

TRABAJO PROFESIONAL

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERA BIOQUÍMICA
QUE PRESENTA:

RITA CAROLINA ARELLANO SUÁREZ

CON EL TEMA:

**“EFECTO DEL USO DE FERTILIZANTE Y
COMPOSTA EN LA PRODUCCIÓN DE FENOLES Y
FLAVONOIDES EN PLANTAS DE FRIJOL
(*Phaseolus vulgaris* L.) POR EL MÉTODO
ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA-
VISIBLE.”**

MEDIANTE:

OPCION I
(TESIS PROFESIONAL)

TUXTLA GUTIERREZ, CHIAPAS

MAYO 2016

Dedico este trabajo a Dios.

A mis padres por todo su amor, su apoyo sus enseñanzas, su esfuerzo y por haberme brindado la oportunidad de existir.

A mis queridos hermanos por su amistad, su cariño y por la alegría que me han brindado.

A mi hijo Jesús por ser la alegría de mi vida y mi motivación para crecer profesionalmente.

AGRADECIMIENTOS

A todos mis profesores del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez quienes contribuyeron en mi educación.

A mi asesor de tesis Dr. Joaquín Adolfo Montes Molina, por su asesoría, apoyo y dedicación durante el desarrollo de este trabajo.

A mis revisores de tesis el Dr. Víctor Manuel Ruiz Valdiviezo, el Dr. Federico Antonio Gutiérrez Miceli y la Dra. Rocio Meza Gordillo por sus comentarios y aportaciones que enriquecieron este trabajo.

Sin distinción alguna, el mayor agradecimiento a los antes mencionados, donde además de una educación de calidad, me llevo muchas otras experiencias que me han hecho crecer como persona y que han dejado huella en mi camino por esta vida.

INDICE

	PAGINA
INDICE	ii
INDICE DE FIGURAS	v
INDICE DE CUADROS	vii
RESUMEN	viii
I.-INTRODUCCION.	1
II.-OBJETIVOS	3
2.1.-OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	3
III.-HIPÓTESIS.....	3
IV.-JUSTIFICACIÓN.....	4
V.-MARCO TEORICO	5
5.1.- Uso de fertilizante y composta en la agricultura.....	5
5.2.- Origen, descripción y clasificación botánica.....	9
5.3.- Ciclo de nitrógeno.	13
5.4.- Ciclo del potasio.....	16
5.5.- Ciclo del fosforo.	18
5.6.- Antioxidantes naturales.....	20
5.6.1.- Los compuestos fenólicos.	21
5.6.2.- Principales clases de compuestos fenólicos.....	21
5.6.3.- Flavonoides.	22
5.7.1.-Determinación de fenoles totales de Folinciocalteu.....	25
5.7.2.-Determinación de flavonoides por el método de tricloruro de Aluminio. 26	
5.8.- Carotenos y licopenos	27
5.9.- Enzima deshidrogenasa en el suelo.	32
VI.- METODOLOGIA.....	34
6.1.-Toma de muestra.....	34

6.2.- Muestreo.....	35
6.3.- Trabajo de laboratorio.....	36
6.3.1.- Capacidad de retención de agua.....	36
6.3.4.-Conductividad eléctrica.....	39
6.3.5.- Humedad.....	40
6.4.- Cuantificación de la enzima deshidrogenasa.....	41
6.5.- Cuantificación de carotenos y licopenos.....	42
6.6.-Cuantificación de fenoles y flavonoides.....	43
VII RESULTADOS Y DISCUSION.....	45
7.1.-Análisis fisicoquímicos del suelo.....	45
7.2.- Análisis de crecimiento y biomasa.....	47
7.3.-Producción de fotosintatos.....	63
7.4.-Produccion de deshidrogenasa.....	66
7.5.-Concentraciòn de carotenos y licopenos.....	68
7.6.-Concentraciòn de fenoles y flavonoides.....	72
XIII.-CONCLUSION.....	76
IX.- BIBLIOGRAFIA.....	78
X.- ANEXOS.....	84

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo del nitrógeno.....	15
Figura 2. El ciclo del potasio.....	18
Figura 3. El ciclo del fósforo.	20
Figura 4. Estructura básica de los flavonoides.	22
Figura 5. Ruta de síntesis de compuestos fenólicos.	24
Figura 6.Estructura química del licopeno	27
Figura 7.Estructuras químicas de la luteína y violaxantina.....	28
Figura 8.Estructura del β -caroteno.....	28
Figura 9.Ruta de síntesis de compuestos carotenoides.....	31
Figura 10.Muestreo al azar. Fuente Aleo y Toribio, 2007.....	34
Figura 11.Diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones.....	35
Figura 12. Anova simple para la variable longitud de la planta.	47
Figura 13.Anova simple para la variable de longitud del follaje.....	49
Figura 14.Anova simple para la variable de diámetro del tallo.	50
Figura 15.Anova simple para la variable de largo de la raíz.....	51
Figura 16.Anova simple para la variable de peso de la planta.	53
Figura 17.Anova simple para la variable de peso del follaje.	54
Figura 18.Anova simple para la variable de peso de la raíz.....	55
Figura 19.Anova simple para la variable de número de vainas.	57
Figura 20.Anova simple para la variable de número de semillas.	58
Figura 21.Anova simple para la variable de peso de semillas.....	60
Figura 22.Anova simple para la variable de número de semillas sobre vainas.	62
Figura 23.Anova simple para la variable del porcentaje de clorofila total.....	63
Figura 24.Dinámica de producción del porcentaje de clorofila en los días medidos.	65

Figura 25. Anova simple para la variable producción de deshidrogenasa total.	67
Figura 26. Anova simple para la variable concentración de carotenos.	69
Figura 27. Anova simple para la variable concentración de licopenos.	71
Figura 28. Anova simple para la variable de concentración de fenoles.	72
Figura 29. Anova simple para la variable de concentración de flavonoides.	74

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación, símbolo, forma absorbida y síntomas de la deficiencia de los nutrimentos. Ramírez 1998.....	6
Cuadro 2. Clasificación de compuestos fenólicos.	22
Cuadro 3. Capacidad de retención de agua.	37
Cuadro 4. Análisis de textura.	38
Cuadro 5. Análisis de pH.....	39
Cuadro 6. Análisis de Conductividad eléctrica.	40
Cuadro 7. Análisis de humedad.	41
Cuadro 8. Actividad de la deshidrogenasa.....	42
Cuadro 9. Parámetros fisicoquímicos, humedad, textura, pH, conductividad eléctrica y CRA.....	45

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la plataforma de capacitación del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez. Bajo un diseño tratamental de bloques completos al azar, con tres repeticiones. El cultivo se realizó en la temporada primavera-verano, mediante monocultivo de frijol, la semilla de frijol negro Grijalva fue proporcionado por la INIFAP-CCH. El cultivo fue fertilizado con 90 Kg/Ha de DAP aplicando el 100 % a los 15 dde. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto del uso de fertilizante y composta en la producción de fenoles y flavonoides en plantas de frijol negro Grijalva mediante el método de espectrofotometría ultravioleta-visible.

La determinación de fenoles se llevó a cabo, por el método de Folinciocalteu; los flavonoides se determinaron por el método de tricloruro de aluminio; los análisis fueron realizados en el laboratorio de biotecnología del mismo instituto. Se realizaron los análisis correspondientes para obtener los valores fisicoquímicos del suelo, así como también la producción de fotosintatos, la producción de la enzima deshidrogenasa, análisis de crecimiento y biomasa. La producción de la enzima deshidrogenasa, el tratamiento con fertilizante mostro 33 % más en relación a los otros tratamientos. El contenidos de licopenos y carotenos las plantas tratadas con composta mostraron diferencia significativa con respecto a las plantas tratadas con fertilizante. En el análisis estadístico para la variable concentración de fenoles, los tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo, las plantas tratadas con fertilizante tuvieron de un 7 a 8 % más de concentración de fenoles que las plantas con los otros tratamientos. Las plantas de frijol tratadas con composta tuvieron diferencia significativa en la producción de flavonoides, con respecto a los otros tratamientos.

I.-INTRODUCCION.

La secretaria de agricultura dice “los suelos contienen todos los elementos esenciales que las plantas requieren para su desarrollo y reproducción” sin embargo; en la mayoría de los casos, no en las cantidades suficientes para obtener rendimientos altos y de buena calidad, por lo que es indispensable agregar los nutrimentos por medio de fertilizantes.

Reyes en el 2007 dijo que el uso de fertilizantes se ha vuelto indispensable debido a la baja fertilidad de la mayoría de los suelos, un suelo infértil produce menos, tiene menor cubierta vegetal y está más expuesto a la erosión. Por lo que hacer uso adecuado de ellos es importante para una agricultura sostenible.

Por otro lado Puente en el 2006 dijo también en la actualidad se emplea el uso de la composta la cual es el resultado de un proceso de biodegradación de materia orgánica llevado a cabo por organismos y microorganismos del suelo bajo condiciones aeróbicas. Como resultado de la acción de estos organismos, el volumen de desperdicios se reduce entre un 50 y 85%. Este proceso ocurre en la naturaleza y se considera una forma natural de reciclaje.

El frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) tiene sus orígenes en América latina y México desde la época precolombina basando su alimentación en maíz como fuente de carbohidratos y el frijol como fuente de proteína. Actualmente el frijol conserva un papel importante en la dieta de los mexicanos (Flores 2015).

En años recientes ha comenzado a investigarse debido a la presencia compuestos que confieren pigmentación, estos compuestos son considerados antioxidantes. Numerosos compuestos con capacidad antioxidantes como carotenos y compuestos fenólicos, principalmente flavonoides y ácidos fenólicos se encuentran en frutas y vegetales. Aumentar el consumo de estos se ve asociado con una

disminución en el riesgo de padecer enfermedades degenerativas. Los antioxidantes son moléculas, capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas e inhibir reacciones de oxidación haciéndolos ellos mismos (Vitale et al, 2010).

Evidencia clínica y experimentos han demostrado que los radicales libres son esenciales en la fisiología normal del ser humano, pero también acelera el proceso de envejecimiento y son mediadores de la degeneración celular en diferentes etapas de algunas enfermedades. La identificación, cuantificación y extracción de los flavonoides tiene gran interés debido a que se ha reportado que poseen propiedades benéficas para la salud anticancerígenas, cardiotónicas, antitrombóticas, vasculares, disminuyen el colesterol, contribuyen en la protección del hígado, entre otras (Robards et al, 1999).

El presente trabajo tiene la finalidad de determinar los compuestos fenólicos que se producen en las plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en las cuales se implementó el uso de fertilizante y composta para mejorar su crecimiento.

II.-OBJETIVOS

Evaluar el efecto que produce la aplicación de fertilizante Fosfato Diamónico (DAP) y composta sobre plantas de frijol.

2.1.-OBJETIVOS ESPECIFICOS

Determinar la producción de fenoles y flavonoides en plantas de frijol cultivadas en suelos con fertilizante Fosfato Diamónico (DAP) y composta.

Analizar los compuestos de pigmentación carotenos y licopenos en plantas de frijol utilizando fertilizante Fosfato Diamónico (DAP) y composta en plantas de frijol.

Determinar la producción de la enzima deshidrogenasa en suelos con fertilizante Fosfato Diamónico (DAP) y composta en plantas de frijol.

