. Alfalfa: 360 pound acre-1 yr-1 (in 2001-04) and 300 pound acre-1 yr-1 (in 2009-11) of dry chicken pelletized manure after first cutting in June. Lettuce: no manure to lettuce in 2005. Chile: 1000 pound acre-1 yr-1 (in 2006) and 1200 pound acre-1 (in 2008) dry chicken pelletized manure at pre-plant. Cotton: no manure to cotton in 2007.
Organic Farm OF13	Alfalfa: 2000 Pima cotton: 2001-05 Chile: 2006 Pima Cotton: 2007 Chile: 2008 Brown Cotton: 2009	Alfalfa: 360 pound acre-1 dry chicken pellet for alfalfa. Cotton: 22 tons acre-1 yr-1 (in 2001-2005), 20 tons acre-1 yr-1 (in 2010), and 10 tons acre-1 yr-1 (in 2009 and 2011) of dried cow manure. No manure was applied to cotton in 2007.
Conventional	Pima Cotton: 2001-06 Upland Cotton: 2007-09	Cotton: 12 gallons acre-1 liquid fertilizer URAN (10-34-0; N-P-K) at pre-plant and two more (32-0-0; N-P-K). Corn: 250 pounds acre-1 of DAP (18-46-0; N-P-K) at pre-plant and 25 gallons acre-1 of liquid fertilizer URAN (32-0-0) at side-dress.

**Table 2.** Mean  $\pm$  standard deviation of silt, and clay contents from four farms.

Location	Silt (%)	Clay (%)
0-10 cm depth		
OF7	45.3 $\pm$ 4.2B	17.1 $\pm$ 1.6B
OF10	43.9 $\pm$ 6.3B	20.6 $\pm$ 5.2AB
OF13	46.2 $\pm$ 5.0B	24.0 $\pm$ 0.9A
Control	63.1 $\pm$ 1.9A	23.2 $\pm$ 1.4A
10-20 cm depth		
OF7	51.3 $\pm$ 2.4B	19.1 $\pm$ 1.1B
OF10	44.7 $\pm$ 5.9B	20.3 $\pm$ 6.1AB
OF13	46.1 $\pm$ 2.3B	25.5 $\pm$ 1.4A
Control	59.2 $\pm$ 4.9A	24.8 $\pm$ 1.6AB
20-30 cm depth		
OF7	54.2 $\pm$ 4.5B	18.8 $\pm$ 2.2A
OF10	49.0 $\pm$ 0.8BC	19.3 $\pm$ 5.8A
OF13	47.8 $\pm$ 2.8C	21.8 $\pm$ 1.3A
Control	64.1 $\pm$ 1.2A	24.2 $\pm$ 2.7A

Soil pH in all the farms ranged from 8.25 to 8.73 and was alkaline, which is common for the arid soils of New Mexico (Table 3). Soil salinity as soil electrical conductivity (1:1 soil:water) reported in Table 3 indicated that the maximum EC of 1.41, 1.09, and 1.19 dS/m were obtained for OF13. These values are much lower than the threshold EC of 4 dS/m for most agricultural crops. This observation is similar to those reported by Ikemura *et al.* (2008) and Mendoza *et al.* (2011). The EC in the control was also less than 1 dS/m at all three depths. Thus with regard to soil salinity, there is no concern at this time at the plow layer of organic fields.

**Table 3.** Soil pH, electrical conductivity (EC; dS/m) and sodium adsorption ratio (SAR) for organic and conventional (control) farms

Farm	pH		EC		SAR	
	mean	Std Dev	mean	Std Dev	mean	Std Dev
0-10 cm						
OF7	8.33	$\pm$ 0.07	0.67	$\pm$ 0.06	6.21	$\pm$ 1.00
OF10	8.65	$\pm$ 0.06	0.72	$\pm$ 0.07	5.75	$\pm$ 1.69
OF13	8.25	$\pm$ 0.05	1.41	$\pm$ 0.17	6.56	$\pm$ 1.56
Control	8.49	$\pm$ 0.09	0.86	$\pm$ 0.19	2.96	$\pm$ 0.44
10-20 cm						
OF7	8.45	$\pm$ 0.18	0.81	$\pm$ 0.18	5.41	$\pm$ 0.70
OF10	8.73	$\pm$ 0.04	0.65	$\pm$ 0.05	4.95	$\pm$ 1.37
OF13	8.36	$\pm$ 0.09	1.09	$\pm$ 0.24	8.54	$\pm$ 0.61
Control	8.56	$\pm$ 0.12	0.78	$\pm$ 0.07	2.49	$\pm$ 0.26
20-30 cm						
OF7	8.47	$\pm$ 0.41	1.04	$\pm$ 0.27	4.88	$\pm$ 0.66
OF10	8.68	$\pm$ 0.02	0.80	$\pm$ 0.16	5.00	$\pm$ 1.24
OF13	8.31	$\pm$ 0.06	1.19	$\pm$ 0.29	8.81	$\pm$ 1.13
Control	8.58	$\pm$ 0.12	0.95	$\pm$ 0.11	2.77	$\pm$ 0.42

Research from different regions has shown variable effects of manures on soil salinity. Generally, large amounts of manures containing high amounts of salts could lead to high soil salinity build up (Hao and Chang, 2003). In contrast, a study in semi-arid parts of Canada showed that long-term use of livestock manure did not increase salinity levels significantly under irrigated conditions, because of greater leaching of salts. However, it is important to note that a good salinity management plan must be followed to prevent further salt build up in organic production systems (Lithourgidis *et al.*, 2007).

The sodium adsorption ratio is commonly used as an indicator of soil sodicity and an SAR  $\geq 15$

classifies a soil as sodic. Similar to EC, the maximum SAR of 6.56, 8.54, and 8.81 was obtained for OF13. Although SAR for organic farms was slightly more than double of that found in the conventional farms, the maximum SAR of 8.81 was still below the threshold of soil sodicity. However, there is a need to monitor SAR content of the soil in all organic fields.

In order to check for the N available in the soil, a sample calculation was made for OF7 farm (Table 4). A mineralization rate of 40% was assumed for the year of application and the mineralization rate was assumed to reduce by half for the following year. The N content of applied manure was 1.13% and cotton N requirement was assumed to be 120 kg/ha.

**Table 4.** Sample calculation of soil N (leaching, immobilization and other losses are not taken into account in the following table)

Year	Applied Manure Kg/ha	Applied N Kg/ha	Year applied Kg/ha	N Mineralized				Total N Kg/ha	Residual N Kg/ha
				2002 Kg/ha	2004 Kg/ha	2005 Kg/ha	2006 Kg/ha		
2003	0	0	0	80*+40**				120	0
2004	50000	565	226	40				266	146
2005	50000	565	226	20	113			359	239
2006	50000	565	226	0	57	113		396	276
2007	0	0	0	0	28	57	113	198	78

\* from year 2002 and \*\*from year 2001

Table 4 shows that the decision of the grower to not apply manure in year 2003 and again in year 2007 was appropriate because there was a surplus of about 78 Kg/ha of N available in the soil. Similar calculations can also be made for other organic farms using the information in Table 1. It should be noted that nitrogen dynamics in the soil are very complex. The mineralization rate in the Table 4 was assumed to be 40% for the year manure was applied, and half of that for the subsequent year. These rates may not be correct because depending upon how the manure was stored, age of manure, air tem-

perature, moisture content, and other meteorological and soil variables, the mineralization rates could vary from 10 to 50% for first year and 5 to 15% for second year (Pettygove *et al.*, 2009). Soil N can be leached to deeper layers, get immobilized in the soil, and can be lost due to other chemical processes, therefore above calculations should be carefully interpreted because they do not take into account all the possible causes of N loss through the soil. Intense leaching could contribute to deep deposition of carbonaceous materials in the soil profile. Leaching of soil organic carbon (SOC) was reported by an earlier study on some of the organic farms of



southern New Mexico (Jacinthe *et al.*, 2011).

## CONCLUSIONS

The research shows that soil salinity levels are low in all organic farms. Soil sodicity is the highest in the farm under maximum amount of time under organic farming. Although SAR values are well below the threshold, there is a need to continuously monitor sodium content as well as SAR in the soil. It would be beneficial to have a soil salinity management plan for the irrigated organic farms as well as regular measurement of salinity and sodicity at deeper soil depths.

## ACKNOWLEDGEMENT

This research was supported by the Agriculture Experimental Station of New Mexico State University. The authors acknowledge the help and support of the organic grower Mr. Ramon Alvarez.

## REFERENCES CITED

Bullock, H.E. and R.E. Neher. (1980). "Soil survey of Dona Ana County area New Mexico. United States Department of Agriculture", *Soil Conservation Service*, pp. 177.

Gee, G. W., and J. W. Bauder. (1986). "Particle size analysis", pp. 383-412. En: A. Klute (ed.), *Methods of soil analysis*, Part 1, ASA, Monograph No. 9, Madison, WI.

Hao, X. and C. Chang. (2003). "Does long-term heavy cattle manure application increase salinity of a clay loam soil in semi-arid southern Alberta?". *Agric. Ecosys. & Environ.*, 94 (1), 89-103.

Ikemura Y. and M. K. Shukla. (2009). "Soil quality in organic and conventional farms for an arid ecosystem of New Mexico". *J. Organic Systems*, 4(1), 34-47.

Ikemura, Y., M.K. Shukla, M. Tahboub, and B. Leinauer. (2008). "Some physical and chemical properties of soil in organic and conventional farms for a semi-arid ecosystem of New Mexico".

*J. Sustain. Agric.*, 31(4), 149-170.

Jacinthe, P.-A., M.K. Shukla, and Y. Ikemura. (2011). "Carbon pools and soil biochemical properties in manure-based organic farming systems of semi-arid New Mexico". *Soil Use and Management*. doi: 10.1111/j.1475-2743.2011.00369.

Lithourgidis, A.S., T. Matsi, N. Barbayiannis, and C. A. Dordas. (2007). "Effect of liquid cattle manure on corn yield, composition, and soil properties". *Agron. J.*, 99, 1041-1047

Mendoza, G. O., M. K. Shukla, J. G. Mexal, D.M. VanLeeuwen, and Y. Ikemura. (2011). Assessment of properties of a Harkey soil under organic and conventional farming systems. *Comm. Plant Sci. Soil Analysis*, 18, 1791-1808.

Pettygrove, G.S., A.L. Heinrich, and D.M. Crohn. (2009). "Manure nitrogen mineralization". University of California Cooperative Extension, Manure Technical Bulletin Series, <http://manure-management.ucdavis.edu>. Accessed on March 28, 2013.

Shukla M.K., R. Lal and M. Ebinger. (2006). "Determining soil quality indicators by factor 33 analysis". *Soil Tillage Research*, 87 (2), 194-204.

Shukla M.K., R. Lal, L. B. Owens, and P. Unkefer. (2003). "Land use and management impacts on structure and infiltration characteristics of soils in the North Appalachian Region of Ohio". *36 Soil Sci.*, 168, 167-177. 37

Shukla, M.K., R.Lal, and M.Ebinger. (2004). "Soil quality indicators for the Northern Appalachian 38 experimental watersheds in Coshocton Ohio". *Soil Sci.*, 169 (3),195-205.

USDA-ERS. (2011a). At: <http://www.ers.usda.gov/Data/Organic/>. Accessed March 30, 2013.

USDA-ERS. (2011b). At: <http://www.ers.usda.gov/statefacts/NM.HTM>. Accessed March 30, 2013.

USDA-National Organic Program. (2011). NOP regulations at , Accessed March 30, 2013.



ARTÍCULO DE REVISIÓN

# Growth and Physiological Responses of Plants to Salt Stress

\*Niu, G.1, Osuna-Avila, P2, Sun, Y1

---

## ABSTRACT

Water shortage and poor water quality are global issues. With rapid population growth and the diminishing water supply in the border land, use of alternative water sources such as municipal recycled water and brackish ground well water for agriculture and landscape irrigation is inevitable. Soil salinization and poor water quality is already a critical issue in this semi-arid border region. Selecting salt tolerant plants is one of the approaches to cope with high soil salinity and poor quality of irrigation water. This paper summarizes the methodology of screening and evaluating salt tolerance of plants under controlled environment. Quantification of salinity, effects of environmental conditions, general response of plants to salinity, and mechanism of salt tolerance are also discussed.

Index words: Plants, salt tolerance, halophyte, sodium, chloride.

---

## INTRODUCTION

With the increasing population and industrial development, high quality fresh water supply in the border land is becoming a limited and an expensive resource. Agriculture, including ornamental industry, has to compete with industrial and domestic water uses. It is time to explore alternative water sources such as municipal recycled water and brackish groundwater for agricultural irrigation. The munic-

ipal recycled water (also called “reclaimed water”) is the only water source that increases with population growth. In the U.S. (Dobrowolski *et al.*, 2008; Morgan *et al.*, 2008) and other countries (Pasternak and Malach, 1994; Safi *et al.*, 2007; Tanwar, 2003), the municipal recycled water has already been used for irrigating urban landscapes and field crops where potable water supply is limited. The potential problem for using these alternative water

---

1 Texas A&M AgriLife Research and Extension Center at El Paso, Texas A&M University, 1380 A&M Circle, El Paso, TX 79927.

2 Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Plutarco Elías Calles # 1210, Fovissste Chamizal. Ciudad Juárez, Chihuahua 32310, México.

\* Corresponding author: gniu@ag.tamu.edu

sources is the high salt levels, which causes salt damage or even death on sensitive plants, if not managed properly.

Soil salinity is already a problem in the semi-arid border land because of limited rainfall and high evapotranspiration. Soil salinization would become even worse with the use of alternative water or low quality water for irrigation. One of the common solutions to overcome salinity problems is the introduction of salt tolerant plants. Salt tolerance of horticultural and agronomic plants varies largely with species and even cultivars within a species. Therefore, screening the salt tolerance of economically important crops is imperative. Such evaluations may facilitate improvement of salt tolerance of plants in breeding and bioengineering programs or prove the feasibility of irrigating with saline water for salt tolerant plants.

#### METHODS OF EVALUATING SALT TOLERANCE OF PLANTS

Compared to field trials, greenhouse studies for screening salt tolerance are less labor intensive, less costly, and the environmental conditions can be more easily controlled. Salt treatments in greenhouse studies were created by adding salts to irrigation water (tap water or nutrient solution) to mimic a composition of a target saline water source or saline soil. A large number of salinity studies have used NaCl as the sole salinizing agent (Cassaniti *et al.*, 2009; Eom *et al.*, 2007; Marosz, 2004; Fostad and Pedersen, 2000; Wahome, 2003; Wu *et al.*, 2001). However, composition of salts in water and salt-affected soils varies throughout the world (Carter and Grieve, 2006; Grattan and Grieve, 1999). Saline solutions with a single salt may result in misleading and erroneous interpretations about plant response to salinity (Carter and Grieve, 2006; Grattan and Grieve, 1999). In our studies, NaCl + CaCl<sub>2</sub> + MgSO<sub>4</sub> (87:8:5 by weight) have been added to tap water or nutrient solutions to mimic the major ion composition of local reclaimed waters. A wide range of salinity

levels, depending on the estimated salt tolerance of the species to be tested, are prepared to distinguish the differences in plant response to increasing salinity. Even when salinity levels of irrigation water are kept the same, the maintenance of constant root zone salinity levels is difficult, and equally challenging is its measurement because of the strong influence of soil moisture content (Marosz, 2004; Tanji, 2002). The concentration of dissolved salts does not change in direct proportion to changes in soil moisture content due to solubility, cation exchange and ion association issues.

Salinity is a dynamic property in the rootzone, due to evapo-concentration of the soil solution, water extraction, selective plant uptake from plant roots, and replenishment by irrigation or rainfall. Salt accumulation in substrates is also influenced by plant taxa and genotypes, substrate physical-chemical properties, plant water use, irrigation frequency, and drainage and/or leaching fraction (Bernstein *et al.*, 2006; Niu and Rodriguez, 2006a, b). To prevent salt accumulation, increasing leaching fraction and using porous, well drained substrates are effective approaches. However, high leaching fraction leads to low irrigation efficiencies (Niu *et al.*, 2007b).

#### GENERAL RESPONSES OF ORNAMENTAL PLANTS TO SALINITY

Salt tolerance of a plant is defined as the ability to withstand the effects of high salinity without significant adverse effects such as growth or yield reduction, or foliar salt damage (Grieve *et al.*, 2008). Salinity reduces the ability of plants to take up water, and this quickly causes reductions in growth rate, along with a suite of metabolic changes identical to those caused by water stress (Munns, 2002). The typical symptoms of initial salt injury are stunted growth and foliar damage including leaf necrosis, and marginal leaf burn (Bernstein *et al.*, 1972). As salt stress becomes severe, leaves are generally negatively impacted, resulting in fewer green leaves. Salt injury symptoms are more evident un-

der hot, dry and windy conditions than in a cool, humid environment (Fox *et al.*, 2005; Niu *et al.*, 2007a; Wu *et al.*, 2001). Salt tolerance of a plant varies largely with species or even cultivar within a species. The actual response of a plant to salinity is often affected by climatic conditions, type of substrate or soil, irrigation management, and plant growth stage. For each salinity level, it is possible to select a number of ornamental plants. Obviously, as salinity levels increase, the number of plants that can tolerate the salt stress becomes smaller.

Depending on species or genotype, growth can be quantified non-destructively by recording plant height and/or canopy size periodically. All parts of a plant, including leaves, stems, roots, and fruits may be reduced in size under saline conditions. Usually, growth reduction in shoots is greater than roots (Munns, 2002; Niu and Rodriguez, 2006a, b; Shannon *et al.*, 1994). For agricultural crop plants, salt tolerance is often assessed based on growth or yield reduction of specific plant parts such as seeds, roots, fruits, or leaves (Maas, 1990; Pasternak and De Malach, 1994). However, for ornamental plants, aesthetic value is more important than growth rate (Bernstein *et al.*, 1972). Therefore, visual quality, although it can be highly subjective, is an important parameter for assessing salt tolerance of ornamental plants (Devitt *et al.*, 2005; Fox *et al.*, 2005; Niu and Rodriguez, 2006a, b; Niu *et al.*, 2007a; Zollinger *et al.*, 2007). Dry matter accumulation and/or relative growth rate are commonly used to evaluate salt tolerance of plants, but this parameter is not available until plants are harvested destructively. The timing when significant differences in foliar damage symptoms appear is another parameter used for the assessment of plant salt tolerance. The earlier the salt injury is exhibited in a plant, the less is its tolerance to salinity.

#### PHYSIOLOGICAL RESPONSES OF ORNAMENTAL PLANTS TO SALINITY

High salinity induces a series of metabolic dysfunctions in plants, including absorption of exces-

sive minerals, nutrient imbalance, photosynthesis inhibition, enzymatic activity, protein and nucleic metabolism and respiration (Azza Mazher *et al.*, 2007; Munns and Tester, 2008; Niu and Rodriguez, 2006a, b; Niu *et al.*, 2008; Niu and Rodriguez, 2008). The extent of adverse impact of salinity on the above physiological processes depends on salinity levels and exposure period. To quantify the physiological responses to salinity, photosynthesis, leaf conductance, chlorophyll fluorescence, chlorophyll content, ion uptake and accumulation in tissues are typically measured (Eom *et al.*, 2007; Niu and Rodriguez, 2006a; Quist and Williams, 1999; Wu *et al.*, 2001; Zollinger *et al.*, 2007; Zribi *et al.*, 2009).

*Osmotic adjustment.* Osmotic adjustment occurs in plants subjected to salinity stress by accumulation of high concentrations of either inorganic ions or organic solutes (or both) (Ashraf, 2004). In our studies, we found that leaf osmotic potential of annual and perennial herbaceous and ornamental chile peppers generally decreases with increasing salinity of irrigation water (Niu and Rodriguez, 2006a, b; Niu *et al.*, 2010b). There were interactions between salinity and species on osmotic potentials of the tested species, indicating that the effect of salinity on osmotic adjustment varied with genotypes/species. For example, osmotic potentials of angelonia 'Purple', ornamental pepper 'Black Pearl' and 'Calico', helenium, vinca, and licorice plants decreased linearly as salinity of irrigation water increased (Niu *et al.*, 2010b). In angelonia 'Lavender Pink' and ornamental pepper 'Purple Flash', salinity treatment did not affect leaf osmotic potentials. In angelonia 'White' and plumbago, osmotic potential followed a quadratic fashion as salinity of irrigation water increased. Among the 10 ornamental peppers (Niu *et al.*, 2012a), leaf osmotic potential for most cultivars except 'NuMex Easter' and 'NuMex Halloween' decreased as salinity increased and the degree of reduction in leaf osmotic potential varied among cultivars. 'NuMex Cinco de Mayo' had the highest, while 'NuMex

Twilight' had the lowest osmotic potential.

*Ion uptake.* Plant adaptations to salinity are of three distinct types: osmotic stress tolerance, Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup> exclusion, and the tolerance of tissue to accumulated Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup> (Munns and Tester, 2008). Salt tolerant genotypes usually have the ability to restrict Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup> transport to shoots. Some tolerant genotypes can tolerate high internal Na<sup>+</sup> or Cl<sup>-</sup> concentrations. Ion uptake depends on species or genotype, salinity level, and the chemical composition of the soil solution (Grattan and Grieve, 1999; Niu and Rodriguez, 2008).

From our studies, we have found that most salt tolerant species have high ability to exclude Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup> accumulation in shoots. The sensitivity or tolerance to high internal Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup> levels varies among species. For example, in a field study with eight genotypes of chile peppers (Niu *et al.*, 2010a), the most sensitive 'Habanero' had the highest Na<sup>+</sup> accumulation, while it had the lowest Cl<sup>-</sup> uptake. The most tolerant variety NMCA 10652 had the lowest leaf Na<sup>+</sup> uptake and relatively low Cl<sup>-</sup> accumulation as well, indicating that NMCA 10652 is a Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> excluder. 'Early Jalapeno', which was the second tolerant to salinity based on survival, had both high leaf Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> concentrations, indicating that this cultivar had high tolerance to tissue Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> accumulation.

Niu and Rodriguez (2006a) studied differences in overall salt tolerance and Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup> tolerance among eight herbaceous species irrigated with saline solutions at four salinity levels. Four species died by the middle of the 12-week experiment. Among the surviving four species, the ion accumulation in shoots and roots differed. Both Na<sup>+</sup> and Cl<sup>-</sup> in shoots and roots generally increased with salinity of irrigation water in all species but were different among species. For example, *Gazania rigens* had the highest Na<sup>+</sup> concentration in shoots (39 mg·g<sup>-1</sup> DW) but *Delosperma cooperi* had the highest Na<sup>+</sup> concentration in roots (22 mg·g<sup>-1</sup> DW). Shoot Cl<sup>-</sup> was highest in *D. cooperi* and *G. rigens*, and even in the control plants. The Cl<sup>-</sup> concentra-

tion was 5 to 10 times higher in *D. cooperi* and *G. rigens* than the other two species in all treatments. Regardless of the high Na<sup>+</sup> or Cl<sup>-</sup> concentrations, no visual salt injury was observed in *G. rigens* and *D. cooperi*, indicating that these two species were tolerant to high internal Na<sup>+</sup> or Cl<sup>-</sup> concentrations. Compared to *G. rigens*, *D. cooperi* had a higher ability to exclude Na<sup>+</sup> from shoots, which is an important mechanism of salt tolerance.

Salt composition affects the response of ornamental plants to salinity. Growth and ion uptake of four rose rootstocks responded to salinity and dominant salt type differently (Niu and Rodriguez, 2008). *Rosa ×fortuniana* was the most tolerant rootstock when irrigated with a saline solution dominated by sulfate, followed by *R. 'Dr. Huey'*, *R. multiflora*, and *R. odorata* in descending order. However, *R. ×fortuniana* was the least tolerant rootstock when chloride was dominant in the saline solutions, *R. odorata* was the second least tolerant, and 'Dr. Huey' was the most tolerant. *Rosa ×fortuniana* and 'Dr. Huey' had a higher restriction ability of Na<sup>+</sup> accumulation than the other two rootstocks. Generally, all the four rose rootstocks had lower Na<sup>+</sup> accumulations in leaves than the above mentioned herbaceous species. In non-horticultural crops such as maize and sorghum, we found that maize genotypes accumulated Na<sup>+</sup> excessively in shoots, while sorghum had high ability to exclude Na<sup>+</sup> uptake from shoots (Niu *et al.*, 2012b).

*Leaf gas exchange.* The most dramatic and readily measurable whole plant response to salinity is a decrease in stomatal aperture (Munns and Tester, 2008). Rates of photosynthesis per unit leaf area in salt-treated plants are often unchanged, even though stomatal conductance is reduced (James *et al.*, 2002). Net photosynthetic rate of four rose rootstocks (*Rosa ×fortuniana*, *R. multiflora*, *R. odorata* and *R. hybrida* 'Dr. Huey'), which were irrigated with saline solutions up to 8.0 dS·m<sup>-1</sup>, were not affected, possibly because the healthy, young leaves were selected for measurement. The effect of salinity on photosynthesis and stomatal conduc-



- Fox, L.J., Grose, J.N., Appleton, B.L. and Donohue, S.J. (2005). "Evaluation of treated effluent as an irrigation source for landscape plants". *J. Env. Hort.*, 23,174-178.
- Grattan, S.R. and Grieve, C.M. (1999). "Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops". *Scientia Hort.*, 78,127-157.
- Grieve, C., Wu, L., Rollins, L. and Harivandi, A. (2008). "Tolerance by landscape plants of salinity and of specific ions (Chapter V)". In: *A comprehensive literature review on salt management guide for landscape irrigation with recycled water in coastal southern California*. www.salinitymanagement.org. p.320 .
- James, R.A, Rivelli, A.R., Munns, R. and Von Caemmerer, S. (2002). "Factors affecting CO<sub>2</sub> assimilation, leaf injury and growth in salt-stressed durum wheat. *Funct*". *Plant Biol.*, 29,1393–403.
- Maas, E.V. (1990). "Crop salt tolerance". In: K.K. Tanji (ed.). "Agricultural salinity assessment and management. Amer. Soc. of Civil Engineers, ASCE Manuals and reports on engineering practice No. 71". New York. 262-304
- Maggio, A., Reddy, M.P. and Joly, R.J. (2000). "Leaf gas exchange and solute accumulation in the halophyte *Salvadora persica* grown at moderate salinity". *Environmental and Experimental Botany*, 44,31-38.
- Marosz, A. (2004). "Effects of soil salinity on nutrient uptake, growth, and decorative value of four ground cover shrubs". *J. Plant Nutrition*, 27, 977-989.
- Meena, S.K, Gupta, N.K., Gupta, S., Khandelwal, S.K. and Sastry, E.V.D. (2003). "Effect of sodium chloride on the growth and gas exchange of young *Ziziphus* seedling rootstocks". *J. Hort. Sci. Biotech.*, 78,454-457.
- Morgan, K.T., Wheaton, T.A. Parsons, L.R. and Castle, W.S. (2008). "Effects of reclaimed municipal waste water on horticultural characteristics, fruit quality, and soil and leaf mineral concentration of citrus". *HortScience*, 43,459-464.
- Munns, R. (2002). "Comparative physiology of salt and water stress". *Plant Cell Env.*, 25, 239-250.
- Munns, R. and Tester, M. (2008). "Mechanisms of salinity tolerance". *Annu. Rev. Plant Bio.*, 59, 651-681.
- Niu, G. and Rodriguez, D.S. (2006a). "Relative salt tolerance of selected herbaceous perennials and groundcovers". *Scientia Hort.*, 110,352-358.
- Niu, G. and Rodriguez, D.S. (2006b). "Relative salt tolerance of five herbaceous perennials". *HortScience*, 41,1493-1497.
- Niu, G., Rodriguez, D.S. and Aguiniga, L. (2007a). "Growth and landscape performance of ten herbaceous species in response to saline water irrigation". *J. Env. Hort.*, 25,204–210.
- Niu, G., Rodriguez, D.S. and Wang, Y.T. (2007b). "Salinity and growing medium regulate growth, morphology and ion uptake of *Gaillardia aristata*". *J. Env. Hort.*, 25(2),89-94.
- Niu, G. and Rodriguez, D.S. (2008). "Responses of growth and ion uptake of four rose rootstocks to chloride- or sulfate-dominated salinity". *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 133(5), 663–669.
- Niu, G., Rodriguez, D.S. and Aguiniga, L. (2008). "Effect of saline water irrigation on growth and physiological responses of three rose rootstocks". *HortScience*, 43(5),1479–1484.
- Niu, G., Rodriguez, D.S. and Gu, M. (2010a). "Salinity tolerance of *Sophora secundiflora* and *Cercis canadensis* var. *Mexicana*". *HortScience*, 45(3),424-427.
- Niu, G., Rodriguez, D.S. and Starman, T. (2010b). "Response of bedding plants to saline water irrigation". *HortScience*, 45(4),628-636.
- Niu, G., Osuna, P., Sun, Y. and Rodriguez, D.S. (2012a). "Seedling emergence, growth, and mineral nutrition of ornamental chile peppers irrigated with saline water". *HortScience*, 47(11),1653–1657.
- Niu, G., Xu, W. Rodriguez, D. and Sun, Y. 2012b. "Growth and physiological responses of maize and sorghum genotypes to salt stress". ISRN Agronomy. Article ID 145072, doi:10.5402/2012/145072.
- Pasternak, D. and Malach, Y.D. (1994). "Crop

irrigation with saline water”. In: Pessarakli Mo (ed.), *Handbook of Plant and Crop Stress*. Marcel Dekker, New York. 599-622.

Pezeshki, S.R. and Chambers, J.L. (1986). “Effect of soil salinity on stomatal conductance and photosynthesis of green ash (*Fraxinus pennsylvanica*)”. *Can. J. For. Res.*, 16,569-573.

Quist, T.M. and Williams, C.F. (1999). “Irrigation water quality and ion balance in leaves of deciduous ornamental trees”. *J. Plant Nutri.*, 22(6),1011-1019.

Safi, M.I., Fardous, A., Muddaber, M., Ei-Zurairi, S., Balaweneh, A., Al-Hadidi, L. and Bashabshah, I. (2007). “Long term effects of reclaimed water on rose and carnation cut flower crops in soil and soilless media”. *Journal of Applied Sciences*, 7,1191-1198.

Shannon, M.C., Grieve, C.M. and Francois, L.E. (1994). “Whole-plant response to salinity. In: R.E. Wilkinson (ed.), *Plant Environment Interaction*”. Marcel Dekker, New York. 199-244.

Tanji, K.K. (2002). “Salinity in the soil environment”. In: A. Läuchli and U. Lüttge (eds.),

*Salinity: Environment-Plants–Molecules*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 21-51.

Tanwar, B.S. (2003). “Saline Water Management for Irrigation (3rd revised draft), Work Team on Use of Poor Quality Water for Irrigation (WT-PQW), International Commission on Irrigation and Drainage (ICID)”, New Delhi, India.

Tattini, M., Montagni, G. and Traversi, M.L. (2002). “Gas exchange, water relations and osmotic adjustment in *Phillyrea latifolia* grown at various salinity concentrations”. *Tree Physiology*, 2,403-412.

Wahome, P.K. (2003). “Mechanisms of salt (NaCl) stress tolerance in horticultural crops—a mini review”. *Acta Hort.*, 609,127-131.

Wu, L., Guo, X. and Harivandi, A. (2001). “Salt tolerance and salt accumulation of landscape plants irrigated by sprinkler and drip irrigation systems”. *J. Plant Nutr.*, 24,1473-1490.

Zollinger, N., Koenig, R., Cerny-Koenig, T. and Kjelgren, R. (2007). “Relative salinity tolerance of intermountain western United States native herbaceous perennials”. *HortScience*, 42,529-534.



tance depends on species and salinity level. For example, *Ziziphus nummularia* had greater reduction in photosynthesis and stomatal conductance than *Z. rotundifolia* (Meena *et al.*, 2003). For the salt sensitive green ash (*Fraxinus pennsylvanica*), both stomatal conductance and net photosynthesis decreased significantly when seedlings were subjected to salt stress ranging from seawater concentration to one-tenth the concentration of seawater (Pezeshki and Chambers, 1986). Conversely, for the halophyte *Salvadora persica*, net photosynthesis, stomatal conductance and transpiration rate were not reduced by salinity stress at 200 mM NaCl compared to the control without NaCl (Maggio *et al.*, 2000). Net photosynthesis, stomatal conductance and transpiration rates of *Phillyrea latifolia* grown at various salinity concentrations markedly decreased and the differences of these rates between the control and salinity treatments became larger over time (Tattini *et al.*, 2002). Summarizing the above, the effect of salinity on leaf gas exchange depends on many factors such as leaf age, the level of salinity, and duration of salinity stress exposure, in addition to species and genotype.

## CONCLUSION

In summary, salt tolerance of plants varies widely with species, environmental conditions, and soil or substrate property. Most plants are non-halophyte, with salt tolerance mechanisms of osmotic adjustment, restriction of Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup> accumulation in shoots, selective uptake of ions, and tolerance of high internal accumulated Na<sup>+</sup> and/or Cl<sup>-</sup>. When poor quality water is used for irrigation, salt accumulation in soil should be avoided by increasing leaching and improving drainage.

## BIBLIOGRAPHY

- Ashraf, M. (2004). "Some important physiological selection criteria for salt tolerance in plants". *Flora*, 199, 361-376.
- Azza Mazher, A.M., Fatma El-Questni, E.M. and Farahat, M.M. (2007). Responses of ornamental plants and woody trees to salinity. *World J. Ag. Sci.*, 3, 386-395.
- Bernstein, L., L.E. Francois and R.A. Clark. (1972). "Salt tolerance of ornamental shrubs and ground covers". *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 97,550-556.
- Bernstein, N., Asher, B.T., Haya, F., Pini, S., Ilona, R., Amram, C. and Marina, I. (2006). "Application of treated wastewater for cultivation of roses (*Rosa hybrida*) in soil-less culture". *Scientia Hort.*, 108,185-193.
- Carter, C.T. and Grieve, C.M. (2006). "Salt tolerance of floriculture crops". In: M.A. Khan and D.J. Weber (eds.). *Ecophysiology of high salinity tolerant plants*. Springer, Netherlands. 279-287
- Cassaniti, C., Leonardi, C. and Flowers, T.J. (2009). "The effects of sodium chloride on ornamental shrubs". *Scientia Hort.*, 122,586-593.
- Devitt, D.A., Morris, R.L. and Fenstermaker, L.K. (2005). "Foliar damage, spectral reflectance, and tissue ion concentrations of trees sprinkle irrigated with waters of similar salinity but different chemical composition". *HortScience*, 40,819-826.
- Dobrowolski, J., M. O'Neill, L. Duriancik, and J. Throwe (eds.). (2008). "Opportunities and challenges in agricultural water reuse: Final report". *USDA-CSREES*. pp.89.
- Eom, S.H., Setter, T.L., DiTommaso, A. and Weston, L.A. (2007). "Differential growth response to salt stress among selected ornamentals". *J. Plant Nutri.*, 30,1109-1126.
- Fostad, O. and Pedersen, P.A. (2000). "Container-grown tree seedling responses to sodium chloride applications in different substrates". *Environmental Pollution*, 109,203-210.



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

# Estudios de injertos en chiles y *Azospirillum brasilense* en tipo Cayene, Jalapeño y Chilaca en el noroeste de Chihuahua, México

\*Osuna-Ávila, P.<sup>1</sup>, Corral-Díaz, B.<sup>1</sup>, Flores-Margez, J.P.<sup>1</sup>, Olivas, E. E.<sup>1</sup> y Borrego-Ponce A.

---

## RESUMEN

En este estudio se determinó la influencia en la sincronización de los diámetros de tallos en injertos mediante la utilización de los tipos de chiles jalapeño, chilaca y cayene, como injertos, y el criollo de Morelos CM-334, como portainjerto. El grosor del tallo del CM 334 presentó mayor compatibilidad con el chile tipo jalapeño y con el tipo chilaca y fue muy distante con el grosor del tallo del tipo de chile cayene. La formación de callo abundante entre la unión de los injertos ensayados mostró buena aptitud y afinidad, lo cual permitió la conexión firme del cambium con el patrón. Los porcentajes de supervivencia de los injertos fueron de 90% con los chiles, lo cual está dentro del rango aceptable a nivel comercial. También, el efecto de *Azospirillum brasilense* como biofertilizante en tres tipos de chile fue estudiado como alternativa para evitar el uso excesivo de fertilizantes químicos mediante la inoculación con microorganismos promotores de crecimiento denominado “biofertilizantes”, entre los cuales destaca *Azospirillum*, que ha tomado auge en los cereales. Las semillas humedecidas fueron mezcladas con *A. brasilense*. A las cinco semanas después del trasplante, se observaron diferencias significativas solo para la variable altura de planta en los tratamientos que utilizaron la bacteria *A. brasilense*. Lo más sobresaliente fue un color verde intenso en la parte aérea, quizás como producto de la translocación de nitrógeno por parte de *Azospirillum*. El uso del CM 334 como portainjerto resistente a *P. capsici*, así como la utilización de *A. brasilense* podría formar parte del manejo integrado para controlar la marchitez en estos tipos de chiles comerciales.

Palabras clave: chiles comerciales, portainjerto, injerto, biofertilizante, promotores del crecimiento

---

<sup>1</sup> Universidad Autónoma De Ciudad Juárez, Plutarco Elías Calles # 1210, Fovissste Chamizal. Ciudad Juárez, Chihuahua 32310, México.  
\* Autor para correspondencia: posuna@uacj.mx

## INTRODUCCIÓN

Un método de propagación que consiste en unir una parte de una planta a otra que ya está asentada, se le denomina injerto. La planta injertada, es un individuo autónomo formado por dos plantas y/o variedades, que está constituida por un patrón o portainjerto que es la planta que recibe a la porción de tejido llamada injerto. El portainjerto, generalmente no tiene valor agronómico, pero genéticamente contiene genes de resistencia o tolerancia a estrés biótico (King *et al.*, 2010) o abiótico (Zhao *et al.*, 2011). La otra parte, es el injerto o variedad comercial que es una porción de tallo o yema que se fija al patrón para que se desarrollen ramas, hojas, flores y frutos (Hartmann *et al.*, 1997). Es decir, las raíces pertenecen a una especie o variedad y el tronco o las ramas pertenecen a otra.

En sus inicios, el propósito de la técnica de injerto en cultivos hortícolas era evadir las enfermedades causadas por patógenos del suelo (Louws *et al.*, 2010) y actualmente también se utiliza por evitar problemas de estrés abiótico. La utilización de este método, se ha incrementado en países como Japón y Corea (Lee *et al.*, 2010; Sakata *et al.*, 2007). Recientemente, cultivos como: sandía, melón, pepino, tomate entre otros, son comúnmente injertados con patrones resistentes a patógenos para su venta comercial (Sakata *et al.*, 2008). Además, Colla *et al.*, 2010a y Schwarz *et al.* (2010) afirman que la técnica del injerto provee ventajas para enfrentar el estrés abiótico, reducir las aplicaciones químicas o fertilizantes e incrementar la calidad de los frutos. Para el éxito de esta técnica, son importantes los tipos de injertos y el control de las condiciones ambientales. Dentro de ellos el injerto por aproximación es más recomendado ya que ambos conservan sus raíces a lo largo del proceso de cicatrización, sin embargo es una técnica laboriosa y costosa. Los injertos de empalme o de púa, son técnicas más rápidas donde el injerto se coloca directamente en el patrón sin conservar sus raíces pero exigen condiciones controladas de temperatura (27°C) y humedad relativa (80%) durante

el periodo de soldadura (Oda, 1995).

En países europeos, las especies hortícolas, que se han injertando son tomate, pimiento, berenjena, melón, sandía y pepino. Esto es debido a su alta demanda por los agricultores y a su buena aptitud y afinidad para el injerto, lo cual parece estar relacionado a la extensión del cambium. Estudios científicos han demostrado que el CM-334 es tolerante a patógenos del suelo y es utilizado como un modelo para hacer mejoramiento genético en plantas de chile (Santos y Goto, 2004; Fernández-Pavia y Liddel, 1998; García-Rodríguez *et al.*, 2010).

En México, García-Rodríguez *et al.* (2010), son los únicos en reportar un caso de injerto de chile del tipo ancho en Celaya. Ellos evaluaron *in vitro* la resistencia al patógeno del suelo *Phytophthora capsici* en el cultivar tipo serrano Criollo de Morelos 334 (CM 334) y de cuatro patrones comerciales. El CM 334 como patrón, obtuvo la más baja incidencia (1%) de la enfermedad, indicando que tiene potencial para producir chile aun en zonas con alta incidencia de *P. capsici*. Si esta técnica se utiliza con los tipos de chiles comerciales que se crecen en el estado de Chihuahua (Cayene, chilaca y jalapeño), las cuales son susceptibles a este patógeno, se podrían reducir de manera significativa las pérdidas cuantiosas que llega a causar hasta del 100% (Rico-Guerrero *et al.*, 2004; Guijón y González, 2001).

Los cultivos de chiles requieren de altas cantidades de fertilizantes, los cuales pueden ser de procedencia nacional o importados, lo cuales elevan los costos de producción. Una alternativa para evitar el uso excesivo de fertilizantes químicos es la inoculación con microorganismos promotores de crecimiento denominados también como “rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal”, “bioestimulantes”, “biofertilizantes” o “inoculantes”. Los más utilizados como bioestimulantes son las bacterias del género *Rhizobium* y *Azospirillum* (García-Olivares *et al.* 2007). La respuesta a inoculantes basados en *Azospirillum brasilense* ha sido exitosa pues ha permitido incrementos mayores a

30% en la producción de grano y materia seca de maíz frijol, trigo, garbanzo, pastos, cítricos y haba (García *et al.*, 2007). Sin embargo, no se han encontrado estudios que se hayan realizado en cultivos de chiles en el noroeste de Chihuahua.

El objetivo de este estudio fue determinar el porcentaje de la germinación de semillas de la propia cosecha y su influencia en la sincronización de los diámetros de tallos entre el injerto y el patrón. También se pretende contestar si *Azospirillum brasilense* podría influir como biofertilizante y contribuir como promotor de crecimiento en estos tres tipos de chile. Ambas técnicas, son trabajos preliminares para minimizar el ataque de patógenos del suelo en el cultivo de chile.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Experimento 1. Material vegetal para injertos*

Los tres tipos de chiles: jalapeño, chilaca y Cayene, fueron seleccionados en la región noroeste del estado de Chihuahua por ser susceptibles a *Phytophthora capsici*. El portainjerto utilizado fue el Criollo de Morelos (CM-334) considerado resistente a dicho patógeno. Las semillas de los tipos de chiles comerciales fueron seleccionados por los productores de la forma tradicional, la cual consiste en utilizar semilla de su propia cosecha, mientras que la del CM-334 fue donada por el Laboratorio de Patología Vegetal de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Las semillas fueron germinadas en cajas petri de 100 X 20 mm (marca Fisher), se colocaron 150 semillas de cada uno de los tipos de chiles comerciales y 300 semillas del CM-334 en papel secante humedecido con agua destilada. Se colocaron 50 semillas por caja petri y se incubaron en una cámara de crecimiento bajo condiciones de luz a 26 °C. Esta técnica se llevó a cabo para estandarizar el tamaño y número de plantas útiles para trasplantar en el invernadero. Se tomaron datos de porcentaje de germinación (acumulando el porcentaje de cada día) durante un periodo de 8 días y aparición de los cotiledones por cada tipo de chile.

### *Comparación de grosor de tallos del injerto y del portainjerto*

Los experimentos se realizaron en el invernadero de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua, México. Los tres tipos de chiles comerciales (Cayene, chilaca y jalapeño) y el portainjerto CM-334, se trasplantaron a raíz desnuda en vasos de unicel de 14 Oz conteniendo el sustrato Miracle-Grow® y se mantuvieron en invernadero a 28 °C. Cuando aparecieron las primeras 6-8 hojas (aprox. 45 días después de la germinación), se procedió a evaluar el grosor del tallo para iniciar la técnica del injerto. El grosor del tallo se midió con un vernier metálico justo arriba de los cotiledones en todas las plantas. Se realizó un análisis de varianza para determinar diferencias significativas para la variable grosor de tallos y una comparación de medias Tukey para el tipo de injerto por afinidad de grosor (SPSS versión 18). Las comparaciones fueron entre los que se consideraban patrones o injertos tanto comunes como recíprocos.

### *Técnica de injerto*

Se utilizaron 25 plantas de cada tipo de chile comercial, las cuales sirvieron tanto de patrón como de injerto y 75 plantas del CM 334. En los injertos comunes, se eliminó el brote del patrón CM-334, dejando solo los cotiledones que son la guía para hacer el corte para el tipo de injerto de empalme. Se realizó una disección diagonal de 45 grados en el patrón (Figura 1A, B) comenzando por arriba de los cotiledones hacia abajo, disectando de la misma manera en los tipos de chiles comerciales. En todos los casos, el tamaño del injerto fue de 4 a 5 cm de largo y se sujeto al patrón con una pinza de 4 mm en ambas partes (Figura 1A). Las plantas injertadas, se colocaron en un túnel de plástico con una temperatura de 28 °C y una humedad relativa de 80%, alcanzada con micro-aspersores colocados en la parte más alta del túnel a 1.70 m. Se mantuvieron las plantas hasta 15 días para su unión, después fueron adaptadas gradualmente a condiciones de invernadero. Una vez aclimatadas las plantas

injertadas, se transfirieron a una maceta de plástico (un galón de volumen) se regaron con agua suavizada y sin uso de formula fertilizadora. Diez días después, se evaluó el porcentaje de supervivencia de los injertos ensayados. Se realizó un ANOVA para verificar si existían diferencias entre el grosor de los injertos en el CM-334 como patrón y los tipos de chile comerciales como injerto.

*Experimento 2. Azospirillum brasilense como biofertilizante en chiles*

El trabajo experimental se realizo en el Invernadero del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de ciudad Juárez (UACJ). Se seleccionaron 100 semillas de cada tipo de chile y se colocaran dentro de un vaso de precipitado de 250 ml. Se les agrego agua y sobre una platina magnética se dejaron en agitación con ayuda de un imán durante 24 horas, esto, para acelerar el proceso de la germinación de las plantas. Transcurridas las 24 horas, se separaron las semillas de los tipos de chiles en cajas de petri, y de cada tipo de semillas de chile se mezclaron con *A. brasilense* hasta quedar cubiertas completamente con el polvo. Tres tipos de chiles inoculadas con *A. brasilense* y con su respectivo control por tipo de chile con un total de 6 tratamientos con 65 plantas por tratamiento. Se sembraron en charolas germinadoras y se trasplantaron después de 2 semanas de la germinación a vasos de unicel de 12 onzas con sustrato 3:1 (peat moss- miracle grow®). Para esta prueba de germinación se compararon las semillas inoculadas con

tra las no inoculadas usando la Chi-Cuadrada al 0.05 de probabilidad. Al momento del trasplante (de 2.5 a 5 cm de altura) se inicio a cuantificar la variable altura de plantas y se finalizó hasta la quinta semana. Se seleccionaron al azar 48 plantas por tratamiento y las variables a medir fueron altura de planta y numero de hojas. Se realizó una prueba t de student para la comparación de medias.

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

*Porcentaje de germinación de semillas de los tipos de chiles comerciales y del portainjerto*

El Cuadro 1 muestra los resultados obtenidos de la germinación de las semillas durante 8 días en los chiles comerciales y en el portainjerto CM 334. La variedad Cayene fue la que germinó de manera más temprana observándose un 4% al tercer día. El CM 334 mostró la mayor tasa de germinación al cuarto y quinto y al sexto día, esta se detuvo por completo quedando al final con un 76%. A partir del sexto día, el tipo Cayene fue el que tuvo mayor porcentaje de germinación y se mantuvo hasta el octavo día. El menor porcentaje se observó en el tipo chilaca con 64%. La aparición de los cotiledones se observó entre el quinto y sexto día.

La diferencia en la tasa de germinación entre las variedades comerciales y el portainjerto CM 334 podría producir una calidad desigual entre los materiales injertados, lo que influiría en el desarrollo asincrónico de las plantas injertadas (Acosta, 2005). Por lo que determinar la tasa de germinación de las semillas del portainjerto y del tipo de

**Cuadro 1.** Porcentaje de germinación por día y germinación promedio de semillas de los tipos chile en el año 2010

Tipos de chile	Días de germinación								% germinación	* Aparición de cotiledones
	1	2	3	4	5	6	7	8		
Jalapeño	0	0	0	6	20	24	56	70	70%	6
Chilaca	0	0	0	4	44	48	60	64	64%	6
Cayene	0	0	4	32	58	78	82	94	94%	5
CM 334	0	0	0	42	70	76	76	76	76%	6

\*Número de días después de la germinación



chile a utilizar como injerto, es de suma importancia ya que indica el número de semillas que se necesitarán si se quiere utilizar a nivel comercial. El tiempo que tardan las semillas en germinar es clave para coordinar labores básicas relacionadas a la técnica del injerto para uniformizar las características del diámetro, altura, número de hojas. Una falta de sincronización en la germinación de los tipos de chile con los del portainjerto, repercute en diferencias en el desarrollo de las plantas a injertar, lo que dificultará la realización del injerto por la variación en el diámetro del tallo. La falta de uniformidad en la germinación en cada tipo de chile podría deberse al uso de semilla no certificada comercialmente, ya que es tradición en algunos productores en la región, de seleccionar semillas al final de cada ciclo y usarlas en su próxima siembra. Esta actividad ocasiona el entrecruzamiento de las plantas a través el aire o por insectos que influye en la viabilidad de la semilla. Para mayor uniformidad en la germinación y crecimiento uniforme de las plántulas se recomienda hacer futuros estudios con semillas mejoradas certificadas.

El tiempo de aparición del cotiledón y la verticalidad del tallo durante la germinación es indicativo de la buena calidad y vigor de la planta. El chile tipo Cayene fue superior con el 85% de uniformidad en el tamaño y exposición de los cotiledones y la más baja se observó en el tipo Jalapeño. En el tipo chilaca, la biomasa de la raíz fue más abundante en crecimiento lo que obstaculizó la exposición de los cotiledones. Este fenómeno retrasa la producción de plántulas en las cajas Petri, ya que la energía se invierte más en el desarrollo de la raíz que en el crecimiento de la parte aérea. El retraso en la velocidad de crecimiento podría influir en la falta de la sincronía en la altura y el grosor del tallo. Una relativa uniformidad entre la biomasa de la parte aérea y la de la raíz, nos indica un incremento

de plantas útiles y la alta sobrevivencia al trasplante con más oportunidad de sincronía entre el patrón y el injerto. Otro aspecto importante que se estudió fue la supervivencia al trasplante a raíz desnuda a tan temprana edad. En esta etapa, las plántulas crecidas en cajas Petri por 8 días respondieron en forma diferente al estrés del trasplante en condiciones de invernadero. Sin embargo el tamaño y el desarrollo normal de la parte aérea y de las raíces son críticos en su supervivencia. En este estudio las plántulas de 3 cm de altura y una raíz principal desnuda de 3-4 cm de longitud mostraron un cambio brusco, ya que la temperatura fue de 29 °C y la humedad relativa de 15% por lo que hasta después de 10 días se observaron los primeros indicios de crecimiento y se evaluó el porcentaje de supervivencia. El tipo Cayene fue superior con un 94% de supervivencia seguido del tipo jalapeño con 91% el tipo Chilaca y el CM334 que obtuvieron un 88 y 89%, respectivamente. Por lo que puede considerarse que la supervivencia en general fue buena.