III.-HIPÓTESIS

Adicionar fertilizante y composta a suelos de cultivo de frijol, aumenta la producción de fenoles y flavonoides.

IV.-JUSTIFICACIÓN

La agricultura tiene una gran importancia en nuestro país y en nuestro estado por ello se ha vuelto de gran interés la investigación de nuevos métodos de cultivo para cuidado del medio ambiente, siendo el suelo un elemento esencial.

Esto hace que el uso de fertilizante aumente ya que existe la necesidad de obtener mayor rendimiento de las cosechas, aunado a eso también se ha optado por el uso de la composta para enriquecer la fertilidad del suelo proporcionándole a las plantas mejores condiciones para su desarrollo.

El interés bioquímico del presente trabajo es cuantificar la producción de fenoles y flavonoides que son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas. Además, actúan como defensa (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta. Los fenoles se encuentran casi en todos los alimentos de origen vegetal. Tiene propiedades benéficas para la salud, capacidad para precipitar con metales, alcaloides y proteínas por lo que se consideran astringentes y por lo tanto antidiarreicos. En la industria se utilizan para la fabricación de tintas, se emplean en la industria textil por su capacidad de reaccionar con las sales férricas, los cuales dan lugar a productos negro-azulados adecuados para tintes. En alimentación, los taninos originan el característico sabor astringente a los vinos tintos. Las propiedades de precipitación de los taninos son utilizadas para limpiar o clarear vinos o cerveza.

Es por ello que a través de este estudio se pretende analizar y cuantificar la producción de fenoles y flavonoides, enriqueciendo la fertilidad del suelo a través de fertilizante y composta, corroborando la utilidad y los beneficios que se logren obtener en los cultivos y así lograr un mayor resultado, sin afectar al medio ambiente.

V.-MARCO TEORICO

5.1.- Uso de fertilizante y composta en la agricultura

Fertilizante.

Los fertilizantes proveen nutrientes que los cultivos necesitan, se pueden producir más alimentos y cultivos comerciales, de mejor calidad y se puede mejorar la baja fertilidad de los suelos que han sido sobreexplotados. Todo esto promoverá el bienestar de su pueblo, de su comunidad y de su país (FAO 2002).

La FAO estima que durante el período 1995–1997 alrededor de 790 millones de personas en el mundo en desarrollo no tenía suficiente para alimentarse. El número ha decaído en los años recientes de un promedio de alrededor de ocho millones de personas por año. En el año 2015, si el ritmo no fuera aumentado, habría aún 600 millones de personas hambrientas.

En los países en desarrollo, la mayoría de los agricultores activos del sector de producción de alimentos son agricultores de pequeña escala que forman parte de la pobreza rural. La introducción de nuevos sistemas agrícolas y de tecnologías mejoradas es muy importante para ellos, dado que la mejora de la productividad resulta no sólo en más alimentos sino también en más ingreso (FAO 2002).

En consecuencia, las actividades agrícolas tienen dos objetivos principales:

1. suministrar a la población creciente de su país (o también a la de otros países) con las cantidades crecientes de alimentos y de fibras necesarias.
2. proveer un ingreso satisfactorio para el agricultor y su familia.

Tipos de fertilizantes:

Los fertilizantes se aplican para subsanar las deficiencias de nutrimentos primarios, secundarios y con menor frecuencia para micronutrientes. Las deficiencias se pueden diagnosticar visualmente; sin embargo, se deben con el análisis químico de la planta.

Cuadro 1. Clasificación, símbolo, forma absorbida y síntomas de la deficiencia de los nutrimentos. Ramírez 1998

Clasificación	Nombre y símbolo	Forma absorbida	Sistema de deficiencia
Sin clasificación	Carbono (C)	CO ₂	
	Hidrogeno (H)	H ₂ O	
	Oxígeno (O)	H ₂ O, O ₂	
Primarios	Nitrógeno (N)	NH ₄ ⁺ , NO ₃	Clorosis en las hojas viejas
	Fosforo (P)	H ₂ PO ₄ ⁻ , HPO ₄ ⁻	Hojas con margen color purpura
	Potasio (K)	K ⁺	Hojas con margen cloróticos
Secundarios	Calcio (Ca)	Ca ⁺⁺	Achaparramiento y raíces cortas
	Magnesio (Mg)	Mg ⁺⁺	Hojas con clorosis intervenal
	Azufre (S)	SO ₄ ⁻ , SO ₂	Hojas jóvenes cloróticas y poco desarrolladas
Micronutrientes	Hierro (Fe)	Fe ⁺⁺ , Fe ⁺⁺⁺	Hojas con clorosis intervenal
	Manganeso (Mn)	Mn ⁺⁺	Hojas jóvenes cloróticas y poco desarrolladas
	Boro (B)	H ₃ BO ₃	Hojas con clorosis intervenal
	Zinc (Zn)		Clorosis intervenal
	Cobre (Cu)	Zn ⁺⁺	Poco crecimiento apical y puntas cloróticas
	Molibdeno (Mo)		Hojas jóvenes con clorosis intervenal
	Cloro (Cl)	Cu ⁺⁺	Hojas jóvenes amarillas y poco desarrolladas
	*	MoO ₄ ⁻	Hojas con clorosis y achaparramiento
		Cl ⁻	Hojas marchitas cloróticas y raíz corta

*Algunos elementos como Co, Va, I, Fl, Si y Al se consideran benéficos para la planta.

- **Criterios de selección.**

Los fertilizantes se deben seleccionar en función de sus disponibilidad, costo, concentración, ion acompañante, índice salino, índice de acidez, facilidad de manejo y compatibilidad para ser mezclas (Reyes 2007).

Como fuente de N, la urea es económicamente competitiva debido a su alta concentración de N. El MAP Y DAP es también altamente competitivos por su alta concentración. El fosfato natural es el más económico, pero su baja solubilidad lo hacen poco competitivo excepto como mejorador de suelos. El KCl se recomienda cuando el Cl no afecta al cultivo al fertilizar, de lo contrario se deberá usar sulfato de potasio. El S puede ser deficiente en algunos suelos. En estos casos, en la elección se deben considerar las fuentes que contengan dichos nutrimentos. Lo mismo debe observarse para suelos con deficiencias de Ca y/o Mg (Reyes 2007).

- **Fosfato Diamónico DAP.**

El Fosfato Diamónico (DAP) es un fertilizante complejo granulado para aplicación al suelo con una alta concentración integral de Nitrógeno y Fósforo (18-46-00). Es un producto que está siendo muy usado y preferido por los agricultores, especialmente en la regiones agrícolas donde predominan los suelos de origen calcáreos o suelos alcalinos (Ficha técnica 2015).

- **Comportamiento en el Suelo.**

El Fosfato Diamónico DAP es considerado un fertilizante como fuente de Fósforo, sin embargo, la presencia de Nitrógeno en esta fórmula compleja, tiene un efecto sinergizante, ya que favorece al aprovechamiento de este macro elemento (P). Este efecto es debido a que el Amonio (NH_4) influye significativamente sobre la disponibilidad y absorción del Fósforo (P_2O_5) (Ficha técnica 2015).

El Amonio en altas concentraciones reduce las reacciones de fijación del fosforo haciéndolo disponible para la planta (Ficha técnica 2015).

- **Recomendaciones**

Por su alto aporte de nutrientes primarios, el Fosfato Diamónico (DAP) es un fertilizante complejo ideal para ser aplicado solo o en mezclas. (Ficha técnica 2015).

Dado su alto aporte de Fosforo (46%) es un componente imprescindible para la elaboración de fórmulas balanceadas de fertilización (mezclas físicas) (Ficha técnica 2015).

El Fosfato Diamónico (DAP) es recomendable ser aplicado en los programas de fertilización de manera especial en las etapas de establecimiento de los cultivos (siembra y/o trasplante), ya que por tener solo una molécula de amonio, este producto es menos agresivo con las semillas durante el proceso de germinación y sobre plántulas recién trasplantadas. (Ficha técnica 2015).

Composta.

En la agricultura ecológica se demanda ampliamente la composta para ser aplicado en sus cultivos, debido a que uno de sus objetivos prioritarios es el mantenimiento de la fertilidad del suelo y su actividad biológica y para ello se hace necesario la incorporación de materia orgánica. Por otra parte, una de las fuentes de esta materia orgánica que tradicionalmente ha sido el estiércol, es cada vez más escasa y se hace cada vez más patente que la cantidad de estiércol existente en un futuro cercano será insuficiente para cubrir esa demanda (Álvarez 2007).

Los beneficios del uso de la composta en su aplicación al suelo son múltiples en los aspectos físico, químico y microbiológico. Este uso adecuado contribuye a formar y estabilizar el suelo, aumentar su capacidad para retener agua y para intercambiar cationes, haciendo más porosos a los suelos compactos y mejorando su manejabilidad (Álvarez 2007).

Beneficios de la composta:

- La composta contiene una gran reserva de nutrientes que poco a poco entrega a las plantas.
- Al aumentar el contenido de materia orgánica del suelo, aumenta su estabilidad y así se evita la erosión y la desertificación.
- Es capaz de contribuir en mayor grado a la reducción de emisiones de CO₂.
- Su utilización amortigua el peligro que supone para el suelo y el agua subterránea la aplicación abusiva de fertilizantes químicos de la agricultura convencional, absorbiendo los sobrantes.

5.2.- Origen, descripción y clasificación botánica

- **Origen del frijol**

El frijol se originó y domesticó en América Latina con dos orígenes geográficos (Mesoamérica y los Andes) genéticamente diferenciables que derivan de un ancestro común de 100,000 años de antigüedad. En México y América del Sur, el frijol se domesticó de manera independiente hace aproximadamente 8,000 años (Bitocchi 2013).

Según el centro internacional de Agricultura Tropical (CIAT) dentro del grupo de las especies de leguminosas se encuentra el frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y México ha sido señalado como el más probable centro de diversificación primaria. En

Centroamérica, este cultivo ocupa el segundo lugar como fuente de proteína. Datos señalados por la dirección general de Educación Agropecuaria de México, indican que la producción mundial de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) abarca 020, 082,000 hectáreas; con rendimiento de 515 kg/ha. En México se consume cantidades aproximadas a las 800,000 toneladas anuales con contenido de proteína de 24 a 26%. Mientras que en el estado de Chiapas esta leguminosa se produce en nueve zonas cuya superficies es 86,636 hectáreas, con un rendimiento de 0.555 ton/ha corresponden al volumen de 46,048 toneladas de producción en el año de 1990 (Agenda estadística Chiapas 1991). Lo anterior demuestra que el frijol es un cultivo que se adapta a diferentes condiciones de suelos y climas; pero existen factores que afectan la productividad de este grano como son: Factores climáticos extremos, suelo inapropiados, suelos apropiados físicamente pero poco fértiles, mala fertilización, presencia de plantas plagas indeseables que contiene el cultivo en su desarrollo, algunas variedades que son poco productivas y baja resistencia a cambios climáticos, por lo que se ha buscado nuevas alternativas para que estos factores sean controlados y así aumentar la productividad del cultivo de frijol (Boletín de reseña 1985).

- **Descripción del frijol.**

El frijol pertenece a la familia Fabacea, subfamilia Papilionoideae, tribu *Phaseolae*, y especie *Phaseolus vulgaris* L. Por su alto contenido proteico (20-25%) es, entre las leguminosas, el tercer cultivo más importante en el mundo, después de la soya y el cacahuate (Shing et al, 1999).

Como la mayoría de las leguminosas, sus proteínas son deficientes en aminoácidos azufrados como la metionina y la cisteína, sin embargo, una ingesta regular de frijol favorece en la disminución de los niveles de colesterol y reduce los riesgos de padecer cáncer (Anderson 2001).

Como todas las leguminosas, el frijol tiene la capacidad de asociarse a bacterias del suelo llamadas rhizobia (singular rhizobium). Dicha asociación entre leguminosas y rhizobium, comprende a la mayoría de las 18,000 especies de leguminosas y resulta en una simbiosis fijadora de nitrógeno de importancia ecológica que aporta, anualmente, una cuarta parte del nitrógeno fijado en la biósfera (Masson et al, 2009).

En las raíces de la planta, la bacteria induce la formación de un órgano denominado nódulo, dentro del cual ésta se establece de forma intracelular. En estas condiciones, la bacteria es capaz de convertir el N_2 atmosférico en amonio NH_4^+ , el cual constituye la fuente de nitrógeno que permite el crecimiento de la planta. Estas asociaciones simbióticas fijadoras de nitrógeno entre leguminosas y rhizobium, fertilizan el suelo y se calcula que incorporan de 60 a 120 kg de nitrógeno por hectárea (Lara 2015).

- **Aspectos botánicos.**

El frijol es una planta anual, herbácea; cultivada ampliamente desde el trópico hasta las zonas templadas, aunque es una especie termófila, las altas temperaturas son uno de los factores limitantes en la producción. Su ciclo de vida oscila entre 75 y 120 días para las variedades más comercializadas. Los caracteres de la morfología del frijol se agrupan en dos siendo los caracteres constantes y los variables; los caracteres constantes son aquellos que caracterizan la especie o la variedad y son caracteres altamente hereditarios. Los caracteres variables son aquellos que reciben la influencia de las condiciones ambientales. La planta está conformada por:

La raíz.

El sistema radical del frijol, consta de la raíz principal, la raíz secundaria, terciaria y cuaternaria, además en las partes jóvenes de las raíces se presentan los pelos absorbentes, los cuales juegan un importante papel en la absorción del agua, nutrientes y la formación de nódulos para poder fijar el nitrógeno atmosférico. Aunque generalmente se distinguen la raíz primaria el sistema radical tiende a ser fasciculado, fibroso en algunos, con una amplia variación, incluso, dentro de una misma variedad; se representan como tipos de raíces, la superficial, fibrosa y pivotante, así también presenta nódulos distribuidos en las raíces laterales de la parte superior y media del sistema. Estos nódulos tienen forma poliédrica y un diámetro de 2 a 5 mm (Boletín de reseña 1985).

El tallo.

Es herbáceo con secciones cilíndricas o levemente angulares; principalmente está formado por una sucesión de nudos y entre nudos; puede ser recto, semirrecto o postrado de acuerdo con el hábito de crecimiento de la variedad, pero, en general, este tiende a ser vertical. Esto puede ser de hábito determinado o bien indeterminado. En el primer caso la planta presenta una inflorescencia (racimos) como continuación directa del tallo, la cual se desarrolla completamente primero en flores y después en vainas; en el segundo caso no se presenta un desarrollo diferente y en su parte terminal existe un meristemo vegetativo que permite que la planta continúe creciendo y formando nudos y entrenudos.

Las hojas.

Las hojas de frijol son de dos tipos: simples y compuestas las cuales se encuentran insertadas en los nudos de los tallos y las ramas laterales mediante

peciolos. Las hojas compuestas, trifoliadas son las hojas típicas de frijol, que tienen folio, un peciolo y un raquis.

La flor.

La flor es una típica papilionácea de simetría bilateral.

El fruto.

Es una vaina con dos válvulas las cuales provienen del ovario comprimido, el que es dehiscente, considerándose tres tipos: el de textura pergaminosa, el coráceo y el carnoso. La variedad con el tipo de textura pergaminosa de la vaina son cultivadas, exclusivamente, para la cosecha de granos secos.

La semilla.

La semilla es exalbuminosa y puede tener varias formas: cilíndricas de riñón, esféricas y otras, además tienen una amplia variación de color que van de blanco hasta negro; basándose en la testa representa un 9%, los cotiledones un 90% y el resto corresponde al embrión la proteína de la semilla está localizada en los cotiledones y en ejes embrionarios, donde el primero contiene un 27% de proteínas. (Boletín de reseña 1985).

5.3.- Ciclo de nitrógeno.

Los organismos autótrofos requieren típicamente un suministro de nitrógeno en forma de nitrato (NO_3^-), mientras que los heterótrofos lo necesitan en forma de grupos amino ($-\text{NH}_2$), y lo toman en sus alimentos formando parte de la composición de distintas biomoléculas. Los autótrofos reducen el nitrógeno oxidado que reciben como nitrato (NO_3^-) a grupos amino, reducidos (asimilación). Para volver a contar con nitrato hace falta que los descomponedores lo extraigan

de la biomasa dejándolo en la forma reducida de ión amonio (NH_4^+), proceso llamado amonificación; y que luego el amonio sea oxidado a nitrato, proceso llamado nitrificación. El ciclo se completa con los procesos de fijación de nitrógeno, que origina compuestos solubles a partir del N_2 , y la desnitrificación que es una forma de respiración anaerobia que devuelve N_2 a la atmósfera completando el ciclo.

Las plantas pueden tomar el amonio y el nitrato a través de las raíces y pueden usarlos para la síntesis de sus proteínas y los ácidos nucleicos. Los animales obtienen su nitrógeno al comer las plantas o a otros animales. En el metabolismo de los compuestos nitrogenados en los animales acaba formándose ión amonio que es muy tóxico y debe ser eliminado. Esta eliminación se hace en forma de amoníaco (algunos peces y organismos acuáticos), o en forma de urea (el hombre y otros mamíferos) o en forma de ácido úrico (aves y otros animales de zonas secas). Estos compuestos van a la tierra o al agua de donde pueden tomarlos de nuevo las plantas o ser metabolizados por diferentes organismos.

Los animales, que no oxidan el nitrógeno, se deshacen del que tienen en exceso en forma de distintos compuestos. Los acuáticos producen directamente amoníaco (NH_3), que en disolución se convierte en ión amonio. Los terrestres producen urea, $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, que es muy soluble y se concentra fácilmente en la orina; o compuestos nitrogenados insolubles como la guanina y el ácido úrico, que son purinas, y ésta es la forma común en aves o en insectos y, en general, en animales que no disponen de un suministro garantizado de agua. El nitrógeno biológico, en la mayor parte en ecosistemas continentales, es convertido a amonio por la acción de microorganismos descomponedores (FAO 2014).

A continuación se muestra el esquema del ciclo del nitrógeno:

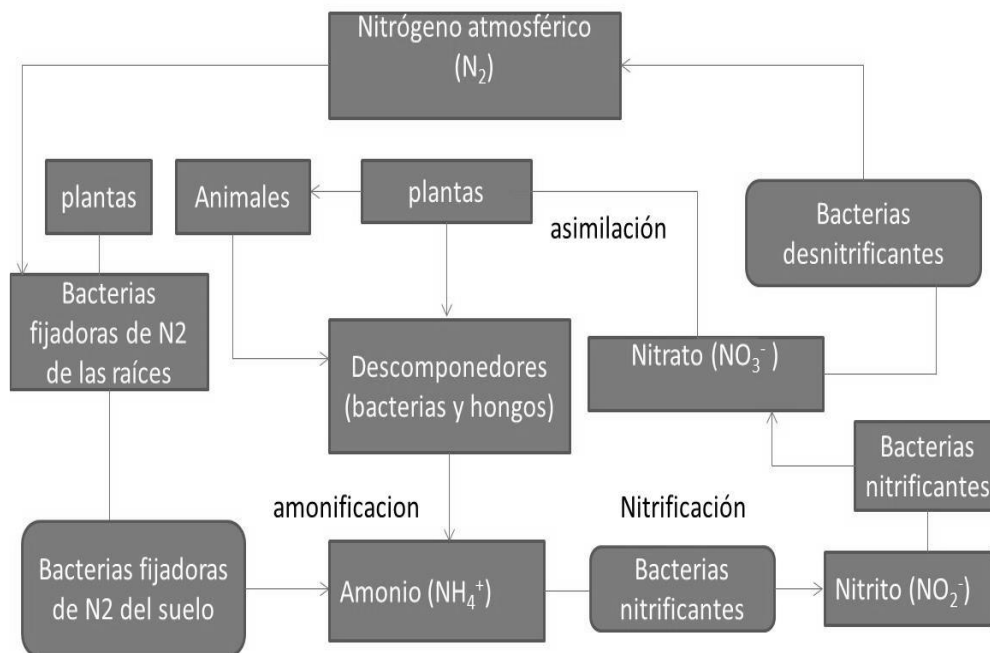


Figura 1. Ciclo del nitrógeno

Perdida de nitrógeno del suelo.

- Remoción de plantas del suelo
- Desaparición de la capa superior del suelo por erosión o por destrucción por el fuego.
- Lixiviación por el agua que se filtra a través del suelo y arrastra los iones nitrogenados.
- Proceso de desnitrificación en suelos poco drenados por el metabolismo bacteriano.

5.4.- Ciclo del potasio.

El potasio es uno de los tres nutrientes minerales que necesitan las plantas en mayor cantidad. Muchos cultivos como por ejemplo el banano, el tomate y la papa requieren más potasio que cualquier otro nutriente mineral. Las plantas absorben el potasio que se encuentra en la solución del suelo en forma del catión K^+ . La cantidad de K en la solución del suelo está en función (controlada por) de la liberación del potasio intercambiable, generalmente localizado alrededor de las partículas (micelas) de arcilla. Los cultivos extraen grandes cantidades de potasio del suelo para su crecimiento y desarrollo y como es de esperarse, la falta de éste elemento, influye negativamente en el rendimiento y calidad del cultivo. Además, la deficiencia de potasio aumenta la vulnerabilidad del cultivo a enfermedades y lo hace menos resistente a condiciones de "stress" tales como sequías, heladas etc.

El abastecimiento de K en el suelo es limitado, aun los suelos que contienen arcillas ricas en este mineral no pueden suplirlo indefinidamente. Es un error creer que en suelos que por naturaleza son ricos en K (ej. Vertisoles), adicionar este elemento a los cultivos es innecesario. El potasio extraído por los cultivos debe de regresarse al suelo para no disminuir la fertilidad del mismo; cuando el agricultor saca de la parcela o campo la cosecha, se está llevando consigo el K fuera del sistema agrícola. La figura 2, muestra como las vías de remoción influyen en el reciclaje natural del potasio en el suelo. También, se puede apreciar que se pierde potasio al sacar la cosecha, por lavado, especialmente en suelos arenosos y lugares de alta precipitación pluvial, por escurrimiento y/o erosión en sitios donde la pendiente y el manejo del agua y drenaje son deficientes. En los sistemas de agricultura moderna, la cosecha es probablemente la forma en la cual se extrae mayor cantidad de K del suelo. Así, el no regresar lo que se extrae o se pierde durante el ciclo del K ocasiona que el suelo pierda fertilidad y por ende productividad potencial. Las formas de incorporación del potasio al suelo son:

adición de residuos vegetales, estiércoles, residuos animales sólidos y fertilizantes minerales. Algunos fertilizantes minerales como el cloruro de potasio (KCl) y el sulfato de potasio y magnesio ($K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$), son extraídos de yacimientos de silvinita y silvita (el primero) y langbeinita (el segundo). Estos fertilizantes no son elaborados por síntesis química, simplemente por medios físicos se limpian y acondicionan para ser utilizados en agricultura. Tienen la ventaja que son solubles por lo que son de rápida disponibilidad a los cultivos. El buen agricultor y técnico agrícola responsable, deben de asegurar que el ciclo del potasio sea sustentable y que pueda ser heredado a las siguientes generaciones en suelos más fértiles y productivos (Técnicoagricolas 2013).