#### *Desarrollo de plantas después del trasplante y sincronización de los tallos para los injertos*

También se detectó un desarrollo diferente en cada una de los chiles. En el cuadro 2 se observa que el desarrollo del tallo después de los 37 días del trasplante, en los chiles tipo Jalapeño y Chilaca, fue uniforme, ya que presentaron el mismo grosor, alcanzando las plantas una altura aproximada de 15 cm, con 6 a 8 hojas y sin ramificaciones, mientras en el tipo Cayene, el desarrollo fue más rápido, alcanzando hasta 20 cm de altura. En el caso del portainjerto CM 334, este alcanzó la mayor altura (25 cm) y mayor número de hojas y tres ramificaciones. En el Cuadro 2 se muestran los diámetros promedio de los tallos de las plántulas del chile tipo Cayene, al momento del injerto.

**Cuadro 2.** Promedios grosor de los tallos de 25 plantas usadas en injertos de chiles Cayene, jalapeño, chilaca y Criollo Morelos 334 a los 37 días después del trasplante.

Patrón/injerto	Número de plantas	Grosor de tallo (mm)*
CM-334	25	2.89 ± 0.32 b
Cayene	25	3.32 ± 0.35 a
CM-334	25	2.58 ± 0.25 a
Jalapeño	25	2.82 ± 0.21 a
CM-334	25	2.13 ± 0.23 a
Chilaca	25	2.08 ± 0.29 a

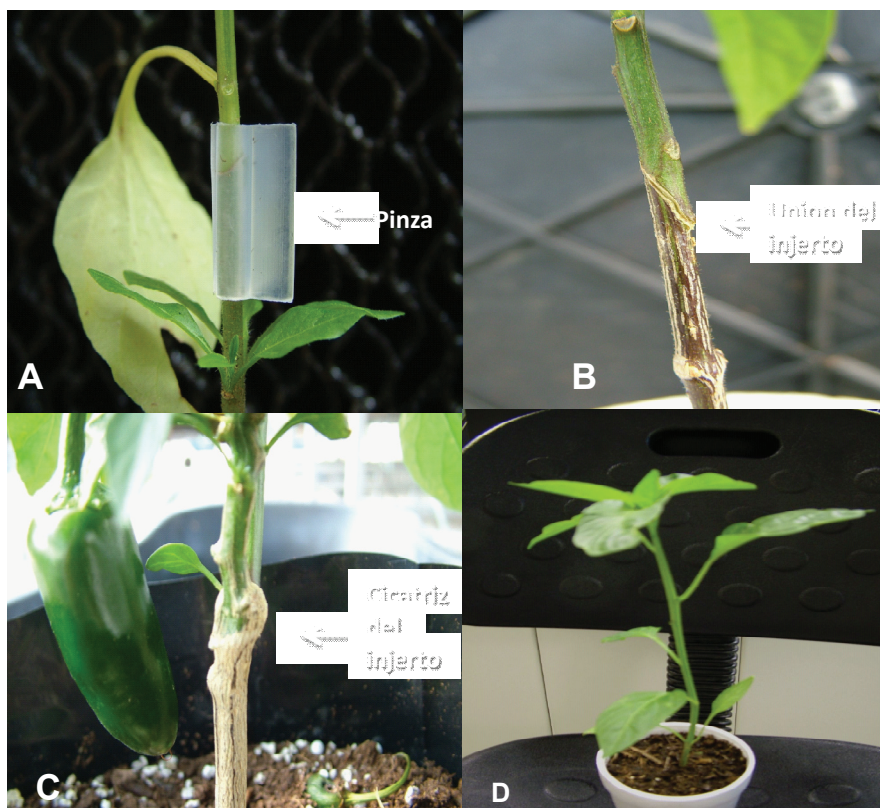
\***Media y desviación estándar.** Medias con la misma letra en las comparaciones entre tipos de chiles, no hay diferencias significativas al  $p = \leq 0.05$  de acuerdo a la prueba de Tukey.

Respecto a los injertos comunes, el grosor de los tallos mostró que existen diferencias altamente significativas con una  $P \leq 0.05$ , de igual manera, para los injertos recíprocos, el ANOVA reflejó diferencias altamente significativas ( $P \leq 0.05$ ) para la variable grosor de tallos. Al comparar los promedios de grosor de los tallos entre Cayene y CM334, se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $P \leq 0.05$ ). En el Cuadro 2 se observa que el mayor grosor fue para el injerto con 3.32 mm y el Cayene como injerto supero al patrón CM 334 que alcanzo 2.89 mm. Con los injertos entre CM334 como patrón y jalapeño como injerto, no hubo ninguna diferencia estadística significativa ( $P \leq 0.05$ ). Estos resultados muestran que el chile tipo jalapeño y el tipo chilaca tienen similitud en cuanto al grosor de tallos con el patrón CM334. En contraste el chile tipo Cayene, mostró una alta desproporción en el grosor de tallos. Por lo que la realización del injerto en el tipo de chile Cayene presenta mayor dificultad e inversión de tiempo. Shirai y Hagimori (2004) afirmaron que la diferencia en diámetro entre el patrón e injerto causo la más baja tasa de supervivencia durante la aclimatación en plantas injertadas de pimiento. El injerto sufre defoliación causado por la deficiencia de translocación de agua entre los tallos.

### Desarrollo de los injertos

La Figura 1 A, B, C, muestra los injertos comunes del tipo de chile jalapeño comercial en el patrón CM 334. Al realizar el corte en ambos tallos, se observó la liberación de savia al momento de la disección de los tallos tanto del patrón como del injerto la cual fue liberada inmediatamente después del corte. Este primer fenómeno de respuesta fue crucial en la unión de los tejidos para mantener turgentes y funcionales las células afectadas (Acosta, 2005). De esta manera los haces vasculares se reconectarían para conservar la translocación de las sustancias en ambos individuos. De acuerdo con Jin *et al.* (2006) y Lee *et al.* (2010) las condiciones ambientales, especialmente la humedad relativa entre 90 y 100% es un factor importante en evitar la pérdida de agua por evapotranspiración. De esta manera, la pérdida de agua por el injerto fue minimizada permitiéndoles a las hojas conservar la humedad durante los 15 días dentro del túnel, tal como lo muestra la Figura A. La humedad ambiental permitió la mínima apertura de las estomas en las hojas del injerto, lo que evitó la desecación de la savia en la unión de ambos tallos, lográndose así el contacto entre sus células. Otro punto crucial en la unión de los injertos es la aproximación de los grosores de los tallos, ya que si estos no son uniformes la unión del injerto se dificulta (Figura 1 A, B, C). Este contacto fue auxiliado por el clip de plástico de 4 mm que sujetaba a ambos tallos para mantenerse erectos hasta la cicatrización de los tejidos (Figura 1 A). Una semana después se observó la formación de callosidad que es producto de la división celular para evitar la pérdida de savia que trae como consecuencia el proceso de la cicatrización. La formación de callo, nos indica que se produjeron células parenquimatosas que se entremezclan formando tejido que se diferencia en nuevas células de cambium que producirán nuevo tejido vascular que se traduce en el éxito del injerto (Figura 1B). En contraste, en estudios realizados en Japón, el fracaso del injerto pimiento se debió a la





**Figura 1.** Injerto en tipos de chiles. A) El injerto directo del tipo de chile jalapeño en el patrón CM 334 sujetado con pinza de plástico de 4 mm, B) Apariencia de diámetro iguales entre el injerto directo tipo jalapeño y el portainjerto CM-334. La flecha indica la unión del tejido del cambium en el punto de unión entre injerto directo del tipo jalapeño con el portainjerto CM 334. Una leve formación de callo es observado entre la unión del injerto, C) La flecha indica la cicatrización casi invisible y la unión completa del cambium entre el injerto directo del tipo jalapeño con el patrón CM 334. D). Las plantas inoculadas con *Azospirillum brasilense*, con un color verde intenso característico de la biofertilización nitrogenada.

baja tasa de formación de callos comparado con el injerto exitoso relacionado a la alta formación de callo en tomate y berenjena (Johkan *et al.*, 2008). Sin embargo, Johkan *et al.* (2008) encontraron que la baja tasa de supervivencia en plantas de chiles injertadas de pimiento de un 44%, se le atribuyó a la pobre diferenciación y conexión vascular causado por su baja tasa de formación de callo. Acosta (2005) afirma que para que la unión del injerto sea exitosa, se necesitan ciertas condiciones ambientales que favorezcan la formación del callo. Por ejemplo, son esenciales una temperatura de 25 a 27°C, una humedad relativa de 80 a 100%, un ambiente rico en oxígeno y finalmente que el patrón muestre actividad de crecimiento, ya que este inicia la formación del callo al dispararse la producción de

fitohormonas. El éxito del injerto fue expresado en un 90% de supervivencia en todos los chiles donde la mortandad (10%) no fue por falta de compatibilidad entre el patrón y el injerto, sino más bien se le atribuyó al exceso de humedad acumulada en las macetas. La falta de atomización del sistema de la red de emisión de agua que controlaba la humedad relativa en el túnel provocó la acumulación de agua libre tanto en las macetas como en las charolas lo que causó la muerte de las plantas por falta de oxigenación en la raíz, sin embargo, se encuentra dentro de los rangos mundiales.

Por ejemplo, en España el prendimiento promedio es del 90% con el injerto de aproximación y entre el 60 y 70% con la técnica de púa (Rojas y Rivero, 2002). Rojas y Rivero (2001). Los resultados

de supervivencia son muy variados dependiendo del genotipo, la técnica y la habilidad del injertador. Rojas y Rivero (2001) observaron un porcentaje de supervivencia de dos variedades de melón (*Cucumis melo* var. *reticulatus* y var. *inodorus*) injertados por diferentes técnicas como la aproximación, empalme y de púa de 82.5, 70 y 32.5% respectivamente. Lee (1994) y Acosta (2005) reportan que el éxito del injerto está influenciado por la alta afinidad y compatibilidad entre las especies injertadas. Es decir, la savia debe ser análoga en cuanto a cantidad y constitución y también que los haces conductores de las dos plantas que se unen tengan aproximadamente igual número de células y tengan diámetros semejantes de tallos coincidiendo esto último con lo observado en el presente estudio. Para estudios futuros, el CM334 como un portainjerto resistente a *P. capsici* podría ser parte del programa de manejo integrado para controlar este patógeno del suelo en estos tipos de chiles comerciales. El sistema de injerto puede contribuir a reemplazar el uso del bromuro de metilo que es usado para controlar enfermedades del suelo y que es altamente tóxico para la microbiota (Anaya-López *et al.*, 2011) y con esta técnica, se ofrece una solución amigable con el medio ambiente.

### **Efecto de *Azospirillum brasilense* en la altura de planta y número de hojas**

La prueba de promedios mostro diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre los tratamientos con o sin *Azospirillum* en los tres tipos de chiles. Las diferencias en altura de las plantas inoculadas con *A. brasilenses* comparada con las plantas control, fue notoria en los tres tipos de chiles, desde la primera semana de observación y continuo con la misma tendencia proporcional hasta la semana cinco de estudio. Por ejemplo, el más sobresaliente en altura de planta fue el tipo Cayene con *Azospirillum* con media de 13.78 cm comparado con el control con media de 6.65 cm. El tipo Cayene despegó primero desde su germinación, lo cual es atribuido quizás por su genética. Este tipo de chile mostró una ma-

yor velocidad de crecimiento seguido del tipo chilaca y por último el tipo jalapeño.

Sin embargo, la expresión genética del patrón de crecimiento fue estimulada en cada tipo de chile por la presencia de *Azospirillum* en la rizósfera. Con respecto a la variable de número de hojas, también se observó un efecto positivo de *Azospirillum brasilense*, en los tres tipos de chiles evaluados. Aunque no hubo diferencias significativas, el tipo chilaca inoculado fue mínimamente superior seguido de Cayene y Jalapeño. Se asume que la bacteria colonizo satisfactoriamente la rizósfera y beneficio a los tres tipos de chile, especialmente en el incremento de su altura, su biomasa foliar y lo más característico de la asociación raíz-*Azospirillum*, fue el color verde intenso de la área foliar como producto de la bio-fertilización nitrogenada.

Inicialmente los reportes sobre la asociación de *Azospirillum* se restringían solamente a las gramíneas, que poseen la ruta fotosintética C4; sin embargo existen reportes de asociaciones de este tipo de microorganismos con las raíces de plantas dicotiledóneas (Rao y Venkateswarlu, 1982). Varias especies de microorganismos han sido utilizadas para incrementar la producción de algunos cultivos, ya sea por su participación en el control biológico de hongos y bacterias fitopatógenos o por su capacidad para la fijación del nitrógeno atmosférico (Zhang *et al.*, 1996). Se ha demostrado que los cultivos puros de *Azospirillum* sp. producen auxinas, citoquininas y sustancias similares a giberilinas, hormonas que participan en el desarrollo vegetal (Kapulnik *et al.*, 1985). De esta manera los tipos de chiles Jalapeño, Cayene y Chilaca incrementan la lista de dicotiledóneas donde *Azospirillum brasilense* quizás fijo nitrógeno atmosférico al observarse un color verde brillante.

### **CONCLUSIONES**

La alternativa de siembra en cajas Petri en condiciones de laboratorio ayuda a que sea más eficiente el uso de semilla, ya que acelera la germinación, así se seleccionan las plántulas más vigorosas y

con tamaño uniforme con el propósito de aumentar la sincronización en el grosor de tallos para los tres tipos de chiles como injertos con el portainjerto. El grosor del tallo del criollo Morelos (CM 334) fue más compatible con los chiles tipo jalapeño y Chilaca y fue muy distante con el grosor del tallo del tipo de chile Cayene. La unión del injerto común y recíproco fue un éxito. La formación de callo abundante entre la unión de los injertos ensayados mostró buena aptitud y afinidad para estar relacionada a la conexión firme del cambium con el patrón. Las plantas inoculadas con *Azospirillum brasilense*, mostraron un color verde intenso característico de la bio-fertilización nitrogenada. Esto podría indicar de la habilidad de colonizar la rizósfera de los tres tipos de chile ensayados el cual fue reflejado también en su altura de planta y en el incremento de su biomasa.

## BIBLIOGRAFÍA

- Acosta A. (2005). “La técnica del injerto en plantas hortícolas. Viveros extra”. *Horticultura Internacional*. Barcelona, España . Pp. 62-65.
- Anaya-López, J.L., González-Chavira, M.M., Villordo –Pineda, E. Rodríguez-Guerra, R., Rodríguez-Martínez, R., Guevara-González, R.G., Guevara-Olvera, L., Montero-Tavera, V. y Torres-Pacheco, I. (2011). “Selección de genotipos de chiles resistentes al complejo patogénico de la marchitez”. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 2(3), 373-383.
- Colla, G.; Rouphael, Y., Cardarelli, M., Salerno, A. and Rea, E. (2010a). “The effectiveness of grafting to improve alkalinity tolerance in watermelon”. *Environ. Exp. Bot.* 68, 283-291.
- Colla, G., Suarez, C.M.C, Cardarelli, M. and Rouphael, Y. (2010b). “Improving nitrogen use efficiency in melon by grafting”. *HortScience*, 45, 559-565.
- Fernández-Pavia, S.P. and Liddel, C.M. (1998). “Lack of evidence for translocation of resistance factors between roots and foliage of *Capsicum annuum* infected by *Phytophthora capsici*. *Capsicum* and *Eggplant*”. *Newsletter*, 17, 66-68.
- García, J., Moreno, V. Rodríguez, I., Mendoza, Y. y Mayek, N. (2007). “Efecto de cepas de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento de grano del maíz”. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30 (003), 305-310.
- García-Rodríguez, M.A., Chiquito-Almanza, E., Loeza-Lara, P.D., Godoy-Hernández, H., Villordo-Pineda, E., Pons-Hernández, J.L., González-Chavira, M.M. y Anaya-López, J.L. (2010). “Producción de chile ancho injertado sobre criollo de Morelos 334 para el control de *Phytophthora capsici*”. *Agrociencia*, 44, 701-709.
- Guigón, C. y González, P.A. (2001). “Estudio Regional de la enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento Temporal en el Sur de Chihuahua, México”. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19 (1), 49 –56.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T. and Geneve, R.L. (1997). *Plant propagation*. Ed. Prentice Hall, USA. 873 p.
- Jin, S., Liang, S., Zhang, X, Nie, Y. and Guo, X. (2006). “An efficient grafting system for transgenic plant recovery in cotton (*Gossypium hirsutum* L.)”. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 85, 181-185.
- Johkan, M., Oda, M. and Mori, G. (2008). “Ascorbic acid promotes graft-take in sweet pepper plants (*Capsicum annuum* L.)”. *Scientia Horticulturae*, 116, 343-347.
- Kapulnik, Y., Felman, M., Okon, Y. and Henis, Y. (1985). “Contribution of nitrogen fixed by *Azospirillum* to the N nutrition of spring wheat in Israel”. *Soil Biology and Biochemistry*, 17, 509-515.
- King, S.R., Davis, A.R., Zhang, X. and Crosby, K. (2010). “Genetics, breeding and selection of rootstock for solanaceae and cucurbitaceae”. *Sci. Hortic.*, 127: 106-111.
- Lee, J. (1994). “Cultivation of grafted vegetables I. Current status, grafting methods and benefits”. *HortScience*, 29, 235-239.

- Lee, J. M., Kubota, C., Tsao, S.J., Bie, Z., Hoyos-Echeverria, P., Morra, L., and Oda, M. (2010). "Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation". *Scientia Horticulturae*, 127, 93-105.
- Louws, F.J.; Rivard, C.L. and Kubota, C. (2010). "Grafting fruiting vegetables to manage soilborne pathogens, foliar pathogens, arthropods and weeds". *Scientia Horticulturae*, 127, 127-146.
- Oda, M. (1995). "New grafting methods for fruit bearing vegetables in Japan". *Japan Agricultural Research Quarterly*, 29, 187-194
- Rao, A. V. and Venkateswarlu, B. (1982). "Associative symbiosis of *Azospirillum lipoferum* with dicotyledonous succulent plants of the Indian desert". *Canadian Journal of Microbiology*, 28, 778-782.
- Rico-Guerrero, L., Medina-Ramos, S., Muñoz-Sánchez, C.I., Guevara-Olvera, L., Guevara-González, R.G., Guerrero-Aguilar, B.Z., Torres-Pacheco, I. y Rodríguez-Guerra, R. (2004). "Detección de *Phytophthora capsici* Leonian en plantas de Chile (*Capsicum annuum* L.) mediante PCR". *Revista Mexicana de Fitopatología*, 22, 1-6.
- Rojas, P.L. y Riveros, B. F. (2001). "Efecto del método y edad de las plántulas sobre el prendimiento y desarrollo de injertos y melón (*Cucumis melo*)". *Agricultura Técnica de Chile*, 61(3), 262-274.
- Rojas, P.L. y Riveros, B. F. (2002). "Prendimiento de injertos en hotalizas". *Terra Adentro*, 45, 30-31
- Sakata, Y.; Ohara, T. and Sugiyama, M. (2008). "The history of melon and cucumber grafting in Japan". *Acta Horticult.*, 767, 217-228.
- Sakata, Y.; Ohara, T. and Sugiyama, M. (2007). "The history and present state of the grafting of cucurbitaceous vegetable in Japan". *Acta Horticult.*, 731, 159-170.
- Santos, H.A. and Goto, R. (2004). "Enxertia em plantas de pimentao no controle da murcha de fitoftora en ambiente protegido". *Horr.Bras.*, 22, 45-49.
- Schwarz, D., Rouphael, Y., Colla, G. and Venema, J.H. (2010). "Grafting as a tool to improve tolerance of vegetables to abiotic stresses: Thermal stress, water stress and organic pollutants". *Scientia Horticulturae*, 127, 162-171.
- Shirai, T. and Hagimori, M. (2004). "Studies in establishment of transplant production methods of sweet pepper (*Capsicum annuum* L) by grafting shoots harvested from mother plants: effects of healing conditions of graft on the rate and quality of successful union". *J. Jpn. Soc. Hort. Sci.*, 73, 380-385.
- Zhang, F. D., Narges, R. Hynes, K. and Smith, D.L. (1996). "Plant growth promoting rhizobacteria and soybean (*Glycine max* L. Merr) nodulation and nitrogen fixation at suboptimal root zone temperatures". *Annals of Botany*, 77, 453-459.
- Zhao, X; Guo, Y.; Huber, D.J. and Lee, J. (2011). "Grafting effects on postharvest ripening and quality of 1-methylcyclopropene-treated muskmelon fruit". *Scientia Horticulturae*, 130, 581-587.



ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

# Disponibilidad de nitrógeno y fósforo en suelos tratados con estiércol y agua residual en el cultivo de rábano

\*Juan Pedro Flores-Margez<sup>1</sup>, Mónica J. García-Rodríguez<sup>1</sup>, Evangelina Olivas-Enriquez<sup>1</sup>, Pedro Osuna-Ávila<sup>1</sup>, Baltazar Corral-Díaz<sup>1</sup> y Enrique Salazar-Sosa<sup>2</sup>

## RESUMEN

El crecimiento en la producción de estiércol bovino y el volumen de aguas residuales en México, muestran que es necesario generar información para el manejo adecuado de estos recursos, ya que pueden impactar tanto en forma positiva como negativa en la producción agrícola y en los recursos naturales. El objetivo del estudio fue evaluar la respuesta del cultivo de rábano a diferentes sustratos y tipos de agua de riego. El experimento se estableció en el invernadero del Instituto de Ciencias Biomédicas de la UACJ, el cual consistió en los sustratos: suelo agrícola, suelo con estiércol sin solarizar y suelo con estiércol solarizado, que fueron regados con agua de la llave y agua residual. El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial y cuatro repeticiones. El rango de N inorgánico del suelo fue entre 53 y 75 mg/kg, lo cual fue alto y suficiente para abastecer la demanda fisiológica de la planta de rábano. En el caso de rendimiento de fruto, hoja y biomasa, no se detectó efecto significativo entre los factores estudiados. La concentración de N fue mayor para el tratamiento de suelo tratado con estiércol y agua de la llave, el cual superó al testigo con 40 mg/kg, es decir, esta fue la cantidad de N mineralizado del estiércol. La concentración de P inorgánico aumentó 64 mg/kg con la aplicación de estiércol y de solo 31 mg/kg con la aplicación del agua negra, mientras que la aportación de fósforo conjunta debida al agua negra y al estiércol fue de 51 mg/kg. La concentración de sales solubles en el suelo aumentó en promedio 4,772  $\mu\text{S}/\text{cm}$  debido a la aplicación del estiércol, mientras que el cambio debido al agua negra se incrementó en 1,614  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

Palabras clave: Estiércol, nitrógeno, fósforo, agua residual, rábano.

1 Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ciencias Biomédicas, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Circuito Pronaf y Estocolmo, s/n. Tel. (656) 688 1800 ext. 1786

\* Autor para correspondencia: jufloros@uacj.mx.

2 Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Agricultura y Zootecnia, Ap. Postal I-142, Gómez Palacio, Dgo., México.

## INTRODUCCIÓN

Dos factores que influyen significativamente en la calidad de los suelos y producción de alimentos son el agua residual y el estiércol de bovino, los cuales han aumentado su importancia a nivel mundial. Por ejemplo, el volumen de aguas residuales en la República Mexicana provenientes de 2 132 plantas de tratamiento es de 93.6 m<sup>3</sup>/s (CNA, 2010), de los cuales 3 m<sup>3</sup>/s se generan en Ciudad Juárez, Chihuahua que corresponden a 91 millones m<sup>3</sup> anualmente (Flores *et al.*, 2013). El agua residual tiene impacto tanto positivo, debido a la aportación de nutrientes y materia orgánica al suelo, como negativo, al aportar patógenos como *Cryptosporidium* y *Giardia* y compuestos químicos con potencial efecto en la salud ambiental (Olivas *et al.*, 2013; Di Giovanni *et al.*, 2006).

La producción de abonos orgánicos en México se ha incrementado como resultado del crecimiento de la ganadería, ya que la estimación de estiércol de ganado bovino de leche y carne es de 3.8 millones de toneladas por año, con base en 34 kg de estiércol por día (Salazar *et al.*, 2003) y una población de 30 millones de vientres (SAGARPA, 2007). Por ejemplo, una de las cuencas lecheras más grandes de México es la Región Lagunera, donde se generan 49 mil toneladas de estiércol seco mensuales derivadas de 500 mil cabezas de bovino lechero (Salazar *et al.*, 2007). La utilización de estiércol bovino es una práctica común en los sistemas de producción agrícola que tienen la posibilidad de disponer de estos, sin embargo, los agricultores carecen de información adecuada para su aplicación óptima, es decir, la problemática se enfoca a que los estiércoles siguen aplicándose “al tanteo” (Flores *et al.*, 2008), lo cual también tiene impacto en su utilización en el cultivo de hortalizas, sobre todo en chile, que es susceptible a enfermedades de la raíz.

La solarización del estiércol bovino representa una estrategia para el uso de este abono en la producción de hortalizas (Vásquez *et al.*, 2011). Estos autores encontraron que la aplicación de 40 t/ha de estiércol solarizado promovió el mayor rendi-

miento de chile jalapeño, mientras que al aplicar 80 t/ha se aumentó significativamente el contenido de materia orgánica y nitratos del suelo, así también elevó la conductividad eléctrica del suelo. Una ventaja de la solarización del estiércol es reducir su efecto patogénico. Además, la aplicación apropiada de estiércol en suelos agrícolas aumenta como medio de disposición, reciclaje de nutrientes y conservación del agua. Los estiércoles son materiales muy distintos química y físicamente, tienen en común que su utilización apropiada como fertilizantes orgánicos y mejoradores de suelos, pero depende del porcentaje de descomposición de sus estructuras orgánicas (Flores, 2007; Flores *et al.*, 2002; Jarvis *et al.*, 1996). Entonces, la tasa de mineralización del nitrógeno y fósforo orgánicos es la clave para el cálculo de dosis apropiadas sin afectar el ambiente (Stanford y Smith, 1972).