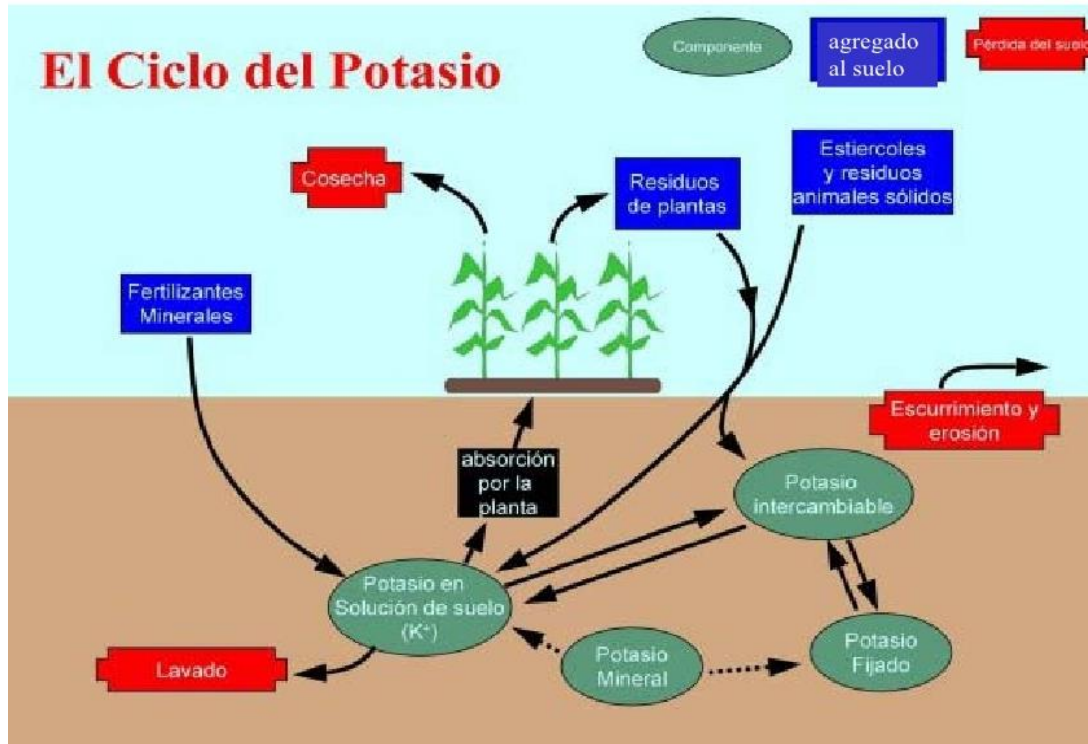


Figura 2. El ciclo del potasio.

5.5.- Ciclo del fósforo.

El fósforo es un compuesto esencial de los organismos. Forma parte de los ácidos nucleicos (ADN y ARN); del ATP y de otras moléculas que tienen PO_4^{3-} y que almacenan la energía química; de los fosfolípidos que forman las membranas celulares; y de los huesos y dientes de los animales. Está en pequeñas cantidades en las plantas, en proporciones de un 0.2%, aproximadamente. En los animales hasta el 1% de su masa puede ser fósforo.

Su reserva fundamental en la naturaleza es la corteza terrestre. Por meteorización de las rocas o lavado por las cenizas volcánicas, queda disponible para que lo puedan tomar las plantas. Con facilidad es arrastrado por las aguas y llega al mar.

Parte del que es arrastrado sedimenta al fondo del mar y forma rocas que tardaran millones de años en volver a emerger y liberar de nuevo las sales de fosforo.

Otra parte es absorbida por el plancton que, a su vez, es comido por organismos filtradores de plancton, como algunas especies de peces. Cuando estos peces son comidos por aves que tienen sus nidos en tierra, devuelven parte del fosforo en las heces (guano) a tierra.

Es el principal factor limitante en los ecosistemas acuáticos y en los lugares en los que las corrientes marinas suben del fondo, arrastrando fosforo del que se ha ido sedimentando el plancton prolifera en la superficie. Al haber tanto alimento se los bancos de peces, formándose las grandes pesquerías del Gran Sol, costas occidentales de África y América del Sur y otras.

Con los compuestos de fosforo que se recogen directamente de los grandes depósitos acumulados en algunos lugares de la tierra se abonan los terrenos de cultivo, a veces en cantidades desmesuradas, originados problemas de eutrofización (Tecnum 2009).

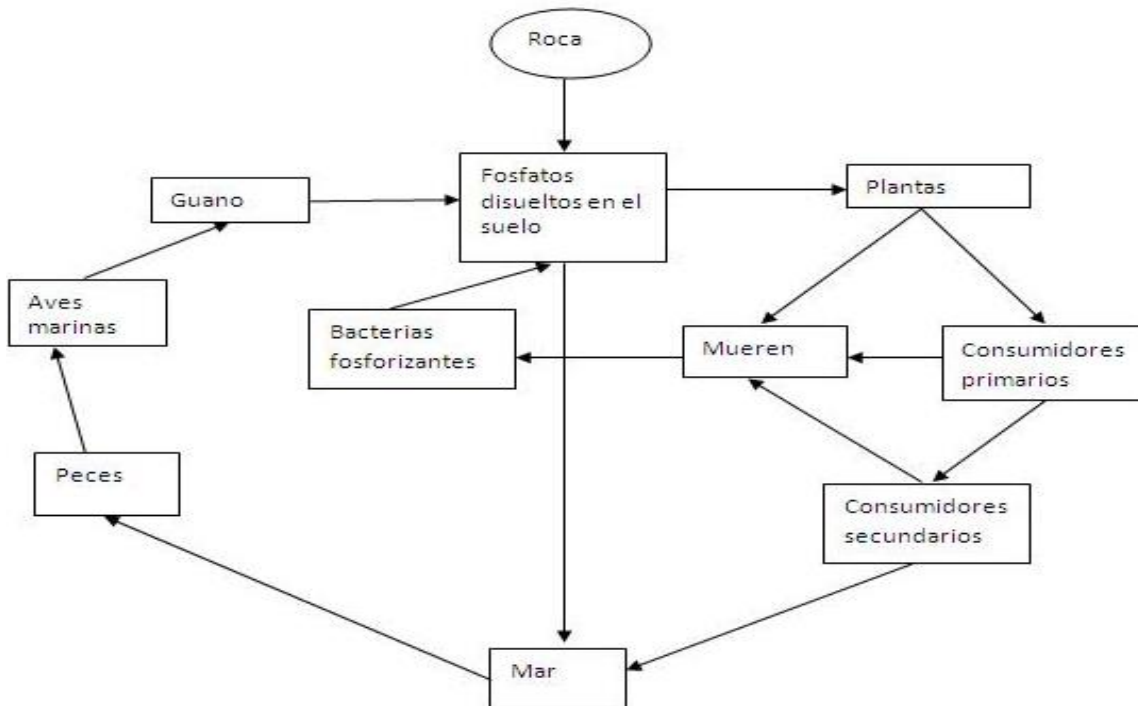


Figura 3. El ciclo del fósforo.

5.6.- Antioxidantes naturales.

En los últimos años, el uso de antioxidantes naturales se ha promovido y la literatura ha reconocido que la sustitución de los antioxidantes sintéticos por los naturales puede tener varias ventajas. La investigación sobre antioxidantes naturales se ha centrado principalmente en compuestos fenólicos, flavonoides, en particular, como posibles fuentes de antioxidantes naturales. Los compuestos fenólicos son agentes reductores y su potencial relacionado con la salud le ha atribuido a su capacidad antioxidante propiedades de gran alcance que pueden proteger al organismo de las reacciones de oxidación causados por radicales libres (Guisado et al, 2013).

5.6.1.- Los compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de sustancias más numerosos y ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Ellos son productos del metabolismo secundario de las plantas, que son determinantes en la calidad sensorial y nutrición de las frutas, verduras y otras plantas (Albuquerque 2011).

Se ha demostrado que los polifenoles dietéticos juegan un papel importante en la salud humana. Se ha reportado que la ingesta elevada de verduras, frutas, cereales integrales y algunas bebidas (té, jugos, vinos) que son ricos en polifenoles previenen o retrasan una serie de muchas enfermedades crónicas, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, inflamación crónica y muchas enfermedades degenerativas. Muchas de las actividades biológicas de los compuestos fenólicos se atribuyen a su capacidad antioxidante (Albuquerque 2011).

Los compuestos fenólicos presentan un anillo aromático que tiene uno o más grupos hidroxilos y su estructura puede variar desde la de una molécula fenólico simple (ácidos fenólicos) a la de un complejo de alto peso molecular como un polímero de masa tales como taninos condensados (Albuquerque 2011).

5.6.2.- Principales clases de compuestos fenólicos.

Los compuestos fenólicos comprenden una amplia variedad de moléculas que tienen una estructura polifenol (es decir, varios grupos hidroxilo en el anillo aromático), también moléculas con fenol en el anillo tales como ácidos fenólicos.

Los polifenoles se dividen en varias clases de acuerdo con el número de fenoles en el anillo y elementos estructurales que se unen al anillo entre sí. Los principales grupos de compuestos fenólicos son: flavonoides, ácidos fenólicos, taninos (hidrolizables y condensados), estilbenos y lignanos (Guisado et al, 2013).

Cuadro 2. Clasificación de compuestos fenólicos.

COMPUESTOS FENOLICOS			
FENOLES SIMPLES		POLIFENOLES	
ACIDOS FENOLICOS	FLAVONOIDES	TANINOS	
Acido benzoico Ácido cinámico	Antoxantinas Flavona Flavonol Flavanol Isoflavona	Hidrolizables No hidrolizables	ESTILBENOS Y LIGNANOS

5.6.3.- Flavonoides.

Los flavonoides fueron descubiertos por Szent-György, quien en 1930 aisló de la cáscara de limón la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C₆-C₃-C₆), compuestos por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'.

(López 2002)

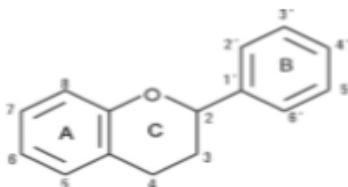


Figura 4. Estructura básica de los flavonoides.