Una subestimación de la dosis de estiércol puede ocasionar deficiencia de nutrientes por el cultivo y una reducción en rendimiento y calidad del producto. Por el contrario, una sobreestimación de la dosis conduce a exceso de nutrientes, toxicidad al cultivo y contaminación del suelo y agua (Flores, 2007). En vista de que la mayoría del nitrógeno (N) y fósforo (P) en los residuos orgánicos está en forma orgánica, se considera necesario la realización de trabajos de investigación para determinar la tasa de mineralización y predecir la disponibilidad de nutrientes, particularmente N y P para un uso adecuado y eficiente en la producción agropecuaria.

Por tal razón, se requiere información de campo para predecir la cantidad de N mineralizado en función del tipo de residuo, tipo de agua y tipo de suelo. El rábano (*Raphanus sativus*) es una planta perteneciente a la familia de las *Cruciferae*, es una hortaliza utilizada para la alimentación, ya que tanto sus hojas como la raíz pueden ser consumidas. Esta hortaliza tiene grandes propiedades nutritivas, ya que por su alto contenido en agua, hidratos de carbono y fibra, es recomendada por los nutricionistas para las dietas reguladoras de calorías. Además, contiene altas concentraciones de vitaminas, especialmente la C, así como folatos, los cuales tienen actividad antioxidante. Es la hortaliza más utilizada en los experimentos porque es de crecimiento rápido, de aproximadamente dos meses, y por ello su calidad, tamaño, textura y firmeza, presentan una demanda mayor de macronutrientes en un tiempo corto (Arellano, 2009). El estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de tres diferentes tipos de sustratos: suelo, estiércol sin solarizar y estiércol solarizado, así como dos tipos de agua: de la llave y agua residual, para determinar el impacto de los sustratos y tipo de agua en la disponibilidad de N y P del suelo, así como en la respuesta del cultivo de rábano.

## MATERIALES Y MÉTODOS

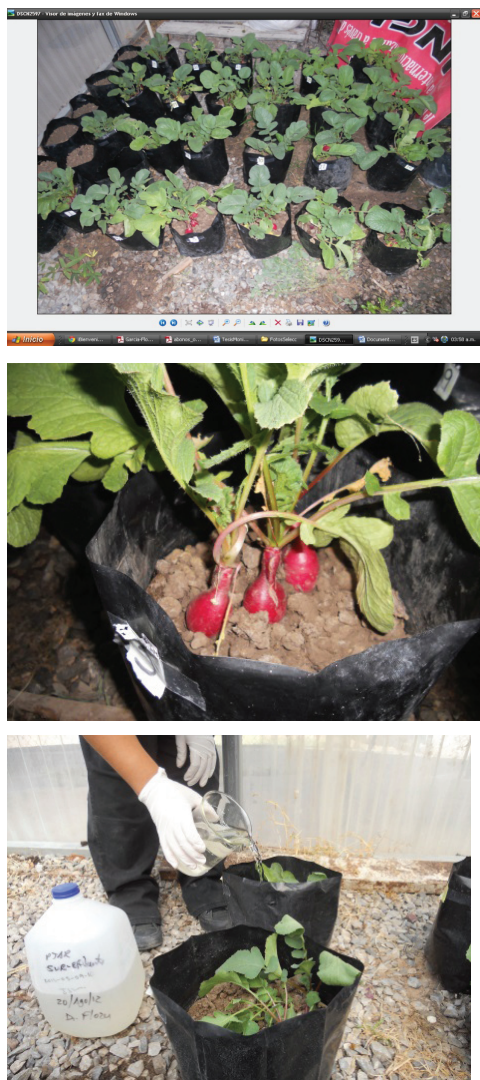
El estudio se realizó en un invernadero localizado enfrente del edificio Q en el Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ) localizada en el municipio de Ciudad Juárez Chihuahua, de septiembre a noviembre de 2012. El suelo se colectó en una parcela agrícola irrigada con aguas residuales del ejido San Isidro, en el poblado Loma Blanca, municipio de Juárez. El estiércol se colectó en la lechería Lucerna, en Guadalupe, D.B. La solarización se realizó con plástico especial y tuvo una duración de 21 días y la temperatura del estiércol varió entre 43 y 58 °C en este periodo. El agua residual se colectó en el canal principal de aguas negras que irriga el Valle de Juárez cerca del poblado Loma Blanca.

Las unidades experimentales fueron macetas de plástico de 4 kg, 22 cm de altura por 17 cm de ancho (Figura 1). El área calculada por maceta fue:  $3.1416 \times 8.5 \text{ cm} = 111.7036 \text{ cm}^2$ , para una dosis de 40 t/ha de estiércol seco. Se obtuvo para esta área de la maceta una cantidad de 44.68 g. Dado que el estiércol solarizado presentó una humedad de 38.22% y el estiércol sin solarizar 25.8% de humedad, entonces la cantidad de estiércol por maceta se ajustó a esta humedad. La combinación de tratamientos generó seis combinaciones (Cuadro 1). El rábano se sembró en las macetas con diferentes sustratos: estiércol solarizado, estiércol sin solarizar y suelo agrícola, así como regar con agua de la llave y agua residual, con cuatro repeticiones con diseño completamente al azar y arreglo factorial.

La variedad de rábano *Raphan* se sembró el 1 de septiembre del 2012, cinco semillas por maceta a 1 cm de profundidad. Se aplicó riego de saturación a todas las macetas con agua de la llave. El 28 de septiembre se registró el número de plantas por maceta, así como la altura de las plantas y la temperatura del suelo. A cada maceta se le aplicó 1 L de agua por riego. Los riegos fueron el 21 de septiembre, 13 y 22 de octubre. Las malezas presentes en las macetas se retiraron manualmente. La cosecha se realizó el 12 de noviembre de 2012. Las plantas de rábano se colectaron en bolsas de papel y se trasladaron al laboratorio para pesarse, luego se separaron las hojas del fruto para calcularse la biomasa producida.

Se midió el pH del suelo con un potenciómetro Pinchale 530 pH meter, el cual fue previamente calibrado con soluciones buffer de 4.0, 7.0, y 10. Se midió pesando 10 g. de suelo, se añadió la solución en un frasco de propileno, se colocaron 20 ml de agua destilada y se agitó en un agitador vaivén durante 5 minutos, después se procedió a tomar la lectura del pH. Se midió la conductividad eléctrica del suelo, utilizando un conductímetro Orión 3 Star previamente calibrado con una solución estándar de  $1413 \mu\text{S}/\text{cm}$ , se pesaron 10 g de suelo y se agregó 50 ml de agua destilada, se agitó durante 10





**Figura 1.** Plantas de rábanos, frutos y riego en las macetas con los tratamientos de estiércol, agua residual y agua de la llave.

minutos en un agitador vaivén, y se dejaron reposar las soluciones durante 24 horas para la posterior medición (Colegio de Postgraduados, 2006).

La extracción del nitrógeno inorgánico ( $\text{NH}_4$  y  $\text{NO}_3$ ) en suelos consistió en pesar 5 g de suelo seco previamente tamizado, se colocaron en un matraz de plástico, se agregaron 50 mL de  $\text{KCl}$  2N, los matraces se cubrieron con un tapón de hule. Se agitaron en un agitador de vaivén por 60 minutos a 160 rpm. Transcurrido el tiempo se filtró el contenido de los matraces utilizando papel filtro No. 41, y el filtrado se colocó en frascos de plástico y se refrigeró para su posterior análisis de nitrógeno inorgánico.

La determinación de nitrógeno amoniacal consistió en colocar 20 mL de muestra en un tubo kjeldahl más 1 g de óxido de magnesio calcinado y se destiló por 5 minutos hasta obtener aproximadamente 40 mL de destilado. Se determinó la cantidad de  $\text{N-NH}_4$  titulando con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 N previamente estandarizado. Para la determinación de nitratos se colocaron 20 mL de muestra y se añadió 0.1 g de aleación de derivada ( $\text{Cu+Al+Zn}$ ), se destiló por 5 minutos hasta obtener aproximadamente 40 mL de destilado. Se determinó la cantidad de  $\text{NO}_3$  titulado con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.005 N previamente estandarizado (Aguilar *et al.*, 1987; Mulvaney, 1996).

El análisis de fósforo Olsen consistió en pesar 42 g de bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ), se disolvió en 900 ml de agua, posteriormente se ajustó a pH 8.5 con  $\text{NaOH}$  10 N y se aforó a 1 litro. Se tuvo cuidado con esta solución para que no reaccionara con el aire por que este podría cambiar el pH. Se pesaron 2.5 g de suelo previamente tamizado y secado al aire, que fueron colocados en un matraz Erlenmeyer de polipropileno con una capacidad de 250 mL, luego se adicionaron 50 mL de solución extractora, la cual consistió en bicarbonato de sodio 0.5 a pH 8.5. Posteriormente se agitaron los matraces durante 30 minutos a 160 oscilaciones por minuto, se filtraron los matraces utilizando papel filtro Whatman 42. Después se tomó una alícuota de 5ml del filtrado y se colocaron en un matraz aforado de 50 ml, se le adicionó 50 ml de agua destilada y 5 ml de ácido ascórbico, después se llevó la solución al aforo. Se registró la absorbancia 30 minutos después y se leyó a 882 nm. Con base en el método establecido se preparó una curva de calibración utilizando una solución estándar de 5 mg/L, de la cual se obtuvo un estándar de 200 mg/L de fosfato de nitrógeno de potasio ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) (Colegio de Postgraduados, 2006; Olsen, 1954).

El análisis de datos consistió en considerar al diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y arreglo factorial. Se realizó análisis de varianza, análisis de regresión y correlación para las variables de nitrógeno, fósforo en suelo y datos de



**Cuadro 1.** *Tratamientos evaluados en el estudio de estiércol y tipo de agua de riego en el cultivo de rábanos.*

Unidad experimental	Tratamiento	Tipo de sustrato	Tipo de agua
1	2	suelo	negra
2	5	Suelo + estiércol	llave
3	5	Suelo + estiércol	llave
4	4	Suelo + estiércol solarizado	negra
5	4	Suelo + estiércol solarizado	negra
6	1	suelo	llave
7	2	suelo	negra
8	1	suelo	llave
9	6	Suelo + estiércol	negra
10	2	suelo	negra
11	4	Suelo + estiércol solarizado	negra
12	6	Suelo + estiércol	negra
13	3	Suelo + estiércol solarizado	llave
14	1	suelo	llave
15	3	Suelo + estiércol solarizado	llave
16	4	Suelo + estiércol solarizado	negra
17	3	Suelo + estiércol solarizado	llave
18	2	suelo	negra
19	5	Suelo + estiércol	llave
20	6	Suelo + estiércol	negra
21	6	Suelo + estiércol	negra
22	1	suelo	llave
23	5	Suelo + estiércol	llave
24	3	Suelo + estiércol solarizado	llave

biomasa. Estos análisis se realizaron con el paquete estadístico SPSS versión 17.0.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con respecto al pH se obtuvo que los suelos fueron moderadamente alcalinos. En este estudio se determinó que el tratamiento más alcalino fue el 3, que consistió en suelo con estiércol solarizado y regado con agua de la llave, y conforme a la conductividad eléctrica fue interpretado como suelos fuertemente salinos, observando el más salino el tratamiento 6, el cual fue el tratado con suelo y estiércol regado con agua residual, siendo el menos salino el tratamiento 1 el cual solo tenía como sustrato suelo y riego con agua de la llave. Debido a que la solarización del estiércol utilizado en este estudio fue de 20 días a una temperatura entre 43 y 58 °C (agosto a septiembre), tiempo en el cual se esperaba una reducción considerable de patógenos en el estiércol y que de alguna forma podría tener efecto signifi-

cativo en las variables agronómicas de la planta de rábano y de variables del suelo, por este motivo se decidió separar la descripción de resultados en dos secciones: en la primera se describe el efecto de los tratamientos de estiércol solarizado y sin solarizar, tal y como se desarrolló el experimento, y en la segunda sección se realizó el análisis estadístico sin considerar diferencias del tipo de estiércol, es decir, el factor sustrato solo fue comparar suelo sin estiércol contra el suelo tratado con estiércol sin distinguir si fue o no solarizado.

### *Sección 1: Efecto de Estiércol Solarizado*

No se detectó efecto significativo al 0.05 de  $\alpha$  entre las fuentes de variación estudiadas: sustrato, agua y la interacción sustrato por agua para las variables nitrógeno del suelo en forma de amonio ( $1\text{-NH}_4^+$ ), de nitrato ( $1\text{-NO}_3^-$ ) y la suma de nitrato y amonio ( $1\text{-NH}_4^++1\text{-NO}_3^-$ ) a los 30 días de emergida las plantas de rábano, así como al momento de la cosecha

(2-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), (2-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y la suma de nitrato y amonio (2-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+2-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) tal como se planteó la hipótesis del estudio (Cuadro 2). Sin embargo, al considerar un nivel de confianza de 90% del análisis estadístico (p<0.1), se observa que el tipo de agua afectó significativamente la concentración de 1-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a los 30 días y de 2-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en la cosecha. Mientras que la interacción sustrato por tipo de agua presentó efecto significativo para 1-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y la suma de ambos iones a los 30 días y a la cosecha. Los altos coeficientes de variación observados en el análisis de nitrógeno (37 a 139%) pueden ser explicados por la movilidad de este nutriente, el cual sufre transformaciones rápidas como amonificación, mineralización, volatilización, desnitrificación y lixiviación, entre otros procesos del ciclo del nitrógeno (Havlin *et al.*, 1999). En promedio, los niveles de N variaron

de 53 a 75 mg/kg, los cuales fueron altos y suficientes para abastecer la demanda fisiológica de la planta de rábano.

Con respecto a las variables agronómicas, la cual fue la producción de fruto, hoja y la suma de estos se consideró como biomasa. En estas variables tampoco se detectó efecto significativo entre los factores estudiados (Cuadro 3). Esto puede ser explicado por el alto nivel de N detectado en suelo. El tipo de sustrato y la interacción sustrato por tipo de agua de riego afectaron significativamente la concentración de fósforo inorgánico (p<0.01), mientras que el tipo de agua y la interacción afectaron el pH del suelo, y la concentración de sales fue afectada por el tipo de sustrato (p<0.01).

El promedio de N inorgánico en suelo fue mayor para el tratamiento de suelo sin estiércol y agua

**Cuadro 2.** Análisis de varianza para las concentraciones de nitrógeno Inorgánico (NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en suelo durante el primer muestreo (1- NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) y al final del experimento(2-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> + NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)

Fuente de Variación	g.l.	1-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	1-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	2-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
Sustrato	2	0.898	0.742	0.722	0.341	0.729	0.242
Agua	1	0.941	<b>0.062</b>	0.107	<b>0.057</b>	0.283	0.504
Sustrato x Agua	2	0.468	<b>0.083</b>	<b>0.092</b>	0.621	0.257	<b>0.083</b>
C.V. (%)		72.9	38.5	37.2	139.4	61.8	47.1
Promedio (mg/kg)		11.94	62.92	74.86	15.26	38.08	53.34

<sup>z</sup> Cuando el Nivel de significancia observado (P > F: \*, \*\*) sean menor o igual que 0.05 o 0.01 se considera efecto significativo y altamente significativo. g.l. = grados de libertad, C.V.=coeficiente de variación.

**Cuadro 3.** Análisis de varianza para la biomasa que incluye fruto y hoja de rábano, fosforo inorgánico, pH y conductividad eléctrica en el suelo al final del experimento.

Fuente de Variación	g.l.	Biomasa	Fruto	Hoja	P Inorg.	pH	C.E.
Sustrato	2	0.198	0.149	0.739	<b>0.000**</b>	0.161	<b>0.000**</b>
Agua	1	0.611	0.329	0.586	0.841	<b>0.065</b>	0.697
Sustrato x Agua	2	0.362	0.413	0.481	<b>0.056</b>	<b>0.053</b>	0.264
C.V. (%)		43.2	51.7	30.6	23.1	1.13	17.8
Promedio (g)		29.16	15.75	13.21	86.76 mg/kg	7.94	1342 $\mu$ S/cm

<sup>z</sup> Cuando el Nivel de significancia observado ( $P > F$ : \*, \*\*) sean menor o igual que 0.05 o 0.01 se considera efecto significativo y altamente significativo. g.l. = grados de libertad, C.E. = conductividad eléctrica, C.V.=coeficiente de variación.

**Cuadro 4.** Promedios para la combinación de tratamientos de los factores en estudio sustrato-agua en las variables de suelo y biomasa.

Tratamiento (Sustrato + tipo agua)	1-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	Biomasa (g)
1.Suelo sin estiércol + Llave	54.74 b	30.24 c	22.0 b
2.Suelo sin estiércol + Negra	<b>107.06 a</b>	56.28 b	28.5 ab
<b>3.Suelo + estiércol solarizado + Llave</b>	<b>60.37 b</b>	<b>81.48 a</b>	<b>37.25 a</b>
4.Suelo + estiércol solarizado + Negra	78.89 ab	48.72 bc	34.75 a
5.Suelo + estiércol sin solarizar + Llave	80.5 ab	58.8 b	32.25 ab
6.Suelo + estiércol sin solarizar + Negra	67.62 b	44.52 bc	20.25 b

\*Medias seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05.

1-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+ NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: Alfa= 0.05, g.l.= 18, C.M.E.= 779.07,  $t_{0.05/2}=2.1$ , D.M.S.=29.32

2-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+ NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: Alfa= 0.05, g.l.= 18, C.M.E.= 632.37,  $t_{0.05/2}=2.1$ , D.M.S.=21.57

Biomasa: Alfa= 0.05, g.l.= 18, C.M.E.= 159.11,  $t_{0.05/2}=2.1$ , D.M.S.=13.25

negra durante el primer muestreo a los 30 días, mientras que la concentración de N al final del estudio y la biomasa fue mayor con el tratamiento de suelo con estiércol solarizado y agua de la llave (Cuadro 4).

Se detectó diferencia significativa entre el tratamiento con suelo sin estiércol, regado con agua

residual y la concentración de nitrógeno en el análisis de 30 días después de la cosecha, ya que disminuyó la concentración de nitrógeno. También hubo diferencia significativa en el tratamiento suelo + estiércol solarizado regado con agua de la llave, el cual mostró un aumento de nitrógeno total en el segundo análisis y aumento de la biomasa.

## Sección 2: Efecto de Estiércol (combinación solarizado y sin solarizar en un tratamiento)

En esta sección se describe el análisis estadístico que incluyó a los tipos de estiércol (solarizado y sin solarizar) como un solo tipo de sustrato, asumiendo que la solarización durante 21 días podría no haber sido suficiente para tener efecto en la respuesta de la planta y disponibilidad de nutrientes, por ello en el ANOVA solo es un grado de libertad (2-1=1) para cada fuente de variación en el análisis de varianza. Se detectó efecto significativo ( $p < 0.05$ ) por el tipo de agua y la interacción sustrato por agua para las variables nitrógeno del suelo en forma de nitrato ( $1\text{-NO}_3^-$ ) y la suma de nitrato y amonio ( $1\text{-NH}_4^+ + 1\text{-NO}_3^-$ ) a los 30 días de nacidas las plantas de rábano, y para la suma de nitrato y amonio ( $2\text{-NH}_4^+ + 2\text{-NO}_3^-$ ) al momento de la cosecha (Cuadro 5).

El peso de fruto fue afectado significativamente por el tipo de sustrato ( $p < 0.1$ ). El tipo de sustrato (suelo y suelo + estiércol) y la interacción sustrato por tipo de agua de riego afectaron significativamente la concentración de fósforo inorgánico ( $p < 0.01$ ), mientras que el tipo de agua y la interacción afectaron el pH del suelo, y la concentración de sales fue afectada por el tipo de sustrato ( $p < 0.01$ ) y la interacción ( $p < 0.1$ ) (Cuadro 6).

La comparación de promedios muestra que la concentración de nitratos ( $1\text{-NO}_3^-$ ) y la suma de amonio y nitratos del suelo ( $1\text{-NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ) fue mayor significativamente ( $p < 0.05$ ) al utilizarse agua negra en el riego de rábanos. Mientras que la concentración de amonio en suelo al momento de la cosecha fue mayor al regarse con agua de la llave, lo cual no se esperaba. El pH del suelo fue alcalino y resultó mayor con agua de la llave (Cuadro 7).

**Cuadro 5.** Análisis de varianza para las concentraciones de nitrógeno Inorgánico ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ) en suelo durante el primer muestreo ( $1\text{-NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ) y al final del experimento ( $2\text{-NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ), sin diferenciar entre estiércol solarizado o sin solarizar.

Fuente de Variación	g.l.	$1\text{-NH}_4^+$	$1\text{-NO}_3^-$	$1\text{-NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$	$2\text{-NH}_4^+$	$2\text{-NO}_3^-$	$2\text{-NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$
Sustrato	1	0.709 <sup>z</sup>	0.459	0.455	0.144	0.866	0.176
Agua	1	0.957	<b>0.014</b>	<b>0.031</b>	0.103	0.112	0.908
Sustrato x Agua	1	0.709	<b>0.032</b>	<b>0.050</b>	0.403	0.095	<b>0.032</b>
C.V. (%)		72.1	37.2	36.7	139.4	59.7	46.7
Promedio (mg/kg)		11.94	62.92	74.86	15.26	38.08	53.34

<sup>z</sup> Cuando el Nivel de significancia observado ( $P > F$ : \*, \*\*) sean menor o igual que 0.05 o 0.01 se considera efecto significativo y altamente significativo. g.l. = grados de libertad, C.V.=coeficiente de variación.

**Cuadro 6.** Análisis de varianza para la biomasa que incluye fruto y hoja de rábano, fósforo inorgánico Olsen, pH y conductividad eléctrica en el suelo al final del experimento.

Fuente de Variación	g.l.	Biomasa	Fruto	Hoja	P In-org.	pH	C.E.
Sustrato	1	0.305	<b>0.093</b>	0.691	<b>0.000**</b>	0.053	<b>0.000**</b>
Agua	1	0.947	0.563	0.856	0.312	<b>0.012</b>	0.342
Sustrato x Agua	1	0.233	0.291	0.301	<b>0.019</b>	<b>0.021</b>	<b>0.096</b>
C.V. (%)		43.2	51.7	30.6	23.1	1.13	17.8
Promedio (g)		29.16	15.75	13.21	86.76 mg/kg	7.94	1342 µS/cm

<sup>z</sup> Cuando el Nivel de significancia observado ( $P > F$ : \*, \*\*) sean menor o igual que 0.05 o 0.01 se considera efecto significativo y altamente significativo. g.l. = grados de libertad, C.E. = conductividad eléctrica, C.V.=coeficiente de variación.

**Cuadro 7.** Comparación de promedios (media  $\pm$  error estándar) de la diferencia mínima significativa (DMS) para el efecto del tipo de agua de riego en las variables de suelo evaluadas.

Variable	Tipo de Agua de Riego Llave	Negra
1-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/kg)	12.07 a*	11.81 a
1-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	<b>53.13 b</b>	<b>72.72 a</b>
1-NH <sub>4</sub> <sup>++</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	<b>65.21 b</b>	<b>84.53 a</b>
2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/kg)	<b>24.08 a</b>	<b>6.44 b</b>
2-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	32.76 a	43.40 a
2-NH <sub>4</sub> <sup>++</sup> NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	56.84 a	49.84 a
Biomasa (g)	30.50 a	27.83 a
Fruto (g)	17.42 a	14.08 a
Hoja (g)	13.66 a	12.75 a
Fósforo inorgánico (mg/kg)	85.93 a	87.59 a
pH del suelo	<b>7.98 a</b>	<b>7.91 b</b>
C.E. (µS/cm)	7938 a	8171 <sup>a</sup>

\*Medias seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05.

El Cuadro 8 muestra que el sustrato compuesto por suelo con estiércol presentó unas tres veces más concentración de amonio significativamente al momento de la cosecha que el sustrato únicamente con suelo ( $p < 0.05$ ). Además, la concentración pro-

medio de fósforo se incrementó en 41.54 mg/kg al aplicarse estiércol, mientras que la cantidad de sales solubles aumentó 3,737 µS/cm con la aplicación de estiércol. El resto de las variables no mostraron diferencias significativas.

**Cuadro 8.** Comparación de promedios (media  $\pm$  error estándar) de la diferencia mínima significativa (DMS) para el efecto del tipo de sustrato en las variables de suelo evaluadas.

Variable	Tipo de Sustrato Suelo	Suelo+Estiercol
1-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/kg)	12.88 a*	11.47 a
1-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	68.02 a	60.38 a
1-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	80.90 a	71.85 a
2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (mg/kg)	6.30 b	19.74 a
2-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	36.96 a	38.64 a
2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg/kg)	43.26 a	58.38 a
Biomasa (g)	25.25 a	31.12 a
Fruto (g)	11.62 a	17.81 a
Hoja (g)	12.75 a	13.44 a
Fosforo Inorg. (mg/kg)	59.06 b	100.61 a
pH del suelo	7.89 a	7.97 a
C.E. ( $\mu$ S/cm)	5563 b	9300 a

\*Medias seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales a un nivel de significancia de 0.05.

El Cuadro 9 muestra que en promedio la concentración de N inorgánico del suelo a los 30 días después de emergidas las plantas de rábanos (1-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) fue mayor en el tratamiento de suelo y riego con agua negra, lo cual fue evidente por la aportación de N en forma amoniacal del agua residual o negra, el cual fue de 53 mg/kg. La concentración de N al final del estudio (2-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>+NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) fue mayor en promedio para el tratamiento de suelo tratado con estiércol y agua de la llave, el cual superó al testigo de suelo y agua de la llave con 40 mg/kg, es decir, esta fue la cantidad de N mineralizado del estiércol, mientras que la diferencia del testigo con el tratamiento de suelo y agua negra indica que la diferencia de 26 mg/kg provino de la aportación de amonio del agua negra en los riegos.