Las propiedades físicas dependen de la clase de flavonoide considerado y su forma (libre o glicosilado). Por ejemplo las flavonas, flavonoles y auronas, debido al sistema conjugado son compuestos sólidos con colores que comprenden desde el amarillo muy tenue hasta el rojo. Las antocianidinas son de colores rojo intenso, morado, violeta y azul. Las flavanonas y flavanoles debido al carbono quiral C-2 presentan el fenómeno de la rotación óptica. Los glucósidos son en general sólidos amorfos, mientras que las agliconas y los altamente metoxilados son cristalinos. La solubilidad depende de la forma en que se encuentren y el número y clase de sustituyentes presentes. Las antocianinas son solubles en agua y alcohol. Las agliconas flavonoides altamente hidroxiladas son solubles en alcohol (etanol, metanol y n-butanol), mientras que las poco hidroxiladas lo son en disolventes como éter etílico, acetato de etilo y acetona. Las agliconas flavonoides altamente metoxiladas son solubles en disolventes menos polares como el éter de petróleo y el cloroformo. Los flavonoides con hidroxilos fenólicos son solubles en disoluciones alcalinas, pero algunos altamente hidroxilados se descomponen por acción de las bases fuertes, un hecho que permite reconocerlos y diferenciarlos de otros, y que hace años se utilizó para su elucidación estructural. Los glucósidos flavonoides son sólidos amorfos que se funden con descomposición, mientras que las correspondientes agliconas son sólidos cristalinos (Martínez et al, 2002).

- **Síntesis.**

Los compuestos fenólicos se sintetizan en las plantas y participan en la fase dependiente de la luz de la fotosíntesis, durante la cual se cataliza el transporte de electrones. Estos compuestos fenólicos juegan un rol vital en las plantas y regulan el metabolismo y síntesis de la lignina. La fenilalanina y la tirosina dan lugar al ácido cinámico y al ácido p-hidroxicinámico que al condensarse con acetato, originan la estructura básica de los flavonoides. Posteriormente se forman los derivados glicosilado o sulfatados (Martínez et al, 2002).

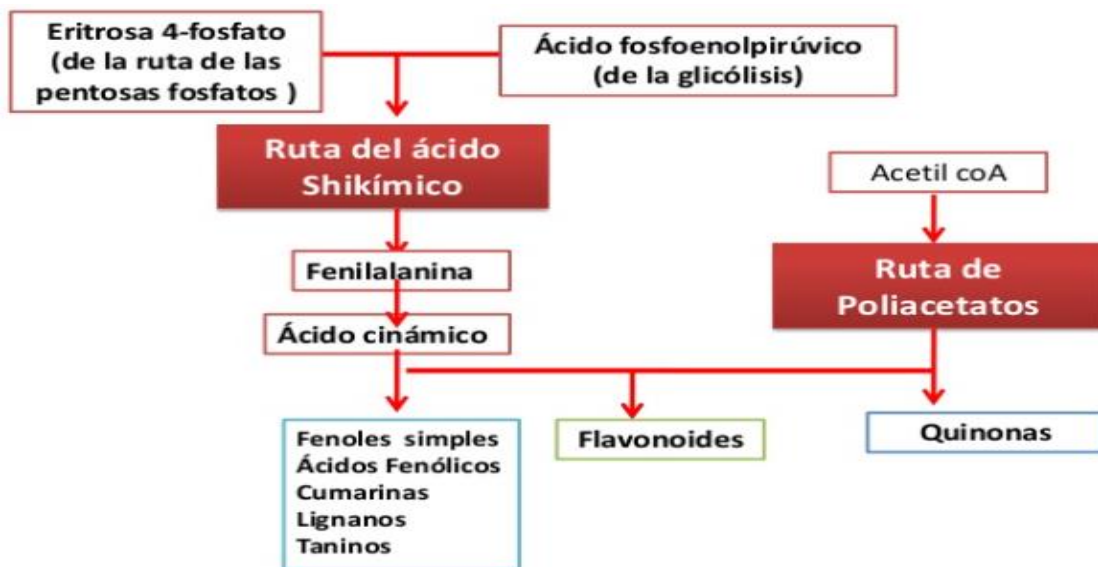


Figura 5. Ruta de síntesis de compuestos fenólicos.

Flavonoide (del latín flavus, "amarillo") es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base, un esqueleto C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua. La diversidad de compuestos en que pueden clasificarse los flavonoides incluye 6 clases principales: las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavanoles, las antocianinas, y los taninos condensados (Winkel 2001).

Son sintetizados en el citoplasma y luego migran hacia su destino final en las vacuolas celulares. Cumplen funciones metabólicas importantes en las plantas, algunas son comunes a todas las plantas y otras son específicas de algunos taxones. Como ejemplo de funciones universales, los flavonoides son responsables de la resistencia de las plantas a la fotooxidación de la luz ultravioleta del sol, intervienen en el transporte de la hormona auxina, y se cree que funcionan como defensa ante el herbivorismo, además sirven como atrayentes de los polinizadores, a través del color o el olor que dan a la planta o a sus flores (Winkel 2001).

Los flavonoides han adquirido notoriedad pública a raíz de su actividad biológica en el hombre, que los consume con los vegetales. Los flavonoides poseen propiedades muy apreciadas en medicina, como antioxidantes, antimicrobianos, anticancerígenos, antimutagénicos, etc. También son conocidos por los cultivadores de plantas ornamentales, porque dan el color a las hojas y a las flores; y fueron muy usados por los botánicos sistemáticos para establecer parentescos entre especies de plantas, porque son fáciles de extraer e identificar (Martínez et al, 2002).

5.7.1.-Determinación de fenoles totales de Folinciocalteu.

El ensayo espectrofotométrico fue desarrollado por Folinciocalteu (F-C) se utiliza para determinar los compuestos fenólicos totales (TPC: compuestos fenólicos totales). Se fundamenta en una reacción de oxidación / reducción que es el mecanismo básico; gracias al carácter reductor del reactivo F-C. Se utiliza como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia del color azul

desarrollado se mide a una λ de 765 nm, la intensidad de absorción de luz a esa longitud de onda es proporcional a la concentración de fenoles.

El método consiste en una calibración con un compuesto fenólico puro, la extracción de los fenoles de la muestra, y la medición de la absorbancia después de la reacción de color. El ácido gálico es usualmente utilizado como estándar para producir la curva de calibración. El contenido fenólico total se expresa en equivalentes de ácido gálico (GAE). Para cualquier punto de vista, los resultados siempre deben ser reportados sobre una base equivalente para evitar la percepción de que se está midiendo la cantidad de la sustancia de referencia.

La oficina Internacional de la viña y el vino (OIV), es el único cuerpo internacional que certifica los procedimientos específicos para el análisis de vino, acepta el método de Folinciocalteu como el procedimiento estándar para el análisis de fenoles totales (OIV 1990). Aunque el método fue desarrollado para la aplicación por primera vez a análisis de vinos y uvas, se pueden adoptar para otros productos alimenticios (Fernández 2011).

5.7.2-Determinación de flavonoides por el método de tricloruro de Aluminio.

El uso de cloruro de aluminio ($AlCl_3$) en el diagnóstico de la presencia de determinados grupos químicos se empleó primero para antocianinas. En 1954, Harborne sugirió el uso de cloruro de aluminio para la determinación espectrofotométrica de la presencia de determinados grupos químicos en flavonoides.

Recientemente, se ha propuesto el uso de métodos espectrofotométricos para la determinación de flavonoides totales en las plantas, utilizando $AlCl_3$. En 1992 desarrollaron un método para determinar el contenido de flavonoides en una

planta mediante la adaptación del método descrito por Dowd en 1959 para quercitina, que se basa en el uso de cloruro de aluminio.

El catión de aluminio forma complejos estables con flavonoides en metanol, que se producen en el análisis espectrofotométrico un desplazamiento hacia longitudes de onda mayores y una intensificación de la absorción. Así, es posible determinar la cantidad de flavonoides, evitando la interferencia de otras sustancias fenólicas, especialmente ácidos fenólicos, que invariablemente acompañan a los flavonoides en los tejidos vegetales.

El método es exacto, es decir, que es reproducible, proporcionando desviaciones muy pequeñas o ninguna diferencia entre una prueba y otra sobre la misma muestra (Fernández 2011).

5.8.- Carotenos y licopenos

- **Estructura de los carotenos**

Los carotenoides son tetraterpenoides que se encuentran en la naturaleza como pigmentos naturales liposolubles de numerosas frutas y verduras y se caracterizan por poseer una larga cadena poli-isoprénica. Los carotenos son los hidrocarburos de esta familia que corresponden a la fórmula $C_{40}H_{56}$, como por ejemplo: licopeno con dobles enlaces *trans*, si bien existen isómeros con algunas uniones *cis* (Vitale et al 2010).

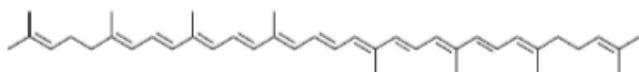


Figura 6. Estructura química del licopeno

Los carotenoides oxigenados, como alcoholes y epóxidos, se conocen como xantófilas, por ejemplo: luteína, violaxantina.

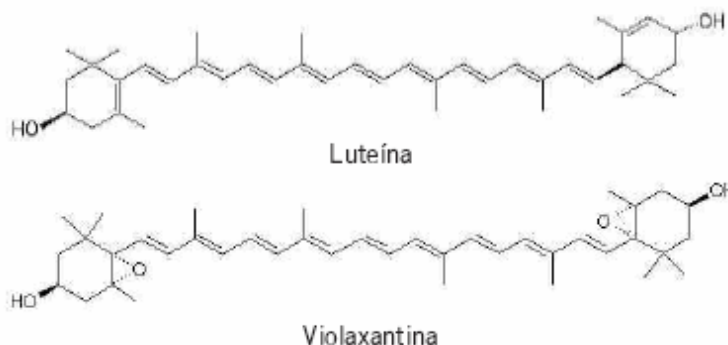


Figura 7. Estructuras químicas de la luteína y violaxantina.

Los carotenoides se encuentran en plantas, animales y bacterias, muchas veces muy oxigenados o como cromoproteínas, siendo la parte prostética de éstas. Se suelen clasificar como: acíclicos, monocíclicos, aromáticos y ciclopentanoides, alénicos y acetilénicos, isoprenilados y degradados. El consumo de una dieta rica en carotenoides se ha correlacionado epidemiológicamente con un menor riesgo de varias enfermedades, lo cual ha dado lugar a un creciente interés en el estudio de su biodisponibilidad. El β -caroteno se utiliza como protector solar oral para la prevención de quemaduras de sol y resultó ser eficaz, ya sea solo o en combinación con otros carotenoides y vitaminas antioxidantes. Los efectos protectores se logran también con una dieta rica en licopeno. (Vitale et al, 2010)

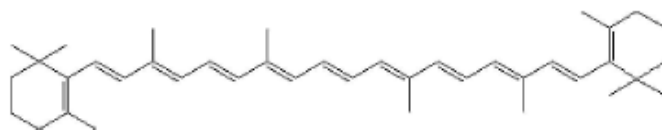


Figura 8. Estructura del β -caroteno.

El licopeno es el pigmento lipofílico. El licopeno es un carotenoide acíclico con una cadena alifática formada por cuarenta átomos de carbono, con trece dobles enlaces de los cuales once son conjugados que le confieren la particularidad de ser muy reactivo frente al oxígeno y a los radicales libres. Por estas propiedades antioxidantes resulta probablemente eficiente como agente quimiopreventivo. Carece de un anillo de β -ionona, por lo cual no posee actividad provitamina A.