En promedio, la concentración de fósforo inorgánico (Olsen) aumentó 64 mg/kg con la aplicación de estiércol y de solo 31 mg/kg con la aplicación del agua negra, mientras que la aportación de fósforo conjunta debida al agua negra y al estiércol

fue de 51 mg/kg. La concentración de sales solubles en el suelo aumentó en promedio 4,772  $\mu$ S/cm debido a la aplicación del estiércol, mientras que el cambio debido al agua negra se incrementó en 1,614  $\mu$ S/cm (Cuadro 9). La alcalinidad del suelo aumentó 0.2 unidades de pH entre el testigo y el tratamiento con agua negra. El pH entre el testigo compuesto por suelo irrigado con agua de la llave y los tratamientos con estiércol no fueron diferentes significativamente.

Las correlaciones significativas entre las variables se muestran en el Cuadro 10. Las tendencias de las variables son que el peso de la hoja aumentó con la concentración de amonio final, así como la concentración de nitratos y sales solubles (C.E.), sales solubles y fósforo (Figura 2); el N inorgánico final correlacionó con el fósforo del suelo y la biomasa (peso de fruto y hoja -Figura 3-), así como sales solubles y biomasa. Sin embargo, el pH del suelo mostró una correlación negativa con la concentración de nitratos.

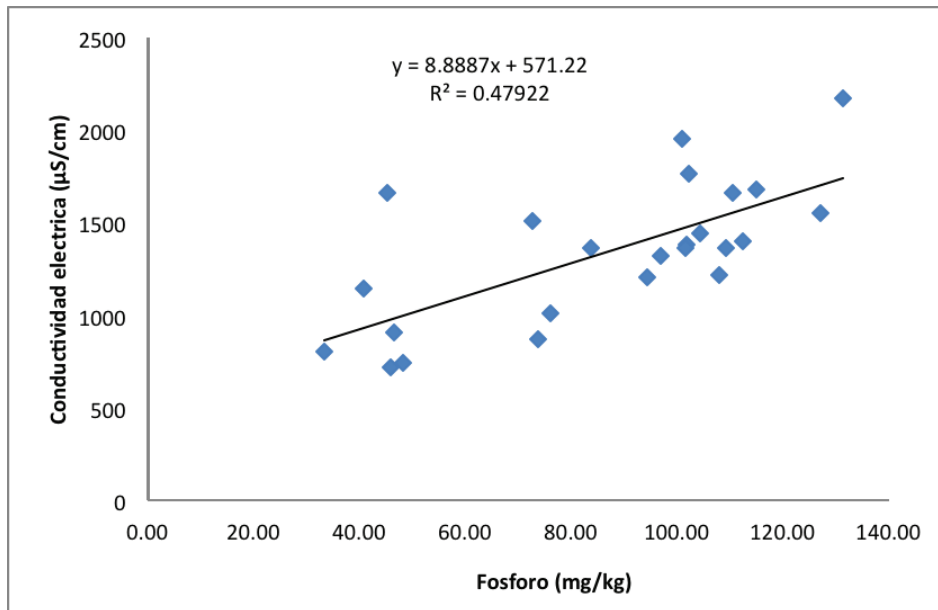


**Cuadro 9.** Comparación de promedios (media  $\pm$  error estándar) de la diferencia mínima significativa (DMS) para la combinación de tratamientos de los factores en estudio sustrato-agua en las variables de suelo evaluadas.

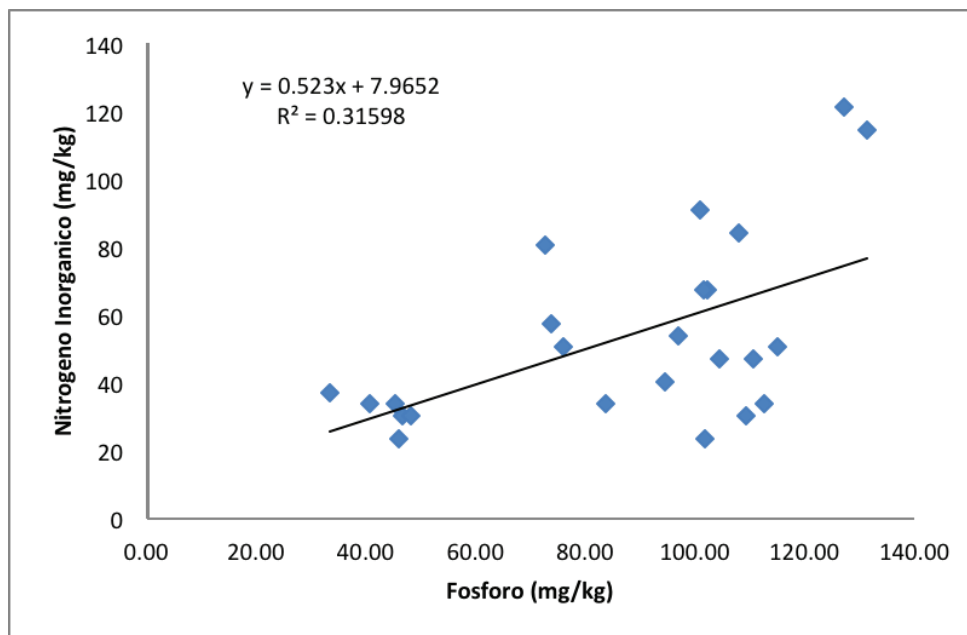
Tratamiento (Sustrato + tipo agua)	1-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> + NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg kg <sup>-1</sup> )	P Inorg. (mg kg <sup>-1</sup> )	C.E. μS/cm	pH
1.Suelo + Llave	54.7±12.4b*	30.24±2.7c	43.5±3.4c	4756±253c	7.99±0.04a
2.Suelo + Negra	107.1±26a	56.28±11ab	74.6±13.7b	6370±453b	7.79±0.05b
3.Suelo + estiércol + Llave	70.4±7.8b	70.14±13.5a	107.1±6.4a	9528±655a	7.97±0.03a
4.Suelo+ estiércol + Negra	73.2±4.5b	46.62±3.9bc	94.1±7.8ab	9071±434a	7.96±0.03a

**Cuadro 10.** Coeficientes de correlación y niveles de significancia observado para las variables evaluadas en el efecto del estiércol en suelo y planta de rábano.

Variables	Coeficiente de correlación (Pearson)	Nivel de significancia observado (p<0.05)
2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> vs peso de hoja	0.4074	0.0481
1- NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> vs pH	-0.4264	0.0377
2- NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> vs C.E.	0.4766	0.0185
2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> vs Fosforo	0.5621	0.0043
2-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> vs Biomasa	0.4126	0.0451
C.E. vs peso de Fruto	0.5432	0.0061
C.E. vs Fosforo	0.6922	0.0002
C.E. vs Biomasa	0.4165	0.0429
	N =24	



**Figura 2.** Correlación entre la concentración de fosforo y la conductividad eléctrica del suelo.



**Figura 3.** Correlación entre la concentración de fósforo y nitrógeno del segundo análisis

En este estudio se trabajó con suelos medianamente alcalinos y salinos, según la NOM-021-SEMARNAT-2000, tal como los estudios reportados por Flores *et al.*, (2008) en diferentes texturas de suelo en el Valle de Juárez. La concentración

de fósforo del suelo fue influenciada por el tipo de agua de riego y el sustrato, de tal forma que fue mayor en el tratamiento regado con agua de la llave y tratado con estiércol, así también la concentración de sales en el suelo aumentó con el estiércol, ya que

este aporta sales provenientes de las dietas que se le dan al ganado (Salazar *et al.*, 2007).

La concentración de amonio en el suelo al momento de la cosecha fue mayor al regarse con agua de la llave, mientras que en el tratamiento de suelo con estiércol y agua negra fue menor este resultado, ya que el agua residual tiene mayor concentración de amonio. Se esperaba una mayor concentración de amonio en los suelos regados con agua residual, esto puede explicarse por la alcalinidad de los suelos, ya que al aumentarse el pH favorece la formación de  $\text{NH}_3$  perdiéndose por volatilización o también debido a la inmovilización microbiana del amonio (Havlin *et al.*, 1999).

Al hacer el análisis estadístico sin tomar en cuenta la solarización de estiércol, se observaron diferencias significativas en la concentración de nitratos en el análisis a los 30 días de emergida la planta de rábano y la suma de nitrato y amonio en el análisis después de la cosecha, esto es debido solo a la dosis aplicada de agua residual y estiércol, ya que no fue significativa la solarización al 0.05 como se obtuvieron en otros estudios, pudiéndose deber a que el estiércol se solarizó poco tiempo (21 días), quizás no suficiente para la eliminación de patógenos y favorecer la mineralización de nutrientes.

## CONCLUSIONES

La concentración de N inorgánico varió de 53 a 75 mg/kg, los cuales fueron altos y fueron suficientes para abastecer la demanda fisiológica de la planta de rábano. En el caso de variables fruto, hoja y biomasa, no se detectó efecto significativo entre los factores estudiados, explicado por el alto nivel de N del suelo. La concentración de N ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$ ) fue mayor en promedio para el tratamiento de suelo tratado con estiércol y agua de la llave, el cual superó al testigo de suelo y agua de la llave con 40 mg/kg, es decir, esta fue la cantidad de N mineralizado del estiércol, mientras que la diferencia del testigo con el tratamiento de suelo y agua negra

indica que la diferencia de 26 mg/kg provino de la aportación de amonio del agua negra en los riegos. La concentración de fósforo inorgánico aumentó 64 mg/kg con la aplicación de estiércol y de solo 31 mg/kg con la aplicación del agua negra, mientras que la aportación de fósforo conjunta debida al agua negra y al estiércol fue de 51 mg/kg. La concentración de sales solubles en el suelo aumentó en promedio 4,772  $\mu\text{S}/\text{cm}$  debido a la aplicación del estiércol, mientras que el cambio debido al agua negra se incrementó en 1,614  $\mu\text{S}/\text{cm}$ . Las correlaciones significativas entre las variables fueron para el peso de la hoja que aumentó con la concentración de amonio final, así como la concentración de nitratos y sales solubles (C.E.), sales solubles y fósforo, el N inorgánico final correlacionó con el fósforo del suelo y la biomasa (peso de fruto y hoja (Figura 3), así como sales solubles y biomasa.

## LITERATURA CITADA

Aguilar, S.A., J.D. Etchevers D. y J.Z. Castellanos R. (1987). "Análisis químico para evaluar la fertilidad del suelo". *Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo*. Publicación especial No.1, 217 p.

Arellano, M, y Gutiérrez, M. (2009). "Efecto de la nutrición vegetal en rendimiento y vida poscosecha en hortalizas". *Temas Modernos de Nutrición Vegetal*. P. 40-68.

Colegio de Postgraduados, (2006). *Manual de procedimientos de laboratorio*, Montecillo estado de México. 20 p.

CNA (Comisión nacional del Agua). (2010). "Descargas de aguas residuales municipales y no municipales, 2010". Subdirección General de Agua Potable, Drenaje y Saneamiento. Acceso el 15 de Junio de 2013: [www.conagua.gob.mx/atlas/usuariosdelagua31.html](http://www.conagua.gob.mx/atlas/usuariosdelagua31.html).

Di Giovanni, G.D., Betancourt W.Q, Hernandez J, Assadian NW, Flores JP.,M. y Jaramillo E.L. (2006). "Investigation of potential zoonotic transmission of cryptosporidiosis and giardiasis through agricultural use of reclaimed wastewater".

*Int. J. of Environ. Health Res.*, 16(6), 405-418.

Flores, M.J.P., E. Jaramillo L., N. W. Assadian, G. D. Di Giovanni, F. Pérez C., and Manoj K. Shukla. (2013). "Heavy Metals in Oat and Soil Treated with Lime-Stabilized Biosolids and Reclaimed Wastewater", accepted for publication in: *Journal of Environmental & Analytical Toxicology*.

Flores, M.J.P., B. Corral D. y G. Sapien M. (2007). "Mineralización de nitrógeno de biosólidos estabilizados con cal en suelos agrícolas". *Terra Latinoamericana*: 25(4), 409-417.

Flores, M.J.P., V. Sotomayor V. y B. Corral D. (2008). "Nitrógeno mineralizable de estiércol bovino lechero en suelo cultivado con algodónero". *Ciencia en la Frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ.*, 6,119-131.

Flores, M.J.P. (2007). "Resinas de intercambio iónico para evaluar la mineralización de nitrógeno en suelos tratados con abonos orgánicos. p.386-412. In: Salazar *et al.* (Eds). *Uso de abonos orgánicos e inocuidad. Sociedad Mexicana de la ciencia del Suelo*, CONACYT.

Flores, M.J.P., R.P. Flynn, W.C. Lindemann, and M. Remmenga. (2002). *Total nitrogen content of dairy manures in New Mexico*. New Mexico State University, College of Agriculture and Home Economics, Agricultural Experiment Station. Las Cruces, NM. Bulletin 785. 16 p.

Havlin, J.L., J.D. Beaton, S.L. Tisdale y W.L. Nelson. (1999). *Soil fertility and fertilizers: an introduction to nutrient management*. 6 th. Ed., Prentice Inc. Upper saddle River, N.J. 499 p.

Jarvis, S.C., E.A. Stockdale, M.A. Shepherd y D.S. Powlson. (1996). "Nitrogen mineralization in temperate agricultural soils: processes and measurement". p.188-235. In D.L. Sparks (ed.) *Advances in Agronomy*. Vol 57. Academic Press, Inc. New York, NY.

Mulvaney, R.L. (1996). "Nitrogen-inorganic forms". P. 1123-1184. In: J.M. Bartels *et al.* (ed.) Part 3. *Methods of Soil Analysis. Chemical Methods* 3rd ed. ASA and SSSA, Madison, WI, Books series No. 5

NOM-021-SEMARNAT-2000. (2000). "Norma oficial mexicana que establece las especificaciones de salinidad, fertilidad y clasificación de suelo, estudios, muestreo y análisis". Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 31 Diciembre de 2002. 85 p.

Olivas, E. E., J.P. Flores M., G. Di Giovanni, B. Corral D. y P. Osuna A. (2013). "Indicadores fecales en agua potable del Valle de Juárez, Chihuahua, México". *Terra Latinoamericana*, 31, 135-143.

Olsen, S.R. C.V, Cole, F.S. Watenable, y L.A. Dean. (1954). Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. U.S. Dep. Of Agric. Circ. 939.

Salazar, S. E., E. H. I. Trejo E., C. Vázquez V., (2007). "Producción de maíz bajo riego por cintilla con aplicaciones de estiércol bovino". *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 76, 169-185.

SAGARPA, SIAP. (2007). Resumen Nacional de población ganadera y superficie sembrada en México en 2005. Acceso Junio 2013, [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx).

Salazar S.E., López J.D., Suñiga R., Vázquez C., Rortis M., y Vital J. (2003). *Uso y aprovechamiento del Estiércol como alternativa nutricional en invernadero*. Universidad Juárez del Estado de Durango. 1-12 p.

Solomon E; Yaron S; R. Matthews. (2010). "Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization". *Applied and Environmental Microbiology*, American Society from Microbiology [en línea] <http://aem.asm.org/content/68/1/397.full> (Consulta: 08 septiembre 2011).

Stanford, G. y S.J. Smith. (1972). "Nitrogen mineralization potentials of soils". *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 36, 465-472.

Vázquez, V.C., J.L. García H., E. Salazar S., J.D. Lopez M., R. D. Valdez C., I. Orona C., M.A.

Gallegos R. y P. Preciado R. (2011). "Aplicación de estiércol solarizado al suelo y la producción de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*)". *Revista Chapingo serie Horticultura*, 17 (especial), 69-74.





ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

# *Cryptosporidium* y *Giardia* en Suelos del Valle de Juárez, Chihuahua, México

\*Evangalina Olivas-Enríquez<sup>1</sup>, Juan Pedro Flores-Margez<sup>1</sup>, J. Abraham Gómez-Carbajal<sup>1</sup>,  
Pedro Osuna-Ávila<sup>1</sup>, Baltazar Corral-Díaz<sup>1</sup> y George D. Di Giovanni<sup>2</sup>

---

## RESUMEN

Una elevada prevalencia de parasitosis intestinales en pobladores del Valle de Juárez, Chihuahua, fue lo que motivó este estudio. El riego agrícola con aguas residuales de tratamiento primario propicia la contaminación del suelo con enteroparásitos, entre ellos *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia*. El objetivo fue determinar la presencia de los enteroparásitos *C. parvum* y *G. lamblia* en suelo de cultivo agrícola, suelo adherido a implementos agrícolas y suelo de patios de casas, como indicadores de contaminación fecal. Se analizaron muestras de suelo de los poblados del Valle de Juárez durante 2008 y 2009, y en las que además de los enteroparásitos se incluyó la humedad, pH y conductividad eléctrica. En muestras de 25 g se concentraron los parásitos y a continuación se separaron del suelo por la técnica inmunomagnética, seguida por tinción inmunofluorescente. La identificación y conteo de los parásitos se efectuó al microscopio de epifluorescencia. Se detectaron *Giardia* y *Cryptosporidium* en el 21% de las muestras del suelo de campo y de implementos agrícolas, sin observarse ninguna relación entre el pH, la humedad y la conductividad eléctrica del suelo y los parásitos. Respecto al suelo de los patios de casas, ambos parásitos se detectaron en el 100% de casos estudiados, lo cual se asoció a la presencia de animales domésticos, ya que los pobladores no hacen control de excretas animales. El suelo agrícola y el de los patios de las casas se observaron como reservorios de enteroparásitos. El riego agrícola con aguas residuales se detectó como fuente contaminante microbiológica del suelo en el área. Los indicadores fecales en estos suelos constituyen un riesgo para la salud de los agricultores y de los pobladores.

Palabras clave: suelo, enteroparásitos, agua residual, bacterias.

---

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ciencias Biomédicas, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Circuito Pronaf y Estocolmo, s/n. Tel. (656) 688 1800 ext. 1786

\* Autor para correspondencia: evolivas@uacj.mx

<sup>2</sup> The University of Texas, Health Science Center at Houston, School of Public Health, El Paso, TX, 1101 N. Campbell CH 412, 79902.

## INTRODUCCIÓN

Los seres humanos están en contacto con el suelo permanentemente, ya sea en forma directa o indirecta, a través de los alimentos, el agua de beber y el aire, por lo que la tierra puede actuar como un reservorio y fuente importante de microorganismos patógenos. Aunque muchas de las enfermedades humanas asociadas con el suelo han sido caracterizadas y descritas, la mayoría han sido poco estudiadas y posiblemente subestimadas. Los parásitos pueden llegar al suelo de diversas formas, ya sea por defecación directa o por descargas de material fecal al suelo, a través de letrinas peridomiciliarias, utilización de residuos no tratados para el relleno de terrenos, descargas de residuos patológicos, utilización de estiércol animal como abono de vegetales, uso de aguas negras para riego, disposición de barros provenientes de plantas de tratamiento de afluentes cloacales, de piletas de decantación y de filtros de plantas potabilizadoras (OMS, 2011).

Actualmente existe una preocupación sobre el posible aumento de las enfermedades transmitidas por el suelo en las poblaciones humanas, teniendo en cuenta que varias prácticas agrícolas exitosas, favorecen la entrada de considerables concentraciones de patógenos entéricos al suelo, pudiendo originar la contaminación de los agricultores, de los productos agrícolas, las aguas superficiales y las aguas subterráneas. Por lo que respecta a las bacterias, éstas pueden seguir creciendo en el suelo, con lo que aumentan sus poblaciones así como el inóculo. Por otro lado, algunos patógenos no se multiplican en el suelo, sin embargo, su dosis infecciosa es muy baja, como en el caso de *Giardia*, *Cryptosporidium* y de los virus entéricos, lo que implica un mayor riesgo para los humanos.

La gran mayoría de los patógenos entéricos humanos y zoonóticos, sobreviven en el suelo por un tiempo mientras alcanzan a un nuevo huésped, ya sea por contacto directo con el suelo o por consumo de agua o alimentos contaminados con suelo (Tay *et al.*, 1994; Thurston, 2002). Existen ciertos

gusanos parásitos intestinales, como el grupo de los *Geohelminthos*, cuyos huevos o larvas son eliminados en heces, debiendo permanecer en el suelo por un período para madurar y convertirse en infectivos para humanos (Tay y Sánchez, 2002). En este estudio se tomaron como base, reportes previos referentes a la alta prevalencia de parasitosis intestinales en pobladores del Valle de Juárez (Contreras *et al.*, 2009). El riego agrícola de la región con aguas residuales propicia la contaminación del suelo con parásitos diarreicos, como *Cryptosporidium* y *Giardia*, muy comunes en la localidad, por lo que se utilizaron estos dos organismos como indicadores de contaminación fecal del suelo, tanto del área agrícola como de los patios de las viviendas de los pobladores.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Localidades muestreadas*

Las localidades incluidas en el estudio fueron: Loma Blanca (LB), San Agustín (SA), Tres Jacales (TJ), Juárez y Reforma (JR), Barreales (B), Praxedis G. Guerrero (PX), Guadalupe D.B (GB), Colonia Esperanza (CE) y San Isidro (SI), durante 2008-2009.

### *Muestreo de suelo del campo e implementos agrícolas*

Se obtuvo suelo de los siguientes sitios: Azolve del canal de aguas residuales, en LB, SA, TJ, JR, GB y PX. Suelo agrícola de parcelas de las localidades LB, SA, TJ, SI. Suelo agrícola adherido a diferentes implementos agrícolas y diferentes localidades: una surcadora (JR), un pegasus y un tractor (B), una rastra y un trascabo (PX), llantas de tractor y un trascabo (CE). De cada sitio o implemento agrícola, se colectó en total 1 kg de suelo, formado cada uno por la unión de 5 porciones individuales. El suelo de azolves y parcelas se obtuvo eliminando el superficial, y colectando a una profundidad de 5 cm. El suelo pegado a implementos agrícolas, se obtuvo por raspado. Cada muestra se colocó en

una bolsa de plástico y se transportó en una hielera al laboratorio.

### ***Muestreo de suelo de patios de viviendas de los pobladores***

Se colectaron las muestras de suelo en el patio de 14 casas, en los poblados de (LB), (SI), (SA), (JC), (TJ), (EM), (JR), (PP), (GB), (PX), (CE) y (PV).

En el patio de cada casa se eligieron tres lugares para el muestreo, que presentaran descarga domiciliaria en el patio, suelo húmedo y posibles condiciones adecuadas para la presencia de los parásitos *Cryptosporidium* y *Giardia*, por ejemplo, donde había animales domésticos o sitios con agua. En cada patio se colectaron las tres muestras y se unieron en una sola de aproximadamente 1 kg, registrando los datos con información del sitio y fecha y se transportaron al laboratorio en una hielera.

### ***Análisis de factores físicos del suelo***

**Humedad:** para determinar la humedad se pesó el suelo recién muestreado, se dejó secar y posteriormente se volvió a pesar. El porcentaje de humedad se calculó con la fórmula:

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{\text{peso húmedo (g)} - \text{peso seco (g)}}{\text{peso seco (g)}}$$

**Análisis de pH:** se efectuó en muestras de 10 g de suelo+20 mL de agua destilada, midiendo enseguida el pH con un potenciómetro.

**Análisis de conductividad eléctrica:** A la misma preparación de suelo donde se midió el pH se le adicionaron 30 mL de agua, se agitó, se dejó reposar y se le midió la conductividad eléctrica en un aparato para este efecto.

### ***Concentración de Cryptosporidium y Giardia en las muestra de suelo, antes del análisis parasitológico***

La concentración de los parásitos en cada muestra de suelo, se desarrolló con base en una técnica de Kuczynska *et al.* (1999) y adaptada al laboratorio.

El análisis se efectúa en una muestra de suelo de 25 g que se trata con solución dispersadora (Tris 50 mM, más Tween 80 al 0.5%), durante 15 minutos agitando con magneto, para separar los ooquistes y quistes del resto del material. Se filtra a través de papel Whatman # 1 y se lava con 100 ml de solución dispersante. El filtrado se colocó en tubos cónicos de 50 ml para centrifugar por 10 minutos a 500 G, eliminando el sobrenadante; los sedimentos se unen y resuspenden en 30 mL de solución dispersante, centrifugando de nuevo a 800 G durante 20 minutos. Se elimina el sobrenadante y se unen los sedimentos en uno solo, usado en la separación inmunomagnética.

### ***Separación Inmunomagnética de ooquistes de Cryptosporidium parvum y quistes de Giardia lamblia***

Para esta técnica se utilizó un juego de reactivos con partículas paramagnéticas recubiertas con anticuerpos específicos contra *Cryptosporidium* y *Giardia*, sensibles a la acción de campos magnéticos (Imm. Tech, Inc.). Para el desarrollo de la técnica se siguieron los pasos descritos en el instructivo del proveedor. En primer lugar se transfirió el sedimento obtenido en la concentración, a un tubo Leighton (con una pared plana), más 15 mL de agua destilada. El tubo se coloca en el soporte magnético por cinco minutos para eliminar las partículas metálicas adheridas a la pared del tubo y separar los quistes y ooquistes, repitiendo el lavado dos veces. A continuación se le adicionan 5 mL de buffer de ensayo, más 50  $\mu$ L del reactivo con anticuerpos-partículas paramagnéticas contra *Cryptosporidium* y 50  $\mu$ L contra *Giardia*, mezclando enseguida en un orbitador por una hora a temperatura ambiente. De nuevo, la muestra se magnetiza por dos minutos, eliminando el sobrenadante; las partículas se resuspenden en 1 mL del reactivo de solución lavadora y se transfieren a un microtubo cónico eppendorf de 1.5 mL, se magnetizar por 1 minuto, se elimina el sobrenadante. El sedimento se trata con 50  $\mu$ L de HCl 0.1 N para disociar los

parásitos, agitando en un vórtex por 1 min; se deja reposar 10 min sin retirar del magneto, a temperatura ambiente. El sobrenadante se neutraliza con 50  $\mu$ L de NaOH 1N, más 145  $\mu$ L de PBS (1X) y se transfiere al pozo de un portaobjetos excavado, dejando secar en una cámara oscura a 37 °C antes de la tinción.