- **Biosíntesis de compuestos carotenoides**

Específicamente, los carotenoides son sintetizados a partir de cuatro moléculas de isopentenil pirofosfato (IPP) y una de C5 preniltfosfato que, a su vez, es sintetizada en los plástidos por la ruta de 2-C-metil-D-eritritol 4-fosfato (MEP). Se ha demostrado que los patrones de expresión de transcritos y proteínas de la ruta MEP, se acumulan principalmente en tejidos fotosintéticos y durante el desarrollo temprano de la plántula. Es probable que estos patrones de expresión respondan a la alta demanda de pigmentos (clorofilas y carotenos) que se requieren para el establecimiento de los complejos fotosintéticos durante el desarrollo temprano de las plantas. También se considera que la expresión de los genes de la vía MEP se modula por distintas señales externas e internas, como son la luz y niveles de azúcares (León et al 2007). Las moléculas de isoprenoides son convertidas a geranil geranildifosfato (GGPP) con C₂₀, las enzimas que participan son la isopentildifosfatoisomerasa (IPI) y la geranil geranildifosfatosintetasa (GGPS). Se realiza la condensación de dos moléculas de GGPP por medio de la fitoenosintetasa (PSY) en plantas; mientras que para bacterias es fitoenosintetasa bacteriana (CrtB), produciendo 15 cis fitoeno, el cual es convertido a licopeno por la acción de dos enzimas desaturasas: la fitoenodesaturasa en plantas (PDS) y la beta-caroteno desaturasa (ZDS). Con esta ruta se producen compuestos poli-cis que son convertidos en trans a través de la acción de las carotenoides isomerasas

CrtISO y ZISO. Posteriormente, el licopeno es el sustrato de dos ciclasas la ϵ ciclasa y la β ciclasa (LCY-e y LCY-b), las cuales actúan juntas en la parte final de la molécula para permitir la formación del α -caroteno, mientras que la β ciclasa (LCY-b) actúa sola también para la síntesis del β caroteno. Mientras que la BetaLCY-b es responsable de la formación de anillos β en los cromoplastos de los tomates. Posteriormente, los α y β carotenos son hidroxilados por la no-hemocarotenohidroxilasas (CHY1 y CHY2) y las citrocromo P450 caroteno hidroxilasas (CYP97A y CYP97C), en las flores de tomate la CHY1 es la principal β hidroxilasa (Gálpaz 2006).

La CYP97C se encarga de la hidroxilación de los anillos épsilon de la luteína. Las beta xantofilas pueden ser epoxi o desepoxidadas por medio de las enzimas zeaxantinaepoxidasa (ZEP) y la violaxantina des-epoxidasa (VDE), manteniendo el ciclo de las xantofilas. Se sugiere que la síntesis de la neoxantina sea controlada por una paróloga a la β ciclasa la BETA ABA4 a partir de la violaxantina (figura 7).

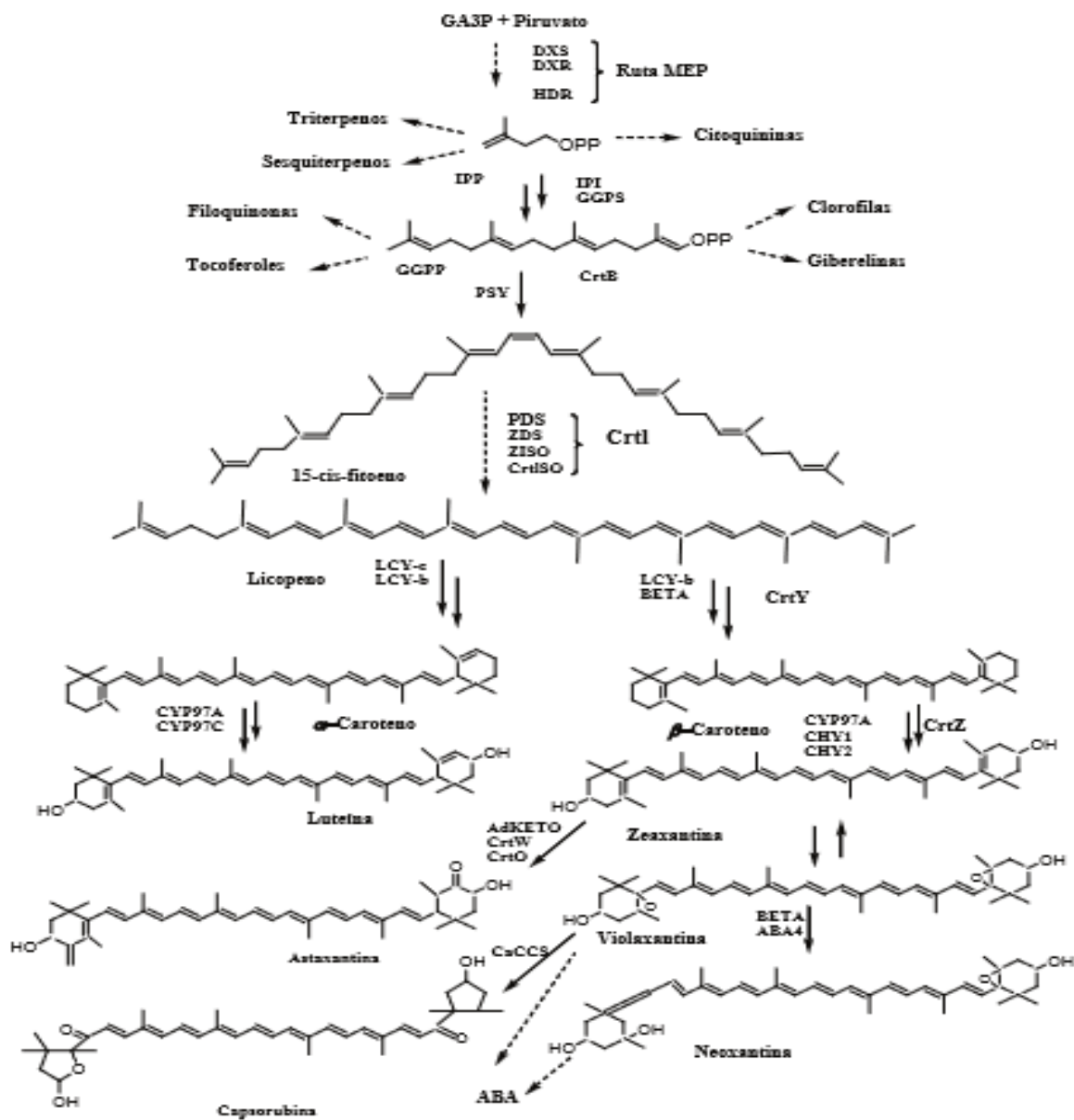


Figura 9. Ruta de síntesis de compuestos carotenoides.

5.9.- Enzima deshidrogenasa en el suelo.

La actividad bioquímica total del suelo está constituida por una serie de reacciones catalizadas por enzimas. Las enzimas son proteínas solubles, de naturaleza orgánica y estado coloidal, elaboradas por las células vivas, que actúan independientemente de éstas, tienen poder catalítico específico y se destruyen por el calor húmedo a 100 °C (Skujins 2000).

De las enzimas determinadas en suelos, son las oxidorreductasas las más estudiadas dentro de las cuales se encuentran la deshidrogenasa, catalasa, peroxidasa, fenoloxidasas y glucoxidasas si bien también lo han sido otros grupos como las hidrolasas, liasas y transferasas (Acosta y Paolini 2005).

En general, se ha demostrado ampliamente que las enmiendas orgánicas incrementan la actividad de las enzimas en el suelo al menos que estas contengan ciertos contaminantes como metales pesados o compuestos orgánicos tóxicos en concentraciones. Estos compuestos contaminantes afectan negativamente la composición y la actividad de la microflora del suelo. Han indicado que la importancia del conocimiento de las actividades enzimáticas en los suelos deriva fundamentalmente del papel que juegan éstas en los procesos de degradación y evolución de la materia orgánica (MO). A esto se agrega el hecho de que procesos como la mineralización y humificación de la MO se rigen en gran medida por reacciones de oxidación, reducción e hidrólisis; de ahí la importancia del conocimiento de las oxidorreductasas (Pascual 1995).

La determinación de la actividad de la deshidrogenasa (ADH) es un reflejo de las actividades oxidativas de la microflora del suelo. Esta enzima intracelular está asociada a los microorganismos proliferantes, y no es estabilizada por los coloides inorgánicos (arcillas) y orgánicos (sustancias húmicas) del suelo. Esta enzima es la

encargada de la oxidación biológica de los compuestos orgánicos mediante el proceso de deshidrogenación; el cual procede según la siguiente reacción general: $XH_2 + A \rightarrow X + AH_2$; donde XH_2 es un compuesto orgánico dador de hidrógenos y A es el correspondiente aceptor de los mismos.

La ADH ha sido propuesta como un indicador de la actividad biológica de un suelo (Skujins 2000) y es uno de los métodos comúnmente usados para determinar la actividad de los microorganismos. La alta correlación encontrada entre la ADH con otros parámetros involucrados con la actividad biológica del suelo tales como: el C de la biomasa, la relación C-biomasa/COT y la respiración basal hacen aún confiable su determinación como índice de actividad microbiana. (Acosta y Paolini 2005).

VI.- METODOLOGIA

En este apartado se describen los procedimientos y técnicas seguidas en el desarrollo de la investigación efecto del uso de fertilizante y composta en la producción de fenoles y flavonoides en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en el invernadero (lugar donde se realizó la investigación del Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez).

6.1.-Toma de muestra

Para la toma de muestra se siguió la metodología propuesta por Aloe y Toribio 2007 que consiste que, si el lote es homogéneo en cuanto a características agronómicas, topográficas y manejo previo, se considera una única unidad de muestreo, y la toma de muestra consiste en recorrer un lote al azar, recolectando submuestras que son mezcladas para formar una única muestra compuesta, que luego es analizada en el laboratorio, tal como se presenta en la figura 10.

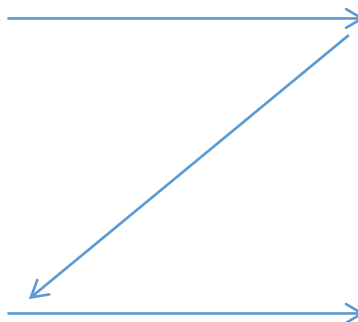


Figura 10. Muestreo al azar. Fuente Aloe y Toribio, 2007.

6.2.- Muestreo.

El estudio se llevó a cabo en la plataforma de capacitación del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, ubicado en carretera, panamericana kilómetro 1080 colonia Terán, Tuxtla Gutiérrez, en el estado de Chiapas (fig.11), se llevó a cabo en el invernadero del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México con coordenadas, HO= 93° 10' 25.3", N 16°, 45' y 25.5'', 577 msnm. Bajo un diseño tratamental de bloques completos al azar, con tres repeticiones.