### **Tinción de ooquistes de *Cryptosporidium* y quistes de *Giardia* con anticuerpos inmunofluorescentes de muestras de suelo**

Se utilizó un juego de reactivos conteniendo anticuerpos marcados con fluoresceína específicos contra ooquistes de *C. parvum* y quistes de *G. lamblia* (A100FLK Aqua-Glo G/C Direct, Waterborne, Inc), siguiendo los pasos descritos por el proveedor. La muestra de suelo obtenida en el método de IMS, contenida en el pozo de un portaobjetos excavado, se trata con 50  $\mu$ L de anticuerpos específicos (reactivo A-100FLR solución de trabajo) y se incuba durante una hora, a 35 °C, en una cámara húmeda, en oscuridad. Enseguida se retira la preparación y se drena el colorante. Se lava con 100  $\mu$ l de amorti-

guador (SureRise™ wash buffer), durante 1 minuto y se drena. Se enjuaga con 100  $\mu$ l del amortiguador por 1 minuto y se drena. Finalmente se le adiciona una gota del reactivo de montaje, cubriendo la preparación con un cubreobjetos y sellando con barniz de uñas. Se deja secar. Se observa al microscopio de fluorescencia con filtro azul (cerca de 500 nm). Ambos parásitos se cuentan en toda la preparación, relacionando el número con los gramos de suelo de la muestra observada.

## **RESULTADOS**

### **Parásitos en suelo agrícola**

En el cuadro 1 se muestran los resultados del análisis de *Cryptosporidium* y *Giardia* en suelo de azolve de canales, suelo agrícola e implementos agrícolas.

Ambos parásitos se identificaron en tres de los 14 suelos (21.4 %) estudiados en el campo, así como en dos de los de implementos agrícolas, notando una predominancia en el número de *Cryptosporidium*. El porcentaje de humedad de las di-

**Cuadro 1. Número de Parásitos en 25 g suelo del campo e implementos agrícolas.**

Lugar	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	% humedad	pH	Conductividad eléctrica ( $\mu$ S/cm)
(LB)surco	0	0	7.8	7.6	469.6
(LB)canal	0	0	26.3	7.6	2767.6
(SI)implemento	0	0	14.6	8.0	625.1
(SA)surco	0	0	15.6	7.8	198.4
(SA)canal	0	0	5.5	7.3	452.3
(TJ)surco	0	0	3.1	7.1	805.6
(TJ)canal	0	0	17.0	7.1	581.2
(JR)implemento	0	0	3.2	8.0	1245.8
(JR)canal	<b>48</b>	<b>25</b>	37.3	7.3	754.4
(B)implemento	0	0	2.5	8.2	940.4
(GB)canal	<b>22</b>	<b>7</b>	0.0	7.3	1163.0
(PX)implemento	0	0	3.3	8.3	906.3
(PX)canal	0	0	2.0	7.2	1538.2
(CE)implemento	<b>74</b>	<b>33</b>	1.2	8.0	2418.7
Promedio	10.3	4.6	10.0	7.6	1061.9
Desv. estándar	22.8	10.6	11.0	0.4	739.6

ferentes muestras de suelo resultó variable, debido a las diferentes condiciones de los lugares donde se colectaron. La mayor humedad se encontró en el suelo del canal de JR con un 37.3% y en el del canal de LBc con 26.3%; mientras que las muestras de implementos agrícolas de CE y de azolve del canal de PX presentaron una menor humedad con 1.2 y 2%.

El pH del suelo en todas las muestras fue ligeramente alcalino, variando de 7.1 a 8.3, lo cual es típico de los suelos de zonas áridas e irrigados con agua salina, como en esta región de estudio. Dos de los tres suelos que presentaron ambos parásitos, mostraron pH 7.3, JRc y GBc, es decir, solo ligeramente alcalinos.

La conductividad eléctrica mide las sales solubles del suelo, observándose una variación entre zonas y tipo de muestra, siendo las muestras menos salinas las de la parcela agrícola (surcos) de San Agustín con una conductividad eléctrica de 198.4  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , y el suelo más salino en el azolve del canal de Loma Blanca con una conductividad eléctrica de 2767.6  $\mu\text{S}/\text{cm}$ .

El suelo del canal de Guadalupe de Bravo (GB) mostró contaminación con *Cryptosporidium* y *Giardia*, sin porcentaje de humedad observable. La muestra positiva de implementos agrícolas de Colonia Esperanza (CE), podría atribuirse al suelo adherido del canal con aguas residuales, con 1.2% de humedad. Sólo en el suelo del canal de Juárez y Reforma (JR) hubo una relación entre la presencia de los parásitos y el más alto porcentaje de humedad del suelo (37.3 %). Se puede asumir que no hubo una influencia constante del porcentaje de humedad sobre la presencia de los parásitos. Sin embargo, es posible que en el suelo de los canales con parásitos aunque se pierda pronto la humedad, hay constante rehidratación con el agua del propio canal; teóricamente, en condiciones de desecación prolongada los organismos tienden a desaparecer (Barwick *et al*, 2003). Los dos parásitos solo se detectaron en las muestras del azolve del canal de Juárez y Reforma y en Guadalupe, así como en las

muestras de los implementos agrícolas de Colonia Esperanza, siendo ésta la que presentó una mayor presencia de ambos parásitos. Esto puede ser atribuido a que la maquinaria agrícola transita por diferentes parcelas y canales que son regados con aguas residuales, aunque la procedencia de dichos parásitos también pueden ser las heces humanas y de animales.

En general predominó el número de *Cryptosporidium* sobre *Giardia* en los sitios positivos. En estos resultados no hubo relación entre la conductividad eléctrica y los parásitos, coincidiendo con algunos estudios (Dai y Boll, 2003). Igualmente, tampoco el pH mostró ninguna influencia sobre la presencia de los parásitos en las muestras positivas; según algunos autores, el pH por sí solo, no influye en la sobrevivencia de estos parásitos (Mawdsley *et al*. 1995; Kato *et al.*, 2004).

La ausencia de los parásitos en muchas de las muestras podría explicarse con base en la influencia de varios factores. En el caso de los implementos agrícolas que se encontraban expuestos directamente al sol, la desaparición de organismos es más rápida debido a la acción directa de la luz ultravioleta sobre el suelo adherido a éstos, como fue probablemente el caso de los implementos de San Isidro y Juárez y Reforma, a diferencia de los implementos que se encontraban resguardados bajo techo, como los de Barreales (B), Praxedis G. Guerrero (PG) y Colonia Esperanza (CE). Otro factor importante es el tiempo transcurrido de los implementos sin haberse usado, ya que esto implica que una mayor desecación del suelo adherido a los implementos, que en los usados en forma reciente. Otro factor importante es el periodo del muestreo, ya que en algunos casos se presentaron lluvias antes de realizarse el muestreo, como fue el caso de los muestreos en San Agustín, Guadalupe D. B., el canal de Praxedis G. Guerrero y los implementos de Colonia Esperanza, lo cual favorece el lavado del suelo que contiene los parásitos (Dai y Boll, 2003).

La cantidad de parásitos mencionados en este



estudio resultó mayor que la reportada en otro estudio, sobre *Cryptosporidium* y *Giardia* en suelos agrícolas del Valle de Juárez y Valle de El Paso, Texas, un rango entre 1 y 10 / 25 g de suelo (Rocha, 2007).

### Parásitos en suelo de patios viviendas

El 100% de los suelos estudiados de los patios de casas, presentaron ooquistes de *Cryptosporidium* en forma predominante y quistes de *Giardia* (cuadro 2). El número de *Cryptosporidium* varió de 3 a 15 en 25 g de suelo, mientras que de *Giardia* fue entre 1 y 8. Probablemente influyó en la contaminación del suelo no solo el posible acarreo mecánico de patógenos desde las áreas agrícolas, sino también la presencia de animales domésticos en todos los patios de las casas.

**Cuadro 2.** Núm. de parásitos / 25 g suelo de patios de casas, de los pobladores del Valle de Juárez.

Localidad	<i>Cryptosporidium</i>	<i>Giardia</i>	% humedad	pH	Conduct. eléctrica
LB	7	6	3.7	8.1	0.6
SI	10	5	4.3	8.6	0.6
SA	11	6	26.2	8.0	3.7
JC	12	4	5.6	8.0	1.81
TJ	9	7	1.2	7.9	0.38
EM	11	6	2.6	8.9	0.54
JR	13	4	3.3	8.2	0.32
PP	15	3	2.5	8.3	0.7
GB	8	5	2.8	8.6	2.2
PX	3	1	3.4	8.8	1.02
CE	9	4	3.8	8.0	2.8
PV	10	3	3.1	7.7	3.5

En los patios se encontraron animales tales, como caballos, vacas, perros y gallinas, que defecaban libremente, sin control de las excretas por parte de los dueños, además de convivir estrechamente con los moradores. De acuerdo con estudios

reportados sobre *giardiasis* y *cryptosporidiosis* en ganado, los quistes de *Giardia* pierden su infectividad en el agua, en las heces y en el suelo después de 1 semana de congelación a  $-4^{\circ}\text{C}$  y a las 2 semanas a  $25^{\circ}\text{C}$ . Por otro lado, los quistes de *Giardia* a  $4^{\circ}\text{C}$  son infecciosos durante 11 semanas en el agua, 7 semanas en el suelo y 1 semana en las heces de animales (Olson *et al.*, 1999).

En todos los patios muestreados se encontró bastante humedad en el suelo o agua estancada, debido, comúnmente, a que los moradores eliminaban agua sucia en el patio. El contenido de humedad en los suelos fue variable entre 1 y 26%, mientras que el pH fue de mediano a fuertemente alcalino y varió de 7.7 a 8.9, las concentraciones de sales solubles fue generalmente muy baja y varió entre 0.3 y 3.6 dS/m. Sin embargo, ninguno de los factores mencionados pareció influir negativamente en la presencia de los parásitos en el suelo de los patios.

Los datos obtenidos de predominancia de *Cryptosporidium* en los conteos de todas las muestras de suelo, tanto en el campo como en los patios, concuerdan con la literatura, ya que está demostrado que los ooquistes de *Cryptosporidium* son más resistentes en el medio ambiente, por ejemplo, entre  $-4$  y  $4^{\circ}\text{C}$ , los ooquistes pueden sobrevivir en el agua y en el suelo durante 12 semanas, mientras que la degradación se incrementa a  $25^{\circ}\text{C}$  (Olson *et al.*, 1999).

Factores antropológicos, sociales y humanos contribuyen a la prevalencia de parasitosis intestinales en el Valle. La mayoría de las viviendas carecen de sanitario conectado a la red de drenaje, e igualmente no hay agua potable en el interior de la casa. Esta deficiencia de la infraestructura sanitaria es un factor que favorece la prevalencia de parásitos intestinales en el área. La pobreza, las malas condiciones de vivienda, la ignorancia, la falta de atención médica, la mala nutrición y los hábitos nocivos, son los factores antropológicos, sociales y humanos, esenciales para las parasitosis endémicas.



## CONCLUSIONES

El 21% de los suelos muestreados del campo fueron positivos a *Cryptosporidium* y *Giardia*. Tanto *Cryptosporidium* como *Giardia*, estuvieron siempre presentes en el suelo de patios de todas las casas muestreadas. *Cryptosporidium* fue el predominante en todas las muestras positivas. No se puede asegurar que todos los quistes detectados estuvieran siempre vivos. Se deduce que existe contaminación fecal del medio ambiente en el Valle de Juárez, que origina la alta prevalencia de parasitosis en la población.

## Recomendaciones

La disminución de las infecciones gastrointestinales en Valle de Juárez sería posible si el ambiente se transformara mediante las medidas comunitarias, es decir, la purificación del agua, el alcantarillado y el sistema de seguro de salud, entre otros factores, lo cual puede conducir a un desarrollo sostenible que satisfaga las necesidades del presente sin comprometer la habilidad de generaciones futuras de satisfacer sus propias necesidades.

La norma mexicana (NOM-CCA/032-ECOL/1993) referente a la calidad microbiológica de aguas residuales para riego, exige un límite de 1 huevo de helmintos intestinales / L de agua para riego, sin embargo, es inadecuada para las condiciones climáticas del área del Valle de Juárez, Chihuahua, donde dichos parásitos no prevalecen.

Se sugiere que las autoridades de salud consideren la información para llevar a cabo las medidas de prevención, ya que todos los agricultores del Valle las usan en el riego, y que se continúen estudios para validar aún más la presencia de estos parásitos en el ambiente. Se requieren estudios posteriores de viabilidad y estudios de genotipificación para determinar la fuente de *Cryptosporidium* y *Giardia* para los pobladores (humano o animal).

## BIBLIOGRAFIA

Barwick, R.S., H.O. Mohammed, M.E. White, R.B. Bryant. (2003). "Factors Associated with the Likelihood of Giardia spp. and Cryptosporidium spp. in Soil from Dairy Farms". *J. Dairy Sci.* 86. 784-791.

Contreras C.R., E. E.Olivas, J.P. M.Flores, B.D.Corrall, Borrego P.A y Osuna Á.P. (2009). "Impacto sanitario de suelos irrigados con aguas residuales sobre la salud de la población". XXXIV Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Torreón, Coahuila, México.

Dai, X. y Boll, J. ; Boll, J. (2003). "Evaluation of Attachment of Cryptosporidium parvum and Giardia lamblia to Soil Particles". *J. Environ. Qual.*, 32, 296-304.

Kato S., Jenkins M., Fogarty E., Bowman, D. (2004). "Cryptosporidium parvum oocyst inactivation in field soil and its relation to soil characteristics: analyses using the geographic information systems". *Sci. Total Environ.*, 321(1-3), 47-58.

Kuczynska, E., and Shelton, D. R. (1999). "Method for detection and enumeration of Cryptosporidium parvum Oocysts in feces, manures, and soils". *Appl. Environ. Microbiol.*, 65 (7), 2820-2826.

López, E.J y Olivas, E.E. (2008). "Parasitosis intestinales en niños de un área urbana y una suburbana". *Memorias 4o Congreso Internacional de Ciencias*. Dpto. Ciencias Básicas. Instituto de Ciencias Biomédicas. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Chihuahua. México.

Mawdsley J.L., Bardgett R.D., Merry R.J., Pain B.F., Theodorou M.K. (1995). "Pathogens in livestock waste, their potential for movement through soil and environmental pollution". *Applied Soil Ecology*, 2, 1-15.

Norma Oficial Mexicana NOM-CCA/032-ECOL, (1993). "Límites máximos permisibles de contaminantes en las aguas residuales de origen urbano o municipal para su disposición mediante riego agrícola".

Olson, M. E., J. Goh, M. Phillips, N. Guselle and T. A. McAllister. (1999). Giardia Cyst and Cryptosporidium Oocyst Survival in Water, Soil, and Cattle Feces. *Journal of Environmental Quality*, 28, 1991-1996.

OMS. (2011). “Agua potable salubre y saneamiento básico en pro de la salud”. Agua, saneamiento y salud. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/mdgl/es/index.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/mdgl/es/index.html) (consultado en enero 2011).

Rocha G. Y. (2007). “Cryptosporidium parvum y Giardia lamblia en el suelo agrícola del Valle de Juárez, Chihuahua y Valle del Paso, Texas”. Tesis de licenciatura en Química. ICB, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez.

Tay J. Ruiz A., Schenone H, Robert L, Sánchez-Vega JT, Uribarren T, Becerril MA, Romero R. (1994). “Frequency of intestinal protozoosis in the Mexican Republic”. *Bol. Chil. Parasitol.*, 49, 9-15.

Tay Z.J. y Sánchez V.J.T., (2002). “Características de protozoarios y helmintos capaces de causar diarrea aguda en humanos”. *Rev. Fac. Med. UNAM* Vol.45.

Thurston, E.J.A. (2002). “A solution at the source”. Defining and solving manure-borne pathogen transmission from animal feeding operations. *Water Conditioning and Purification*.

Wallis P.M., Erlandsen S.L, Isaac-Renton J.L, Olson M.E, Robertson W.J, and van Keulen H. (1996). “Prevalence of Giardia Cysts and Cryptosporidium Oocysts and Characterization of Giardia spp. Isolated from Drinking Water in Canada. *Appl. Environm. Microbiol.*, 62, 2789–2797.

ARTÍCULO DE REVISIÓN

# Importancia de la identificación del parásito *Cryptosporidium* por medio de la genotípificación

Luis R. Alarcón<sup>1</sup>, Juan Pedro Flores-Margez<sup>1</sup>, Evangelina Olivas-Enríquez<sup>1</sup>, Pedro Osuna-Ávila<sup>1</sup>, Baltazar Corral-Díaz<sup>1</sup> y Enrique Salazar-Sosa

---

## RESUMEN

El parásito del género *Cryptosporidium* es el agente etiológico de la Criptosporidiosis, una enfermedad caracterizada por diarrea que afecta principalmente a personas de países en vías de desarrollo e inmunocomprometidos. El *Cryptosporidium* tiene como fuente de infección una gran variedad de huéspedes cuyas heces contaminan el agua y los alimentos, especialmente los que se consumen crudos, por lo que es de suma importancia determinar el genotipo y el origen de la infección para evitar el surgimiento de epidemias.

---

## GENERALIDADES

El género *Cryptosporidium* (Phylum: Apicomplexa) son parásitos intracelulares obligados con un ciclo biológico complejo, que incluye la reproducción sexual y asexual. Produce ooquistes de pared gruesa de 4 a 6  $\mu\text{m}$  de diámetro que se eliminan por las heces, la infectividad de estos ooquistes es relativamente alta. Estudios realizados en voluntarios sanos revelaron que la ingestión de menos de 10

ooquistes puede provocar una infección. El género *Cryptosporidium* está compuesto por 18 especies (Cuadro 1) y más de 40 genotipos (Xiao y Ryan, 2008), los cuales infectan una gran variedad de animales (ganado, mascotas, animales silvestres) y humanos (Xiao y Fayer, 2008). *Cryptosporidium parvum* (genotipo II) y *Cryptosporidium hominis* (genotipo I) son responsables de la mayoría de las infecciones humanas, mientras que las especies que

---

1 Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ciencias Biomédicas, Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Circuito Pronaf y Estocolmo, s/n. Tel. (656) 688 1800 ext. 1786

\* Autor para correspondencia: Lalarcon@uacj.mx.

2 Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Agricultura y Zootecnia, Ap. Postal I-142, Gómez Palacio, Dgo., México.

infectan al ser humano con menor frecuencia son: *C. canis* (perros), *C. felis* (gatos), *C. meleagridis* (pavo) y *C. muris* (ratón).

La Criptosporidiosis se caracteriza por diarrea de resolución espontánea, acompañada en ocasiones de náuseas, vómitos y fiebre, que suele desaparecer en el lapso de una semana en personas sanas, pero que puede prolongarse durante un mes o más. La gravedad de la Criptosporidiosis varía según la edad y el estado inmunitario, y las infecciones en personas con inmunodeficiencia grave pueden ser mortales, siendo este un problema de salud pública particularmente en países en vías de desarrollo.

*Cryptosporidium* es uno de los mejores ejemplos de microorganismo causante de una “enfermedad emergente”. Hasta 1976 se descubrió que infectaba al ser humano y la transmisión por el agua se confirmó por primera vez en 1984 (OMS, 2002). El impacto de los brotes de Criptosporidiosis es relativamente alto debido a la gran cantidad de personas que pueden verse afectadas y a sus repercusiones socioeconómicas. En 1993, *Cryptosporidium* provocó el mayor brote de enfermedad transmitida por el agua registrado: más de 400 000 personas se infectaron a través del agua de consumo en Milwaukee (EU). Se ha calculado que el costo total de las enfermedades ocasionadas por este brote ascen-

dió a 96.2 millones de dólares (OMS, 2002).

#### FUENTES DE CONTAGIO

Los reservorios de *Cryptosporidium* son muy diversos animales, tabla 1 (Fayer, 2008), pero las fuentes más importantes de infección para los humanos son las personas y el ganado (bovino y porcino), sobre todo los animales jóvenes (Jenkins y Col, 2010; Langkjaer y col, 2007). Los terneros pueden excretar 1,010 ooquistes al día y se han notificado concentraciones de hasta 14,000 ooquistes por litro en aguas residuales sin tratar y de 5,800 ooquistes por litro en aguas superficiales (OMS, 2002). Los ooquistes pueden sobrevivir semanas o meses en agua dulce, siendo estos extremadamente resistentes a desinfectantes oxidantes como el cloro, pero investigaciones basadas en pruebas de infectividad han demostrado que la irradiación con luz ultravioleta inactiva los ooquistes (OMS, 2002).

También, debido a su tamaño relativamente pequeño, la eliminación de los ooquistes mediante procesos de filtración con medios granulares es problemática; sólo con sistemas bien diseñados y gestionados puede conseguirse una eliminación aceptable. Los procesos de filtración de membrana que proporcionan una barrera física directa pueden constituir una alternativa viable para la eliminación

**Cuadro 1.** Principales especies de *Cryptosporidium* y sus respectivos huéspedes.

Especies de <i>Cryptosporidium</i> (modificado de Frayer, 2008)	
Especies	Huésped
<i>C. andersoni</i>	Ganado bovino
<i>C. baileyi</i>	Pollos
<i>C. bovis</i>	Ganado bovino
<i>C. canis</i>	Perro
<i>C. fayeri</i>	Canguro rojo
<i>C. felis</i>	Gato domestico
<i>C. galli</i>	Pollos
<i>C. hominis</i>	Humanos
<i>C. macropodum</i>	Canguro gris
<i>C. meleagridis</i>	Pavo
<i>C. molnari</i>	La dorada (pez), robalo europeo
<i>C. muris</i>	Ratón
<i>C. parvum</i>	Ratón
<i>C. scophthalmi</i>	Rodaballo (pez)
<i>C. serpentis</i>	Serpiente del maíz, serpiente ratonera
<i>C. suis</i>	Cerdo

eficaz de ooquistes de *Cryptosporidium* (OMS, 2002). Se han detectado ooquistes de *Cryptosporidium* en muchos sistemas de abastecimiento de agua de consumo, de riego y para uso recreativo (Di Giovanni y Col, 2006; Dungeni y Col, 2010; Jenkins y Col, 2010). Las técnicas convencionales de análisis disponibles en la actualidad, como lo son la tinción de Ziehl–Neelsen y la Inmunofluorescencia, proporcionan una medida indirecta de la viabilidad de los microorganismos, pero no de su infectividad para el ser humano (OMS, 2002).

### GENOTIPIFICACIÓN

La genotipificación es el único método que permite establecer de manera confiable la identificación de las diferentes especies de *Cryptosporidium*, ya que las técnicas basadas en microscopía como son la tinción de Ziehl–Neelsen y la Inmunofluorescencia no lo permiten debido a que no existen estructuras o diferencias morfológicas entre los diversos genotipos y especies que comprenden este género (Xiao y Frayer, 2008).

Se ha evaluado la eficacia de varias técnicas de genotipificación, las cuales se basan en la amplificación mediante la técnica de PCR de diversos genes en combinación con distintos tipos de cebadores (Irshad *et al.*, 1999). Los dos protocolos que probaron ser los más sensibles y capaces de identificar un mayor número de especies, fueron los desarrollados por Gibbons *et al.*, (1998) y por Xiao *et al.*, (1999). La técnica de Gibbons se basa en la amplificación del gen de la dihidrofolato reductasa (DHFR), mientras que la de Xiao se basa en la amplificación del gen de la subunidad pequeña 18s del RNA ribosomal (SSU rRNA 18s) y ambos protocolos utilizan el método PCR-RFLP anidado (Irshad *et al.*, 1999). En el protocolo de Gibbons se obtiene un producto de un tamaño de 408 pb y mientras que en el de Xiao el tamaño del producto obtenido es de 825 pb (Irshad *et al.*, 1999). De ambos métodos el que es citado con mayor frecuencia en la literatura es el método de Xiao *et al.*, (1999) por: Jenkins *et al.*, (2010), Reed *et al.*, (2002), Irshad

*et al.*, (1999). Existe otro gen que es utilizado con regularidad como objetivo de amplificación para la genotipificación de *Cryptosporidium*, este es el gen de choque térmico (HSP-70) (Morgan *et al.*, 2001; Ryan *et al.*, 2003).

### DISCUSIÓN

Como se estableció anteriormente, las fuentes de contaminación por *Cryptosporidium* del agua de consumo humano y de alimentos vegetales que se consumen crudos son muy diversas y abarcan principalmente granjas de ganado en engorda, lecherías, granjas de crianza porcina y aguas negras. El potencial para el surgimiento de una posible epidemia es importante, por lo que es necesario establecer de manera precisa y confiable, lo que únicamente se logra a partir de la genotipificación, el origen de la contaminación para determinar una red de vigilancia epidemiológica más efectiva y métodos de desinfección y tratamiento de aguas residuales más confiables.

### BIBLIOGRAFÍA

- Carrie Reed, Gregory D. Sturbaum, Paul J. Hoover, and Charles R. Sterling. (2002). “Cryptosporidium parvum Mixed Genotypes Detected by PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis”. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(1), 427–429
- George D. Di Giovanni, Walter Q. Betancourt, Joe Hernandez, Naomi W. Assadian, Juan P. Flores Margez, y Esaul Jaramillo Lopez. (2006). “Investigation of potential zoonotic transmission of cryptosporidiosis and giardiasis through agricultural use of reclaimed wastewater”. *Intern. J. of Environ. Health Research.* 16(6), 405–418
- Irshad M. Sulaiman, Lihua Xiao and Altaf A. Lal. (1999). “Evaluation of Cryptosporidium parvum Genotyping Techniques”. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(10), 4431–4435
- Lihua Xiao y Ronald Fayer. (2008). “Molecular characterisation of species and genotypes of Cryptosporidium and Giardia and assessment of zoonotic transmission”. *Int. J. Parasitol.* 38, 1239–1255



M Dungeni and MNB Momba. (2010). “The abundance of Cryptosporidium and Giardia spp. in treated effluents produced by four wastewater treatment plants in the Gauteng Province of South Africa”. *Water SA*. 36, 0378-4738

Michael B. Jenkins, Janice L. Liotta, Araceli Lucio-Forster, and Dwight D. Bowman. (2010). Concentrations, Viability, and Distribution of Cryptosporidium Genotypes in Lagoons of Swine Facilities in the Southern Piedmont and in Coastal Plain Watersheds of Georgia. *Appl. Environ. Microbiol.* 76, 5757–5763.

OMS, (2002): “Protozoan parasites (Cryptosporidium, Giardia, Cyclospora)”. En: *Guías para la calidad del agua potable*, 2.<sup>a</sup> ed. Apéndice: Microbiological agents in drinking water. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud, págs. 70–118.

Una Ryan, Lihua Xiao, Carolyn Read, Ling Zhou, Altaf A. Lal, y Ivan Pavlasek. (2003). Identification of Novel Cryptosporidium Genotypes from the Czech Republic. *Appl. Environ. Microbiol.* 69(7), 4302–4307.

ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

# Enterobacterias patógenas en productos vegetales mínimamente procesados para el consumo en Ciudad Juárez, Chihuahua

\*Martha Y. Barrón-Manzanares<sup>1</sup>, N. Chacón-Barajas<sup>1</sup>, A. Galván-Sotelo<sup>1</sup>, E. Olivas Enríquez, J. Pedro Flores-Margez<sup>1</sup>, Pedro Osuna-Ávila<sup>1</sup> y Baltazar Corral-Díaz<sup>1</sup>

---

## RESUMEN

El objetivo de este estudio fue identificar la presencia de bacterias enteropatógenas *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, así como determinar los niveles de bacterias coliformes fecales en productos vegetales mínimamente procesados de supermercados en Ciudad Juárez, Chihuahua. Muestras de ensalada con base en lechuga y mezcla de vegetales fueron examinadas con técnicas de análisis microbiológico descritas en las normas oficiales mexicanas. En 15% de las muestras de ensalada fue detectada *E. coli.*, mientras que coliformes fecales fueron encontradas en mezclas de vegetales en rangos de 130 a 305,000 NMP/g y las ensaladas presentaron rangos de 3 a 1100 NMP/g. Los resultados indican deficiencias en el manejo higiénico de estos productos, por lo cual se debe verificar la aplicación de la normatividad relativa a las prácticas higiénicas en la preparación de alimentos ofertados en establecimientos fijos con la finalidad de detectar el origen de los problemas sanitarios.

Palabras clave: Bacterias, *E.coli*, coliformes fecales, verduras.

---

1 Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, ICB, Dpto. Ciencias Químico-Biológicas. Circuito Pronaf y Estocolmo, s/n. México Tel. (656) 688 1800 ext. 1786, Correo\*: mbarron@uacj.mx.

## INTRODUCCIÓN

La tendencia actual de demanda y consumo de alimentos frescos o con mínimo procesamiento es cada día mayor. Lo anterior, debido a la preferencia, por parte de los consumidores, de estilos de vida saludables y porque su preparación es sencilla, dado que el rápido ritmo de vida ocasiona un menor tiempo destinado a la preparación y consumo de alimentos (Berger *et al.*, 2010). La Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) señala que está disminuyendo el cocinar en el hogar, las personas están comiendo fuera y traen alimentos preparados a casa. El consumo de hortalizas es vital para la salud humana puesto que poseen innumerables propiedades alimenticias, son fuente inagotable de vitaminas, minerales, fibra y energía (Rivera *et al.*, 2009).

Los vegetales mínimamente procesados (VMP) son hortalizas y frutas frescas limpias, peladas enteras y/o cortadas para consumo humano directo. Adicionalmente, pueden ser envasadas al vacío o en atmósferas modificadas con o sin utilización de gases, para mantener su frescura (FDA, 2007). Los VMP son por lo general mucho más perecederos que los vegetales sin procesar. Las modificaciones que presentan estos productos en su calidad más importantes son: presencia de superficies cortadas y tejidos dañados, además su metabolismo sigue activo, por lo que dicho proceso no puede asegurar la esterilización o la estabilidad microbiana del producto (Fernández, 2000).

Los alimentos preparados fuera del hogar pueden estar sujetos a contaminación cruzada con otros alimentos, así como a contaminarse durante su manipulación. Además, los alimentos consumidos crudos o con mínimo procesamiento, generalmente están relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos (FDA, 2007). La mayoría de los vegetales de consumo habitual pueden presentar contaminación bacteriana y por ende, ser vehículos de enfermedades y portadores de agentes infecciosos (Ramírez *et al.*, 2009).

Se ha señalado que la solución de los proble-

mas sanitarios relacionados con los alimentos está en la educación de los manipuladores, consumidores y del personal encargado de esta actividad (Michanie, 1994). Aun cuando dichas indicaciones son generalmente aceptadas, es necesaria una exigencia sanitaria para elevar la eficacia de estas (Durán *et al.*, 1993).

En cuanto a enfermedades transmitidas por alimentos, se ha reportado el aumento en su incidencia: en 2010 se reportaron 5, 175,178 casos de enfermedades asociadas al consumo de alimentos en México (CENAVECE, 2011). En estos casos fueron variables los alimentos involucrados y microorganismos causales, pero demuestra la gran exposición a diversos patógenos. En ellos se encontró principalmente *Salmonella*, *Shigella*, y parásitos como *Ascaris*, *Giardia*, *Taenia*, entre otros. La jurisdicción sanitaria de Ciudad Juárez, Chihuahua, en el transcurso del año 2007 presentó 41,526 casos de infecciones intestinales y 1087 casos de *Salmonellosis*.

Diversos estudios en México reportan con frecuencia la presencia de patógenos intestinales. Se realizó un estudio para determinar las bacterias de tipo fecal en hortalizas cultivadas en Xochimilco. Se seleccionaron hortalizas utilizadas comúnmente en la dieta de los habitantes del Distrito Federal, las cuales fueron lechugas romana y escarola, verdolaga, espinaca, acelga, epazote, cilantro, rábano y zanahoria. La mayor cantidad de coliformes fecales se presentaron en epazote, espinaca, cilantro, zanahoria y lechuga escarola, en cantidades superiores al valor permitido para este tipo de alimentos (Vega *et al.*, 2005).

En Chihuahua se realizó un estudio para determinar la calidad microbiológica de las frutas y hortalizas más importantes en el estado. Muestras de chile jalapeño, chilaca y serrano, melón, tomate saladet, tomate grape, durazno, manzana golden y starkimson, así como agua de pozo, de canal, de riego, de consumo y de lavado en empaque se analizaron para determinar *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, coliformes totales y fecales, hongos

y levaduras con las metodologías marcadas en la normatividad mexicana. El muestreo se realizó en todo el estado de Chihuahua durante el ciclo de producción 2004. Los resultados sugieren acciones correctivas para minimizar los riesgos de contaminación microbiológica durante el proceso de producción. Una de estas acciones es la capacitación de los productores y su personal para que adquieran conocimientos sobre Buenas Prácticas Agrícolas utilizando agua de riego de calidad y protegiendo los productos hortícolas del contacto con heces fecales durante el periodo de producción y cosecha (Ávila-Quezada *et al.*, 2008). Existen pocos estudios al respecto en Chihuahua, por lo que adquiere relevancia determinar el tipo de patógenos y la calidad sanitaria de los vegetales mínimamente procesados disponibles para la población de Ciudad Juárez, Chihuahua.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio fue realizado en Ciudad Juárez, Chihuahua, donde fueron seleccionadas en forma aleatoria tiendas de autoservicio que tuvieran disponibles al público VMP elaborados en estos lugares y listos para su consumo (Figura 1). Los mues-

treos se llevaron a cabo durante enero de 2010 a mayo de 2011. Las muestras recolectadas fueron de ensaladas con base en lechuga (*Lactuca sativa*) y mezclas de vegetales con brócoli (*Brassica oleracea var.italica*), coliflor (*Brassica oleracea var. Botrytis*) y zanahoria (*Daucus carota*) para el análisis microbiológico de enterobacterias. Las determinaciones microbiológicas fueron realizadas de acuerdo con especificaciones de la Secretaría de Salud.

### *Normas Mexicanas para Análisis de Alimentos*

Los análisis microbiológicos fueron efectuados de acuerdo con las metodologías descritas en las siguientes normas oficiales mexicanas publicadas en el diario oficial de la federación: NOM-110-SSA1-1994 que trata sobre la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico, NOM-109-SSA1-1994 que trata sobre bienes y servicios, procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. NOM-110-SSA1-1994 sobre la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. NOM-114-SSA1-1994 que incluye información sobre el



**Figura 1.** Vegetales mínimamente procesados expuestos a la venta sin refrigeración.

método para la determinación de *Salmonella* en alimentos. NOM-112-SSA1-1994 sobre la determinación de bacterias coliformes, técnica del número más probable. NOM-145-SSA1-1995 en el apéndice B.2 sobre determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y *Escherichia coli* por la técnica de diluciones en tubo múltiple.

### **Muestreo**

Un total de 91 muestras de ensaladas a base de lechuga y mezclas de vegetales fueron obtenidas en forma aleatoria y a disponibilidad en tiendas de autoservicios de la localidad durante enero de 2010 a mayo de 2011. Cada muestra fue recolectada en su envase original en condiciones asépticas y fue transportada en refrigeración para su posterior preparación y análisis microbiológico de igual forma.

### **Preparación de muestras**

Las muestras fueron preparadas con una solución primaria de 10 g de muestra y licuada en condiciones asépticas, por no más de 2 minutos, para obtener una muestra homogénea con 90 ml de solución diluyente de agua peptonada. Enseguida fueron realizadas diluciones decimales transfiriendo 1 ml de la dilución primaria a un tubo con 9 ml de agua peptonada sucesivamente hasta obtener una dilución 10<sup>-4</sup> con base en la técnica descrita en la NOM-110-SSA1-1994.

### **Determinación de Coliformes totales y fecales**

Fue utilizada la técnica de diluciones en tubo múltiple y estimación de la densidad microbiana por Número Más Probable (NMP). La técnica proporciona una estimación estadística de la densidad microbiana presente con base en la probabilidad de obtener diluciones en tubos múltiples con crecimiento positivo, la cual disminuye conforme es menor el volumen de muestra inoculado. El crecimiento positivo fue basado en la propiedad de los microorganismos coliformes para producir gas a partir de glucosa y fermentación de lactosa dentro de 48 horas de incubación a  $35 \pm 0.5^\circ\text{C}$  para coli-

formes y  $44.5 \pm 0.2^\circ\text{C}$  para coliformes fecales y *E. coli*.

### **Determinación de *Salmonella* spp.**

En esta técnica cualitativa fue tomada una muestra de 25 g y fue enriquecida en medios no selectivos y selectivos que permitieron favorecer el crecimiento de *Salmonella* e inhibir otros microorganismos para su posterior aislamiento y determinar su presencia o ausencia por pruebas bioquímicas de identificación.

### **Determinación de *Escherichia coli***

Para esta determinación cualitativa se utilizó la técnica de NMP para coliformes, de los cuales fueron seleccionados aquellos tubos con crecimiento positivo. A partir de estos tubos fueron realizados aislamientos en medios selectivos para la posterior determinación de la presencia o ausencia de *E. coli* por pruebas bioquímicas de identificación.

## **RESULTADOS**

Los resultados obtenidos sobre la presencia de patógenos en los VMP se muestran en el Cuadro 1. En las ensaladas fue aislada *E. coli* en 15% de las 75 muestras analizadas sin encontrar *Salmonella* spp. debido a la presencia de organismos competitivos como los coliformes y *E. coli* que inhiben su crecimiento, en tanto que para las mezclas de vegetales no fueron encontrados estos patógenos en las 26 muestras analizadas. En el Cuadro 2 se muestra que fueron detectadas también bacterias pertenecientes al grupo coliforme en ambos casos. donde se observó un número elevado de bacterias coliformes en las mezclas de vegetales con rangos de 130 a 305,000 NMP/g en tanto que para las muestras de ensaladas los rangos presentados fueron de 3 a 1100 NMP/g.



**Cuadro 1.** Presencia de microorganismos patógenos en vegetales mínimamente procesados.

Alimento	Número de muestras analizadas (n)	E. coli Muestras positivas	Salmonella spp. Muestras positivas
Ensaladas a base de lechuga	75	11	Ausente
Mezclas de vegetales	26	ausente	Ausente

**Cuadro 2.** Niveles de bacterias coliformes fecales NMP/g en vegetales mínimamente preparados.

Alimento	Número de muestras analizadas (n)	Bacterias coliformes fecales NMP/g Promedio	Bacterias coliformes fecales NMP/g Rango
Ensaladas a base de lechuga	75	62	3 – 1100
Mezclas de vegetales	26	17,158	130 -305,000

## DISCUSIÓN

Diversos estudios que analizaron la calidad microbiológica de vegetales, entre estos lechugas adquiridas en mercados muestran que los niveles de coliformes fecales se ubicaron entre 101 y 107 NMP/g en 90% de las muestras (Ginestre *et al.*, 2009). Castro y colaboradores en el 2006 reportaron niveles elevados de organismos coliformes 103 UFC/g en ensaladas y solo 4 de las 40 muestras no presentaron coliformes fecales (Castro *et al.*, 2006). En la presente investigación, la totalidad de las muestras de ensalada y mezclas de vegetales analizadas presentaron coliformes. Típicamente la presencia del indicador coliformes en alimentos sugiere una deficiencia sanitaria en su manejo, lo cual fue evidenciado tanto en ensaladas como en mezclas de vegetales. Los niveles altos de coliformes pueden

deberse a tres causas: 1) exposición abundante de los vegetales a la contaminación durante la cosecha, recolección, transporte, procesamiento y comercialización sin desarrollo posterior; 2) empleo de verduras sin lavado y desinfección o tratamiento insuficiente; 3) crecimiento de microorganismos indicadores partiendo de verduras contaminadas inicialmente con números muy bajos de microorganismos indicadores (Michanie, 1994). En el campo, es probable que las superficies externas de las hortalizas contengan la carga microbiana más importante pero en ocasiones los tejidos internos contendrán bacterias que han penetrado por mecanismos diferentes. Agentes tales como insectos, hongos, nematodos, animales, pájaros, la lluvia, el granizo, o el paso de maquinaria pueden facilitar la entrada de las bacterias (ICMSF, 2001). Los resultados demuestran la existencia de problemas serios de contaminación en los VMP estudiados.

Con relación a la presencia del patógeno intestinal *E. coli* en muestras de ensalada es sugestiva de contaminación fecal reciente, considerando que en ausencia de materia fecal no suele existir en estos alimentos y muy pobremente si acaso, se multiplica (Fernández, 2000). La *E. coli* vive poco en el ambiente extra entérico, y su hallazgo puede implicar el riesgo de que otro patógeno pueda estar presente (Castro *et al.*, 2006), aunque en las ensaladas y las mezclas de vegetales analizadas no presentaron otros patógenos. Las normas mexicanas relativas a las prácticas de higiene como la NOM-251-SSA1-2009 para el proceso de alimentos, no consideran a *E. coli* como indicador de calidad sanitaria en verduras crudas o VMP. Sin embargo, debería incluirse dentro del marco de legislación de las normas oficiales mexicanas, ya que puede proporcionar información respecto a la evaluación de la calidad sanitaria que los productos vegetales crudos presentan. *Salmonella* no fue encontrada en las muestras analizadas pero ha sido reportada la dificultad de la detección y aislamiento en alimentos, debido a que se encuentra en bajo número y en



presencia de gran cantidad de organismos competitivos (Arrendo *et al.*, 1998).

## CONCLUSIÓN

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, se puede concluir que las condiciones en que son manejados los VMP para la venta, la mayoría de las veces, no son adecuadas, lo que propicia la contaminación por microorganismos patógenos, los cuales representan un riesgo importante para la salud del consumidor. Los resultados obtenidos del análisis de VMP ofertados en Ciudad Juárez, Chihuahua, muestran un riesgo potencial de contaminación, y por ende, aumenta la posibilidad de adquirir una enfermedad de transmisión por alimentos. En México, la información respecto a la calidad microbiológica de los vegetales es limitada o nula, pues no se cuenta con datos suficientes sobre incidencia de enfermedades asociadas al consumo de ensaladas crudas, ni del comportamiento de microorganismos patógenos de importancia en vegetales (Fernández, 2000). La información derivada de los estudios realizados muestra que es necesario atender los problemas de manejo higiénico en los supermercados de la localidad, para prevenir y disminuir el riesgo de enfermedades por consumo de VMP. Dado que estos productos son fáciles de contaminar, se deben implementar medidas higiénicas desde que son cosechados y trasladados hasta su destino para lograr la calidad sanitaria adecuada.

## RECOMENDACIONES

Se deben realizar estudios que contemplen otros tipos de alimentos a base de VMP para la evaluación de su calidad higiénica y verificar la aplicación de la normatividad relativa a las prácticas higiénicas en la preparación de alimentos que se ofrecen en establecimientos fijos, con la finalidad de detectar el origen de los problemas sanitarios.

## AGRADECIMIENTOS

A Nora Elia Chacón Barajas y Ana Gabriela Galván Sotelo, estudiantes del programa de licenciatura de

nutrición de ICB de la UACJ por su contribución en la elaboración de los análisis microbiológicos de los vegetales.

## LITERATURA CITADA

Arrendo A., J. Bellido, M.R. Pac, J. Criado, M.A. Usera, I. Mesanza, F. González, R. Pérez y J.M. Cortés. (1998). “Brotos epidémicos de salmonelosis por consumo de huevos”. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 16 (9), 408-412.

Ávila-Quezada, G., E Sánchez, E Muñoz, L.R. Martínez, E. Villalobos. (2008). “Diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, México”. *Rev.ΦYTON*, 77, 129-136.

Castro Rosas, J., Rojas Olvera, M., Noguera Ugalde, Y., Santos López, E. M., Zuñiga Estrada, A. y Gómez Aldapa, C.A. (2006). “Calidad sanitaria de ensaladas de verduras crudas, listas para su consumo”. *Rev.Industria alimentaria/ alfa editores técnicos*, Julio/agosto.

Cedric N., Berger, Samir V., Sodha, Robert K. Shaw, Patricia M. Griffin, David Pink, Paul Hand, and Gad Frankel. (2010). “Fresh fruit and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens”. *Environmental Microbiology*, 12 (9), 2385–2397.

Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica (CENAVECE). (2012). Boletín epidemiológico 2012. Acceso en septiembre 2012. <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/dgae/boletin/indice-2012.html>.

Durán, M. A., Moreno, D. A. y Toledano, H. P. (1993). “El Control de la Higiene Alimentaria. Exposición Universal de Sevilla EXPO’92”. *Gac. Sanit.*, 7, 249-58.

Fernández, Escartin E. (2000). “Microbiología e inocuidad de los alimentos”. Editorial Universidad Autónoma de Queretaro .México, 915 p.

Fernández, Escartin, E. (1981). “Microbiología sanitaria Agua y alimentos”. Vol.1. Editorial EDUG, Universidad de Guadalajara. México. 965p.

Food and Drug Administration (FDA). (2007). Analysis & Evaluation of Preventive Control Measures for the Control & Reduction/Elimination of Microbial Hazards on Fresh & Fresh-Cut Produce, Chapter IV. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/SafePracticesforFoodProcesses/ucm090977.htm>. accesado: Febrero 11, 2010)

Ginestre, Pérez, M., Romero Añez, S., Rincón Villalobos, G., Castellano González, M., Ávila Roo, Y., Colina López, G., Perozo Mena, A. (2009)". Indicadores entéricos en vegetales frescos que se comercializan en mercados populares de Maracaibo". *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 29(1), 52-56.

ICMSF. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (2001). "Microorganismos de los alimentos ecología microbiana de los productos alimentarios. Editorial Acribia. Zaragoza". 585p.

Michanie, S. (1994). "Calidad microbiológica de los alimentos vendidos en las calles". *Rev. Alim. Latin.*, 203, 66-72.

Norma Oficial Mexicana NOM-109-SSA1-1994. (1994). "Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico". Secretaría de Salud, México.

Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994. (1994). "Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Secretaría de Salud, México.

Norma Oficial Mexicana NOM-112-SSA1-1994. (1994). "Determinación de bacterias coliformes". Técnica del número más probable. Secretaría de Salud, México.

Norma Oficial Mexicana NOM-114-SSA1-1994. (1994). "Bienes y servicios. Método para la determinación de Salmonella en alimentos". Secretaría de Salud, México.

Norma Oficial Mexicana NOM-145-SSA1-1995 apéndice B.2. (1995). "Determinación de bacterias coliformes, coliformes fecales y Escherichia coli por la técnica de diluciones en tubo múltiple". Secretaría de Salud, México.

Ramírez Mérida, L.G.; Morón de Salim, A. ; Alfieri Graterol, A. Y. ; Gamboa, O. (2009). "Frecuencia de Listeria monocytogenes en muestras de tomates (*Lycopersicum esculentum*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) frescos en tres supermercados de Valencia, Venezuela". *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Vol .59 (3), 318-324.

Rivera Jacinto, M., Rodríguez Ulloa, C., López Orbegoso, J. (2009). "Contaminación fecal en hortalizas que se expenden en mercados de la ciudad de Cajamarca, Perú". *Rev. Perú. med. exp. salud pública*, ene./mar. 2009, vol.26, no.1, p.45-48.

Vega González, M., Salgado Brito R., Pineda Flores, G. (2006). "Reducción de bacterias de origen fecal presentes en zanahoria, espinaca, cilantro y lechuga escarola, cultivadas en la zona de chinampas de Xochimilco". *Revista Investigación Universitaria*, 5(5),19-26.



## ARTÍCULO DE REVISIÓN

# Perspectivas de la agricultura

**\*Enrique Salazar Sosa<sup>1</sup>, Héctor Idilio Trejo Escareño<sup>1</sup>, Enrique Salazar Meléndez<sup>1</sup>,  
Rafael Zúñiga Valenzuela<sup>1</sup>, Ignacio Orona Castillo<sup>1</sup>, Jesús Luna Anguiano<sup>1</sup> y Juan P. Flores Margez<sup>2</sup>**

### INTRODUCCIÓN

La población mundial presenta un incremento continuo, de tal manera que para el 2050 se espera tener aproximadamente nueve billones de habitantes (UNFPA. 2004; Naciones Unidas, 2003), los cuales además de requerir alimentos para su consumo diario, demandarán productos lo más inocuos posible para lograr una buena salud y calidad de vida. Por lo anterior, se requiere que desde este momento se realicen cambios en los sistemas de producción, los cuales llevan el riesgo no solo de incrementar costos de producción, sino de no representar los productos más adecuados desde el punto de vista de inocuidad alimentaria. Es así como la agricultura orgánica es ya una alternativa viable y segura, no solamente desde el punto de vista de inocuidad, sino también como un sistema de producción holístico para la obtención de productos más rentables y seguros en cuanto a su calidad biológica.

Por otra parte, los recursos suelo y agua han sido utilizados en sistemas de producción convencional de una manera intensiva, sin tomar en cuenta su deterioro y baja fertilidad en el caso del suelo,

mientras que en cuanto al agua, su cantidad y método de aplicación no son los más adecuados, lo que ha contribuido a un uso y aprovechamiento ineficiente de ambos recursos. Por ello se debe regresar al suelo lo que se ha extraído a través del tiempo, utilizando abonos orgánicos y buenas prácticas agrícolas, entre otros: con respecto al agua, esta debe aplicarse en cantidad y distribución cuando la planta lo necesite, es decir, cambiando los métodos de riego tradicionales por gravedad a presurizados y más eficientes.

Palabras clave: Inocuidad, abonos orgánicos, biofertilizantes, *Cryptosporidium*.

Estos conceptos son parte de lo que la agricultura orgánica considera para la producción agrícola más eficiente y ecológicamente estable en una región. Es así como el crecimiento económico del sector orgánico se ha incrementado de 1996 a 2008, tanto en la superficie como productores dedicados a esta agricultura, y desde luego, el número de empleos y ganancias económicas netas. En México, los principales cultivos orgánicos se han incrementado, siendo el café el de mayor superficie y porcentajes con respecto a la superficie orgánica

<sup>1</sup> Universidad Juárez del Estado de Durango, Facultad de Agricultura y Zootecnia, Ap. Postal I-142, Gómez Palacio, Dgo., México.

\* Autor para correspondencia: fazujed@yahoo.com.mx.

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Plutarco Elías Calles # 1210, Fovissste Chamizal. Ciudad Juárez, Chihuahua, 32310, México.

total (Figura 1). Esto demuestra la preocupación y actitud de los productores orgánicos por este sistema de producción.

El estado de Chiapas es un ejemplo de cultivos orgánicos y organizaciones que se dedican a la certificación de la agricultura orgánica, siendo el café el de mayor impacto con 184 organizaciones de productores y el 82.14%, seguido por el cacao con 13 organizaciones y 5.8%.

El objetivo principal de este trabajo es describir el concepto de agricultura orgánica, sus alternativas, ventajas y alcances en regiones tropicales y su comparación con otras áreas del país.

### ***Principios de la agricultura orgánica (IFOAM, 2005)***

- Principio de la salud: La agricultura Orgánica debe sostener y promover la salud del suelo, planta, animal, persona y planeta como una sola e indivisible.
- Principio de la ecología: La agricultura Orgánica debe estar basada en sistemas y ciclos ecológicos vivos, trabajar con ellos, imitarlos y ayudar a sostenerlos.
- Principio de la equidad: La agricultura Orgánica debe estar basada en relaciones que aseguren equidad con respecto al ambiente común y a las oportunidades de vida.
- Principio de precaución: La agricultura Orgánica debe ser gestionada de una manera responsable y con precaución para proteger la salud y el bienestar de las generaciones presentes, futuras y el ambiente.