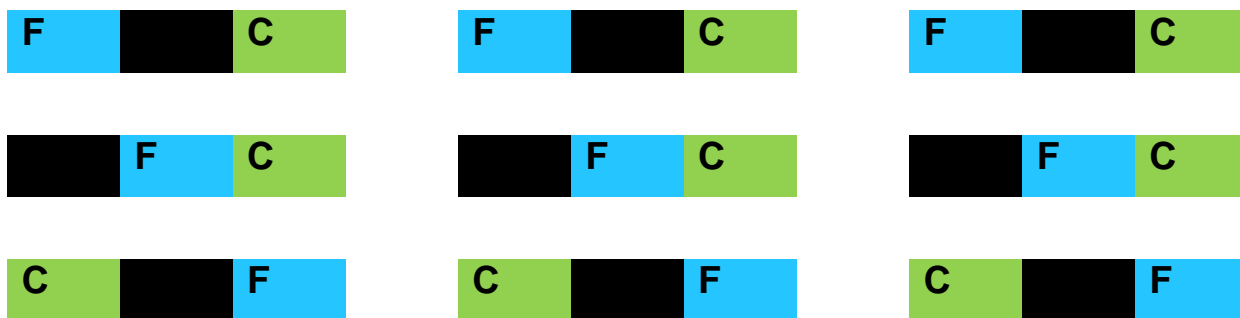
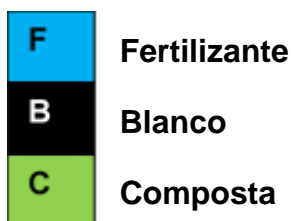


Figura 11. Diseño de bloques completos al azar con tres repeticiones.



Fertilización

El cultivo se realizó en temporal primavera-verano, el cultivo fue monocultivo de frijol El frijol negro Grijalva, proporcionado por INIFAP-CCH. El cultivo fue fertilizado con 90 Kg/Ha de DAP aplicando el 100 % a los 15 dde. No hubo necesidad de aplicar ningún herbicida durante el desarrollo del cultivo, para los insectos plaga se utilizó extracto de neem y mata-ratón.

Se tomó, de cada bloque tres muestras experimentales de partes diferentes de cada horizonte con una profundidad de 30 cm para los tratamientos (fertilizante, composta y blanco) y después mezclaron, las muestras de cada tratamiento igual de los diferentes bloques compuesta de aproximadamente 2 kg de suelo, para los análisis fisicoquímicos en el laboratorio. Cada muestra fue colectada en una bolsa de polietileno, correctamente identificada.

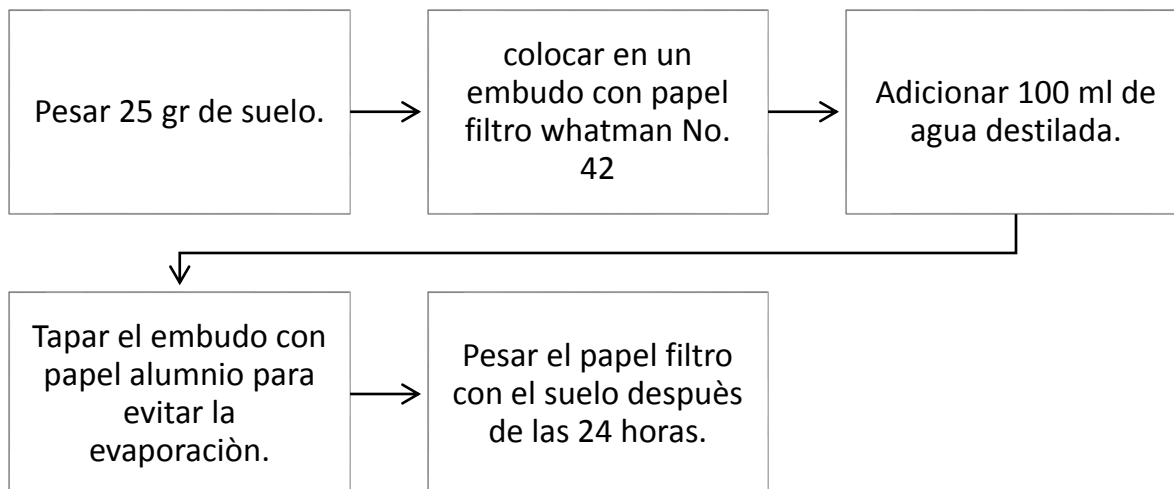
6.3.- Trabajo de laboratorio

Los procedimientos para los análisis de laboratorio, fueron realizados de la siguiente manera:

6.3.1.- Capacidad de retención de agua

La infiltración del agua en la superficie del suelo depende de la calidad de este, es decir de su infiltrabilidad, que está determinada por la estructura del mismo y su estabilidad, así como de otras características físicas, tales como el humedecimiento, lo cual controla la velocidad a la que penetra el agua a través de la superficie del suelo cuando se aplica, ya sea en la forma de riego o de lluvia.

Cuadro 3. Capacidad de retención de agua.

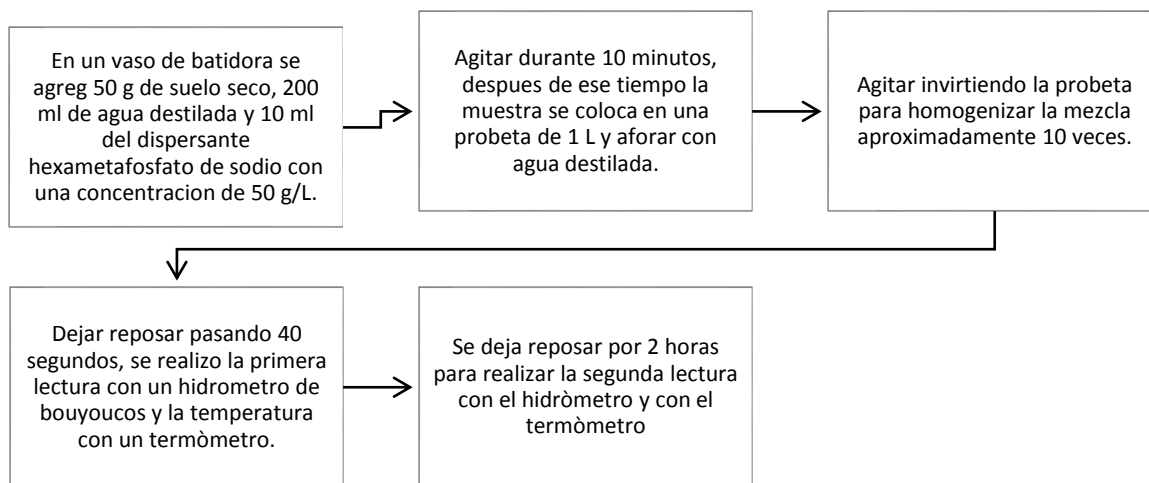


$$CRA = \frac{\text{Peso drenado} - (\text{peso papel filtro seco})(\text{factor de corrección}) - ((\text{peso suelo anhidrido (105oC)} - \% \text{ humedad}))}{(\text{peso suelo anhidrido (105oC)} - (\% \text{ de humedad}))}$$

6.3.2.-Textura

La textura de un suelo se refiere a la cantidad de partículas de diferentes tamaños que se encuentran en el suelo (García 1981).

Cuadro 4. Análisis de textura.

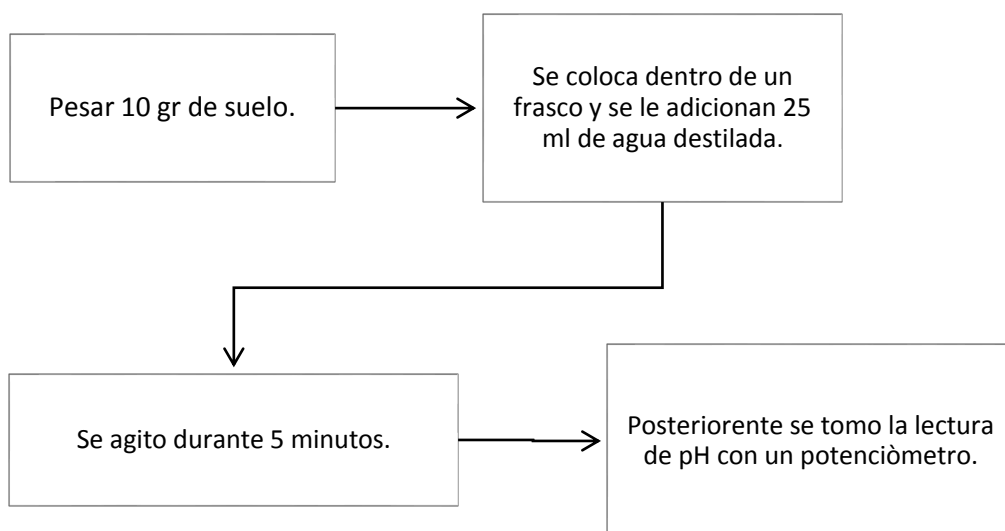


6.3.3.-pH

El pH de los suelos, en su expresión más simple, está dado por la concentración de iones hidrogeno (H^+) y de bases (OH^-) en el complejo de intercambio. Los primeros valores corresponden a zonas húmedas en donde se producen perdidas de bases por lixiviación siendo estas sustituidas por hidrógenos, lo cual produce el carácter ácido.

Un suelo alcalino es aquel que tiene un alto contenido de sodio disponible para el intercambio; este tipo de suelo no es muy adecuado para fines agrícolas. En estos suelos no hay lixiviación y se produce una acumulación de sales (García 1981).

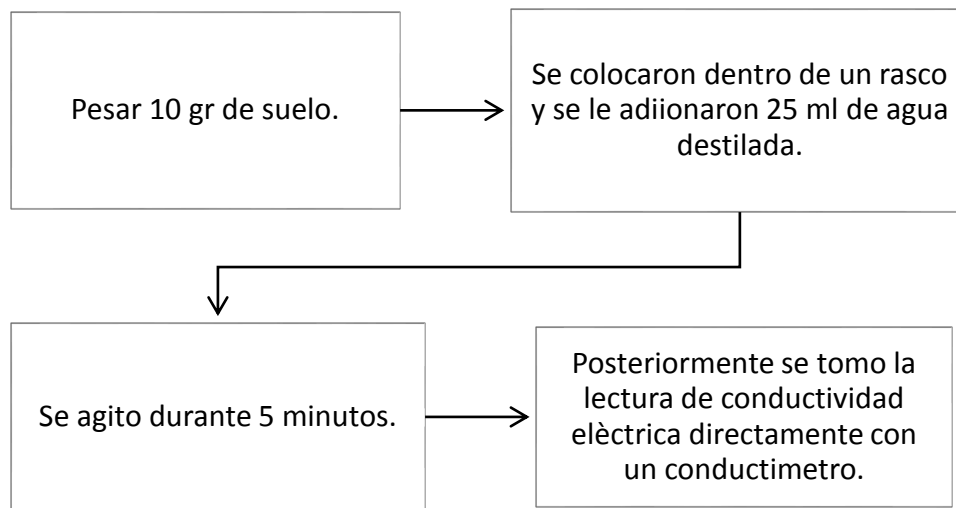
Cuadro 5. Análisis de pH.