### ***Abonos orgánicos y biofertilizantes***

La parte más elemental de la nutrición vegetal son los abonos orgánicos y biofertilizantes en la agricultura orgánica tropical y de otras áreas. Sin embargo, se debe tener cuidado con la relación carbono/nitrógeno de cada abono orgánico, así como de sus estructuras bioquímicas, ya que, dependiendo de estos factores, será la disponibilidad de nutrientes en la planta, y desde luego, se debe

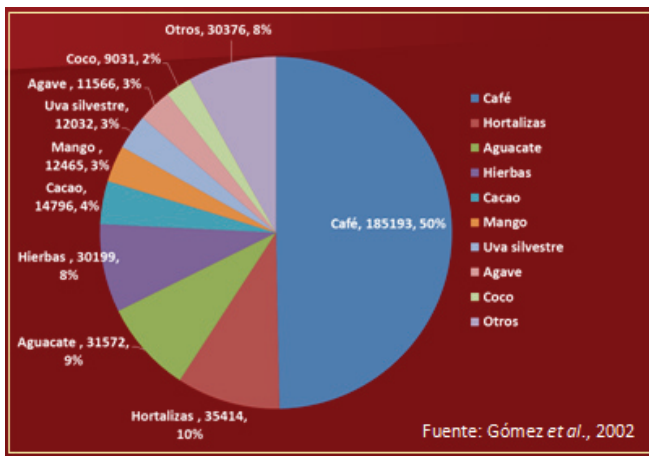
tener en mente que todos los nutrientes derivados de la descomposición y biodegradación de los abonos orgánicos estará disponibles para la planta y microorganismos, principalmente los que están en la rizósfera, que por lo general siempre están en estado de hambre y son mayoría en número que los pelos absorbentes de las plantas y demás conductos de absorción de iones por estas. Así los abonos orgánicos, en resumen, influyen además de nutrientes en la calidad del suelo, afectando sus características físicas, químicas y biológicas, además son posibles contaminantes de microorganismos patógenos como hongos, bacterias, actinomicetos y protozoarios como el *Giardia* y *Cryptosporidium* (Olivas-Enriquez *et al.*, 2011) entre otros.

### ***Diagrama conceptual del sistema de producción orgánica***

El diagrama para los sistemas de agricultura orgánico se presenta en la Figura 2. Este indica claramente todos los componentes más importantes que comprende la agricultura orgánica, desde luego también su certificación.

Algunas de las bacterias patógenas para humanos encontradas en abonos orgánicos son la *E. coli* 0157:H7, *salmonella* y *listeria*. El *Cryptosporidium parvum* y *Giardia lamblia* son parásitos zoonóticos distribuidos en todo el mundo incluyendo los países en vías de desarrollo, infectan a más del 20% de la población mundial y producen ooquistes resistentes al ambiente, sobreviviendo mucho tiempo en agua tratada (clorada) después de la potabilización, hasta por seis meses, y causa diarreas crónicas.

Dado lo anterior, todo abono orgánico para ser utilizado como fuente nutrimental o con otros fines en agricultura orgánica debe ser tratado con método activo y no pasivo para garantizar que todos los posibles patógenos que tenga sean aniquilados (Salazar *et al.*, 2011). Un método viable es la solarización con plástico que tenga alta transmisibilidad de energía, permitiendo así que en el abono orgánico las temperaturas alcancen niveles de más de 60 °C,

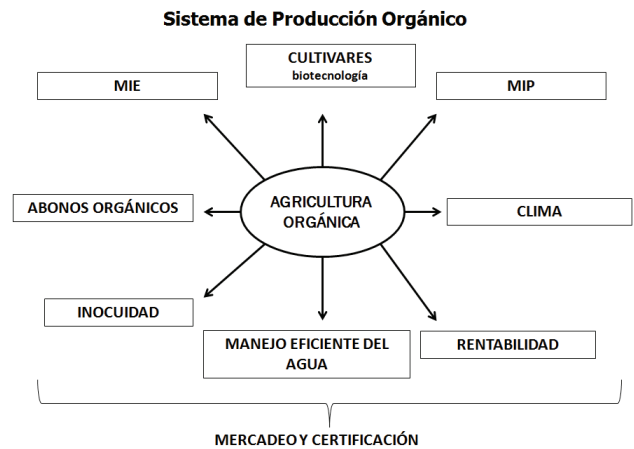


**Figura 1.** México, principales cultivos orgánicos 2007/08, (hectáreas y porcentajes con respecto a la superficie orgánica total).

y bajo estas condiciones más un determinado por ciento de humedad en el abono orgánico, entre 30 y 40% no habrá duda que en todo el perfil de la pila de solarización se eliminan todos los patógenos presentes (Vázquez-Vázquez *et al.*, 2011).

Los biofertilizantes se presentan en el mercado en un gran número de marcas, con diferentes ventajas para el productor, pero se debe tener mucho cuidado sobre su inocuidad y alcances, ya que algunos de ellos contienen microorganismos que vendrán a competir con los nativos que son mayoría y que pueden disminuir su eficacia, de tal manera que es preferible probarlos en campo y observar su eficacia en la nutrición vegetal antes de invertir cantidades económicas altas. Por otro lado, todas las compostas y otros abonos orgánicos que tengan un proceso deberán justificar su inocuidad presentando un análisis microbiológico completo.

Es común que un solo abono orgánico (estiércol, abono verde, vermicomposta, etc.) no tienen los nutrientes suficientes para satisfacer la demanda nutrimental de la planta, por lo que se deberá buscar la manera de combinarlos e inclusive utilizar micorrizas, ya que estas exploran área más amplia que las raíces de los cultivos permitiendo así, proporcionarle a la planta nutrientes necesarios para satisfacer sus necesidades.



**Figura 2.** Diagrama conceptual de la producción orgánica.

### Inocuidad

La comisión Codex Alimentarius<sup>1</sup> (CCA) define la inocuidad como la garantía de que los alimentos no causarán daño al consumidor cuando se preparen y/o consuman de acuerdo con el uso a que se destinan. La Organización Mundial de la Salud retoma esta definición en su manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos (OMS, 2007). Por lo tanto, un alimento es considerado sustancia o producto destinado a ser ingerido por los seres humanos o con probabilidades razonables de serlo, tanto si han sido transformados entera o parcialmente, como si no lo han sido. Así, un alimento inocuo es por lo tanto, aquel que está libre de agentes contaminantes que puedan dañar la salud de los consumidores de manera inmediata (por ejemplo, bacterias patógenas) o de mediano y largo plazo (micotoxinas, residuos de pesticidas, etc.). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentos (FAO), un contaminante es un agente biológico o químico, materia extraña u otra sustancia añadida de manera no intencional

<sup>1</sup> Es un órgano intergubernamental que se reúne cada dos años para adoptar proyectos de normas alimentarias preparadas por más de 20 comités especializados. El objeto de estas normas y textos afines es proteger la salud del consumidor y asegurar la aplicación de prácticas equitativas en el comercio de los alimentos. La Comisión del Codex fue establecida de manera conjunta a principios de los años 60 por la FAO y la Organización Mundial de la Salud (OMS).



a los alimentos o una propiedad de estos que pueda poner en peligro su inocuidad (FAO, 2004).

Los alimentos pueden contaminarse de manera natural o debido a malas prácticas en su manejo en cualquiera etapa desde la producción hasta su disposición final en la mesa del consumidor; puede suceder al entrar en contacto con el suelo, el agua de riego, la lluvia, el aire, algunos abonos orgánicos, agroquímicos, personas portadoras, materiales de empaque, animales domésticos y silvestres, maquinaria y equipo, entre otros elementos.

Lo inocuo es un atributo de calidad que, a diferencia de los externos o internos, está escondido, dificultando enormemente su control. La inocuidad es un área en la cual se pueden establecer normas o estándares obligatorios (Leos-Rodriguez *et al.*, 2008). En general, los contaminantes o peligros que pueden estar presentes en los alimentos se agrupan en: microbiológicos, químicos y físicos.

### ***Aspectos a considerar en la certificación de productos orgánicos***

Se debe entender que la lista más apropiada es respetar todos y cada uno de los “estándares” de la normatividad, es decir, del programa en el que se pretende lograr la certificación, entre estos programas, los más importantes son los de Estados Unidos (NOP-USDA), la Unión Europea (UE) y Japón (JAS). Las recomendaciones mínimas a cubrir antes de solicitar la certificación orgánica por primera vez son las siguientes:

#### **Parcela**

1. El terreno que se pretende certificar debe tener al menos tres años de operaciones 100% orgánicas. Es decir, tres años en los que no se hayan utilizado productos o prácticas no permitidas en la agricultura orgánica y con el uso continuo de sustancias, materiales y prácticas permitidas. Es indispensable contar con toda clase de comprobantes de esto: facturas, etiquetas, bitácoras, envases.
2. Debe de encontrarse en el terreno una ade-

cuada rotación y biodiversidad.

3. El terreno deberá contar con suficiente “zona de amortiguamiento” para estar protegido en contra de contaminaciones accidentales de parcelas convencionales vecinas.
4. No es obligatorio, pero se recomienda que esté cercado.
5. Además de las prácticas de manejo orgánico, se debe respetar normatividad de inocuidad y lo que se conoce como buenas prácticas agrícolas, como el hecho de contar con áreas de higiene adecuadas y alejadas del terreno de producción.
6. El terreno debe contar con letreros visibles que indiquen que es orgánico y que se deben respetar ciertas prohibiciones, por ejemplo: “no fumar”, “lavarse las manos antes de entrar”.

#### **Documentación**

1. Plan de Finca del año actual: programa de manejo considerando la mayor cantidad de detalles posible acerca del manejo nutrimental, el manejo de plagas y enfermedades, semillas y variedades, agua, etc. Uno de los aspectos más importantes del Plan de Finca es la rotación de cultivos y la biodiversidad.
2. De cada uno de los aspectos mencionados en el Punto 1 se deberá contar con su propia documentación. Por ejemplo:
  - 2.1. Del manejo nutrimental. Si se utilizan compostas se deberá contar con facturas de compra, certificaciones que hayan acompañado la compra, preferentemente con certificación orgánica, resultados de análisis, etc. En caso de que se elaboren en la propia finca, se deberá contar con las bitácoras de elaboración de la misma con registros diarios de temperatura, humedad, nombre del operador, etc. Si se usan abonos verdes también se deberá contar con bitácoras de producción o documentación de adquisición.
  - 2.2. Del manejo de plagas. Se deberá utilizar

y tener la documentación comprobante de la mayor cantidad de prácticas de manejo de plagas permitidas en la agricultura orgánica: liberación de enemigos naturales, aplicación de extractos botánicos, uso de atrayentes o repelentes permitidos, etc., y asimismo, contar con documentos comprobatorios de cada uno.

- 2.3. Lo mismo para todos los demás aspectos del manejo (Enfermedades, Maleza, Semillas, Manejo de Postcosecha y Almacenaje, etc.).
3. Historiales de campo de los últimos tres años. Se deberá incluir toda la información en forma similar al plan de finca; es decir, todos los detalles posibles del manejo de nutrición, plagas, etc.
4. Mapas de parcela de todas las parcelas (mostrando uso de tierra colindante e identificación de parcelas).
5. Etiquetas de productos e insumos.
6. Documentación de semillas.
7. Análisis de suelo y Análisis foliares.
8. Análisis de residuos en vegetales.
9. Análisis de agua.
10. Bitácoras de manejo de equipos y maquinaria (registros de limpieza y productos utilizados).
11. Cuando se solicite la certificación a alguna Agencia de Certificación, esta solicitará el llenado de varios formatos con toda clase de información respecto al uso y manejo completo de la parcela. Solicitará también declaraciones juradas acerca de diferentes aspectos como No-uso de organismos genéticamente modificados, etc.

#### Personal de campo

1. Los encargados del trabajo de campo deben conocer los fundamentos y la normatividad orgánica.
2. Los encargados de campo deben contar con

una copia de los estándares del programa para el que se desea solicitar la certificación.

#### BIBLIOGRAFÍA

FAO (Food and Agriculture Organization), (2004). “Mejoramiento de la calidad e inocuidad de las frutas y hortalizas frescas: un enfoque práctico y manual”. *Manual para multiplicadores*, Roma.

IFOAM. 2005. “Los principios de la Agricultura Orgánica”. On line en: [http://www.ifoam.org/about\\_ifoam/pdfs/POA\\_folder\\_spanish.pdf](http://www.ifoam.org/about_ifoam/pdfs/POA_folder_spanish.pdf). Consultado el 3 de diciembre del 2007.

Leos-Rodríguez J.A., Salazar S.E., Fortis H.M., López M. J.D., (2008). “Inocuidad Alimentaria”. *Publicación Especial*. FAZ-UJED. 153p.

Naciones Unidas, (2003). “World Population Prospects: The 2002 Revision”. Nueva York: División de Población, Departamento de Asuntos Económicos y Sociales, Naciones Unidas; y Naciones Unidas. 2003. The Impact of AIDS (ESA/P/WP.185). Nueva York: División de Población, Departamento de Asuntos Económicos y Sociales, Naciones Unidas.

Olivas-Enríquez Evangelina, Juan Pedro Flores-Margez, Mónica Serrano-Alamillo, Eréndira Soto-Mejía, Jaime Iglesias-Olivas, Enrique Salazar-Sosa y Manuel Fortis-Hernández, (2011). “Indicadores fecales y patógenos en agua descargada al río bravo”. *Terra Latinoamericana*, 29:4, 449-457.

OMS (Organización Mundial de la Salud), (2007). “Manual sobre las cinco claves para la inocuidad de los alimentos”. Departamento de inocuidad de los alimentos, zoonosis y enfermedades de transmisión alimentaria, Ginebra.

Salazar, Sosa E., Manuel Fortis Hernández, José Dimas López-Martínez, Claudia L. Muños Alvarado y Marie E. Lara Macías, Jesús Pilar Amado Álvarez, Cirilo Vázquez Vázquez, Héctor Idilio Trejo Escareño y José Antonio Chavarría Galicia, (2011). “Comparison among solarization kind of

pailles and their impact in the control of *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia*”. *International Research Journal of Agricultural Science and Soil Science*. 1(9) 355-364.

UNFPA. 2004. “Working from Within: Culturally Sensitive Approaches in UNFPA Programming”. Nueva York. UNFPA.

Vázquez-Vázquez C, Gallegos-Robles MA, Fortis-Hernández M, Salazar-Sosa E, López-Martínez JD, Trejo-Escareño HI, García-Hernández, J.L. (2011). “Cattle manure solarization with transparent plastic to pathogens control”. *Journal of Research in Biology*. 7: 528-534.

# Instructions to Authors

The Editorial Board of the journal *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, invites authors to submit manuscripts under three categories: research articles, short manuscripts (which will be short articles showing results of undergraduate thesis and written by the undergraduate students, reviewed by their advisers), and invited reviews. Manuscripts should be sent to the Editor in Chief, according to the following specifications:

1. Papers should be from original research and with scientific content.
2. Once published, articles cannot be published elsewhere in the same form, in any language, without the consent of UACJ publishers.
3. Papers may be: research articles, short manuscripts and invited reviews, belonging to the fields of natural or exact sciences (biology, life sciences, chemistry, mathematics, physics, etc). Final decisions concerning acceptability of the manuscripts will be made by the Editorial Board.
4. Papers may be written in English, Spanish or any Romance language. If a translation to Spanish is submitted, the text in original language should also be provided. Abstracts written both in Spanish and English should also be provided.
5. Originals are not sent back.
6. If the author fails to respond to the final comments of the Editorial Board of *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, the journal can make editing changes which do not modify the original content of the article.
7. Papers should meet the following format:
  - Short and concise title, written in both English and Spanish or Romance languages.
  - A brief abstract between 40 and 150 words, which should also be written in both languages.
  - Name and nationality of authors.
  - Affiliation of authors, including highest degree and research field of all authors.
  - Author affiliations should be included as footnotes starting from number 1.
  - Ex. Ramírez, J. L.<sup>1</sup> y Martínez, R.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Universidad de Puebla, México.  
<sup>2</sup> Universidad de Santiago Compostela, España.
  - Footnotes should be posted at the bottom left side of the page where they are mentioned.
  - Specify type of paper, *i.e.* Research article, Short manuscript or Invited review.
  - Postal address of the corresponding author, which includes: telephone, fax and e-mail. Corresponding author should be highlighted with an asterisk (\*) mark.
  - Manuscripts should be submitted in triplicate, printed in one side only, letter or A4 size paper, double-spaced, with margins of 3 cm.
  - A disk copy of the manuscript in WinWord 6.0 or higher, should also be provided. Figures and tables should be sent in Excel or WinWord 97, each saved in a different file.
  - For Research articles, manuscript length should be between 10 and 30 pages, plus figures and tables. Short manuscripts should be shorter than 10 pages, plus figures and tables.

- Figures and tables should be mentioned in the text, and numbered in arabic numbers. The software in which they were created should be mentioned.
- Figure and table legends should be concise and understandable, and should be listed at the end of the manuscript (after references).
- Bibliographic references should be quoted in the text by writing the last name of the first author and publication year between parenthesis. References will be included at the end of the text, ordered alphabetically.
- In references for book titles, capital letters should be used only at the beginning of the title and on authors names.
- When using acronyms, the full meaning of them should be provided when mentioned for the first time.
- Bibliographic references should be formatted as follows:

*Book references:*

**Author's last name, first name (year).** *Book title.*  
City: Editorial, total pages.

Ex:

**Foucault, Michael (1984).** *Las palabras y las cosas.* México: Siglo XXI, 200 pp.

*Book section references:*

**Author's last name, first name (year).** "Section title". En: Editor's name and last name (ed.). *Book title.* City: Editorial, pages.

Ex:

**Levine, Frances (1991).** "Economic Perspectives on the Comanchero Trade". En: Catherine A. Spielmann (ed.). *Farmers, Hunters and Colonists.* Tucson, AZ: The University of Arizona Press, 155-169.

*Journal references:*

**Auhor's last name, first name's initials; other authors (year).** "Article's title". *Journal abbreviation,* volume, pages.

Ex:

**Sagara, Y., Fernández-Belda, F., De Meis, L. e Inesi, G. (1992).** "Characterization of the Inhibition of Intracellular Ca<sup>2+</sup> Transport ATPases by Thapsigargin". *J. Biol. Chem.*, 267, 12606-12613.

**Rivas-Cáceres, R. (1999).** "Médanos de Samalayuca. Un urgente reclamo, una estrategia emergente". *Ciencia en la Frontera*, 1, 29-32.

# Normas de publicación para los autores

El Comité Editorial de la revista *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, acoge con gusto propuestas de artículos para su publicación, bajo dos modalidades: artículos de investigación y artículos síntesis de investigación o Revisiones sobre tópicos de ciencia en general. Los manuscritos pueden estar derivados de tesis de pregrado o posgrado. Las normas establecidas para la publicación son las siguientes:

1. Los trabajos deberán ser de calidad científica e inéditos avalados por un investigador de carrera.
2. Una vez publicado el artículo, los derechos de autor pasan a la UACJ.
3. Los artículos pueden ser de investigación original, revisiones invitadas (actualizaciones en temas de investigación) o comunicaciones breves (avances de investigación), los cuales deberán referirse a las áreas de ciencias naturales y exactas, ajustándose al dictamen del Comité Editorial, el que evalúa su contenido científico de calidad y decide sobre la pertinencia de su publicación.
4. Los trabajos pueden ser enviados para su publicación en idioma inglés o español. Si se envía una traducción al español, hay que adjuntar el texto también en forma original. Los artículos deberán incluir resumen en español seguido de uno en inglés (y viceversa).
5. No se devuelven los originales.
6. En caso de que el autor no responda después de haberse presentado las correcciones o dudas de su trabajo, la revista *Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ*, se reserva el derecho de hacer los cambios de edición sin modificar el contenido original de la obra.
7. Los trabajos deben ajustarse a los siguientes requisitos (de no cumplirse con ellos, no se considerarán para su publicación):
  - Título del trabajo, breve y conciso en inglés y español.
  - Un resumen del contenido de una extensión aproximada de 40 palabras como mínimo y 150 palabras como máximo, que deberá estar en inglés y español.
  - Nombre de los autores. De la manera tal y como los autores desean que aparezca en la versión impresa.
  - Adscripción de todos los autores, incluyendo el máximo grado de estudios y área de especialización.
  - La institución de adscripción de los autores participantes deberá incluirse como un pie de página, comenzando con el número 1.
  - Ejemplo: Ramírez, J. L.<sup>1</sup> y Martínez, R.<sup>2</sup>  
<sup>1</sup> Universidad de Puebla, México.  
<sup>2</sup> Universidad de Santiago Compostela, España.
  - Naturaleza del trabajo: artículo de investigación, avance de investigación, etcétera.
  - Dirección para correspondencia que incluya: teléfono, fax y correo electrónico. El nombre del autor al cual se dirigirá la correspondencia debe indicarse con un asterisco (\*) y la leyenda “Autor para correspondencia”.
  - La extensión del trabajo deberá ser de un mínimo de 10 cuartillas de texto más las figuras, y de un máximo de 30 cuartillas más las figuras para un artículo de investigación. La extensión de los avances de investigación deberá ser de un máximo de 10 cuartillas de texto más las figuras.
  - Las ilustraciones, cuadros y fotografías deberán referirse dentro del texto, enumerándose en el orden que se citan en el mismo, e indicar el programa de cómputo en el que están elaborados.



- Los pies de figura deberán ser explícitos sin necesidad de leer el texto principal. Deberán incluirse en un listado después de la bibliografía.
- Las referencias bibliográficas deben asentarse de la forma convencionalmente establecida en español, indicando éstas en el cuerpo del texto con los apellidos del primer autor y año de publicación entre paréntesis, y los datos bibliográficos al final del escrito. La bibliografía se presenta al final del artículo por orden alfabético.
- Al citar los títulos de libro, se deben utilizar mayúsculas solo al inicio y en nombres propios.
- Al menos la primera vez, debe proporcionarse la equivalencia de las siglas empleadas en el texto, en la bibliografía y en los cuadros y las figuras.
- Distribuir los datos de las referencias bibliográficas de la siguiente manera:

*Referencia de libro:*

**Apellido(s), nombre(s) del autor (año).** *Título del libro.* Lugar: Editorial, número de páginas totales.

Ejemplo:

**Foucault, Michael (1984).** *Las palabras y las cosas.* México: Siglo XXI, 30-45.

*Referencia de capítulo de libro:*

**Apellido(s), nombre(s) del autor (año).** “*Título del capítulo*”. En: Nombre(s) y apellido(s) del editor (ed.). *Título del libro.* Lugar: Editorial, páginas.

Ejemplo:

**Levine, Frances (1991).** “*Economic Perspectives on the Comanchero Trade*”. En: Catherine A. Spielmann (ed.). *Farmers, Hunters and Colonists.* Tucson, AZ: The University of Arizona Press, 155-169.

*Referencia de revista:*

**Apellido(s) del autor, inicial(es); otros autores (año).** “*Título del artículo*”. *Nombre de la revista,* abreviado según el Index Medicus journal abbreviations: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>, volumen, páginas.

Ejemplos:

**Sagara, Y., Fernández-Belda, F., De Meis, L. e Inesi, G. (1992).** “Characterization of the Inhibition of Intracellular Ca<sup>2+</sup> Transport ATPases by Thapsigargin”. *J. Biol. Chem.*, 267, 12606-12613.

**Rivas-Cáceres, R. (1999).** “Médanos de Samalayuca. Un urgente reclamo, una estrategia emergente”. *Ciencia en la Frontera*, 1, 29-32.

# *SOBRE LA REMISIÓN DE ARTÍCULO Y EL PROCESO EDITORIAL*

Remitir el original por correo electrónico a:

*ciencia.frontera@uacj.mx*  
con atención al Comité Editorial

Indicar los nombres y datos de contacto de 2 revisores que se sugieran para dictaminar el artículo.

Los datos de contacto son:

Nombre completo del revisor.

Adscripción: institución, dependencia, departamento, grupo de trabajo.

Correo electrónico.

Números de teléfono y fax.

Dirección con código postal.

- El Comité Editorial acusará recibo del trabajo mediante correo electrónico. No se extienden oficios por la recepción del manuscrito. La recepción del manuscrito no garantiza su publicación.
- Posteriormente a un tiempo de dictamen de un mes máximo, el Comité Editorial remite, vía correo electrónico, el trabajo a sus autores, para que realicen las modificaciones que hubiera con base en las acotaciones de los dictaminadores.
- Los autores remitirán la segunda versión del ma-

nuscrito en un plazo máximo de 2 semanas y el Comité Editorial acusa recibo mediante correo electrónico. En caso de no recibir la versión corregida en este plazo, el Comité se reserva el derecho de descartar la publicación y su posterior remisión se considerará como un nuevo proceso.

- No se emitirán oficios por la recepción de los trabajos corregidos.
- Posteriormente a la recepción del artículo en su versión definitiva, el Comité Editorial emite un acuse de recibo por correo electrónico y anunciará el proceso de revisión de galeras y publicación. Durante éste, el Comité Editorial trabaja en conjunto con la Subdirección de Publicaciones de la UACJ.
- No se emiten oficios por cada artículo aceptado para publicación.
- Cada fascículo se incluye en la página de publicaciones periódicas de la UACJ, bajo la dirección:

<http://www.uacj.mx/difusion/publicaciones/Paginas/cienciasdelafrontera.aspx>

- La versión impresa de cada fascículo, se procesa por la Subdirección de Publicaciones. Se obsequia un ejemplar por artículo como regalías.