6.3.4.-Conductividad eléctrica

La determinación de la conductividad eléctrica se utiliza normalmente para indicar la concentración total de componentes ionizados en las soluciones. Las sales solubles en el suelo determinan la presencia en solución de una serie de combinaciones de los cationes: calcio, magnesio, sodio, potasio y de los aniones: carbonatos, bicarbonatos, cloruros, sulfatos, etc. El valor de la conductividad está relacionado con la suma de los cationes (o aniones) y en general tienen correlación con los sólidos totales disueltos. El origen de estas sales solubles es la meteorización de los minerales primarios, pero la presencia de sales en grandes cantidades es debida procesos concretos como: drenaje oblicuo, intrusión salina, condiciones topográficas, etc. El agua que contiene sales disueltas del tipo que normalmente se encuentran en el suelo, conduce la corriente eléctrica, aproximadamente en proporción a la cantidad disuelta (García 1981).

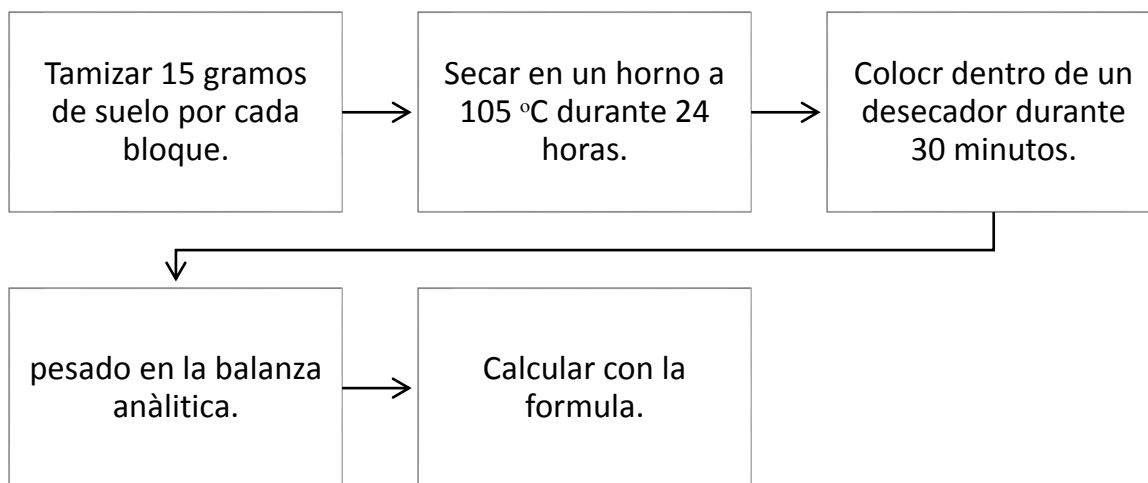
Cuadro 6. Análisis de Conductividad eléctrica.



6.3.5.- Humedad

La determinación de humedad en el suelo tiene mucha importancia, ya que con ello podemos estimar aproximadamente el nivel acuoso en torno a la zona radicular de las plantas, así como determinar si es o no apta para la vida microbiana. El procedimiento para el análisis de humedad del suelo fue, realizado de acuerdo con el manual de (García 1981).

Cuadro 7. Análisis de humedad.

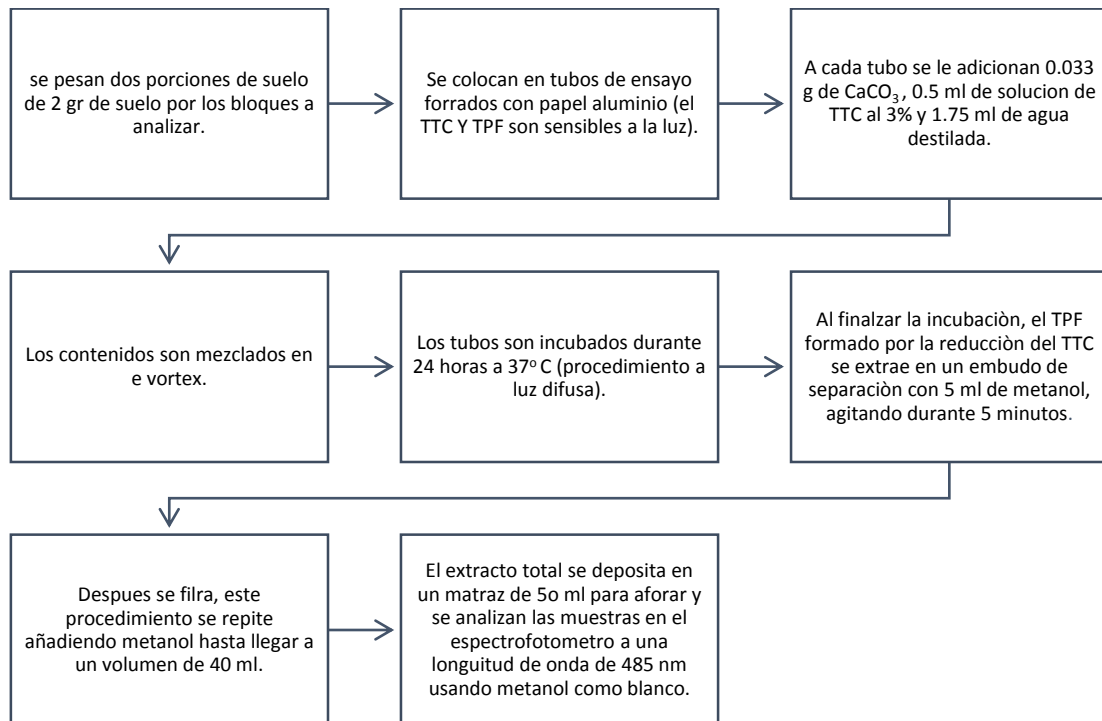


$$\% \text{ de humedad} = \frac{\text{kg del peso de suelo} - \text{kg del peso del suelo anhidrido}}{\text{kg del peso del suelo anhidrido (105 °C)}} * 100$$

6.4.- Cuantificación de la enzima deshidrogenasa.

Las enzimas deshidrogenasas pertenecen al grupo de las oxidorreductasas, es decir, a las enzimas que remueven electrones (oxidan) o añaden electrones (reducen) a varios sustratos. La principal actividad de las deshidrogenasas es eliminar átomos de hidrógeno de la molécula del sustrato y transferirlos a un cofactor o coenzima (como algunas vitaminas o los nucleótidos NAD, NADP, FAD y FMN) que es reducido al recibir dichos átomos. De esta manera el sustrato queda oxidado y normalmente aparece con un doble enlace entre el oxígeno y el carbono, en las posiciones en las que antes estaba presente un grupo hidroxilo (OH). La actividad de la deshidrogenasa ha sido utilizada como un indicador de la actividad microbiana del suelo.

Cuadro 8. Actividad de la deshidrogenasa.



6.5.- Cuantificación de carotenos y licopenos

Los carotenoides son una familia de colorantes liposolubles que se encuentran principalmente en plantas, algas y bacterias fotosintéticas donde juegan un papel clave en el proceso de la fotosíntesis. Igualmente, los carotenoides también juegan un papel muy importante en la salud humana actuando como antioxidantes biológicos, protegiendo las células y los tejidos del daño provocado por los radicales libres ([www.zeuz química.com](http://www.zeuzquímica.com)). A las muestras se le cuantifico el contenido de carotenoides totales y licopeno por el método descrito por (Wang, 2005). Se pesaron 2 gramos de muestra y se depositó en un mortero y se macero

con 5 ml de hexano-acetona (60:40). El sobrenadante se transfirió a tubos de ensayo; posteriormente se leyó la absorbancia a 450 nm y 502 nm en un espectrofotómetro marca HACH DR5000. Se calculó la cantidad de carotenoides y licopeno en 1 ml de muestra con la siguiente ecuación:

$$\text{Carotenos } (\mu\text{g/ml}) = 4 * \text{Absorbancia}_{450}$$

$$\text{Licopeno } (\mu\text{g/ml}) = 3.12 * \text{Absorbancia}_{502}$$

6.6.-Cuantificación de fenoles y flavonoides

- **Fenoles extracción**

Se utilizó 2 g de muestra seca, molida y sin grasa, que fueron colocadas en tubos de plástico cónicos de centrifuga de 50 mL de capacidad y se le adicionó 10 mL de acetona al 70%, después de ser sometidas a baño ultrasónico marca Cole-Parmer por 40 min, se centrifugó a 3000 g por 10 min a 4 °C en una centrifuga marca Eppendorf 5810R, posteriormente con una jeringa se colectó el sobrenadante y se almacenó en tubos de centrifuga de 50 mL, con el residuo se procedió a una segunda extracción, colectado el sobrenadante de esta en el mismo tubo de la primera extracción. El extracto se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su análisis.

- **Fundamento del método**

Para la determinación de los fenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu modificado por Makkar et al. (2007), el cual se fundamenta en su carácter reductor. Se utiliza como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia del color azul desarrollado se mide a 765 nm.

- **Obtención de extractos flavonoides**

Para la preparación de los extractos, se pesaron 0.5 g de material vegetal seco y pulverizado, y se depositaron en recipientes con 12.5 mL de cada uno de los solventes probados: hexano, cloroformo y metanol. Las soluciones obtenidas fueron sometidas a sonicación en un baño de ultrasonido (Bandelin SONOREXTM Digital 10P Ultrasonic Baths) durante 2 h a temperatura ambiente, y maceradas en frío durante 24 horas. Los extractos hexánicos, clorofórmicos y metanólicos así obtenidos, fueron filtrados por papel filtro Whatman N°. 1. El filtrado fue colocado en un rotavapor (BUCHI) y el solvente se evaporó a vacío, a una temperatura de 45 °C (Lam, 2011). El residuo obtenido fue resuspendido, ya sea en metanol para el análisis fitoquímico o en una solución de DMSO en agua destilada estéril (2% v/v) para la evaluación de la actividad antifúngica. Los extractos concentrados fueron almacenados a -20°C en frascos ámbar hasta su uso.

- **Flavonoides (método colorimétrico del cloruro de aluminio)**

A una muestra de 0.5 mL de extracto se le agregaron 1.5 mL de etanol al 95%, 0.1 mL de cloruro de aluminio al 10%, 0.1 mL de acetato de potasio 1M y 2.8 mL de agua destilada. Posteriormente la mezcla se incubó a temperatura ambiente por 30 min y se midió la absorbancia de la muestra a 415 nm. La determinación de la concentración se realizó mediante una curva de calibración realizada con una solución patrón de quercetina, la cual se llevó a cabo disolviendo 10 mg de quercetina en etanol al 80% para obtener una concentración de 0.1 mg mL⁻¹. Se hicieron las diluciones correspondientes para obtener concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 100 µg mL⁻¹. La cantidad de extracto se sustituyó por la misma cantidad de agua destilada para el blanco (Chang et al 2002). Las pruebas se realizaron por duplicado.

VII RESULTADOS Y DISCUSION

7.1.-Análisis fisicoquímicos del suelo.

En el cuadro 9 se observa los resultados del análisis de varianza de los parámetros fisicoquímicos del suelo.

Cuadro 9. Análisis de varianza para los parámetros fisicoquímicos del suelo de los diferentes tratamientos, mediante el uso del programa statgraphic centurión, con un 95% de P. letras iguales no hay diferencia significativa.

Cuadro 9. Parámetros fisicoquímicos, humedad, textura, pH, conductividad eléctrica y CRA.

Tratamiento	Textura			% CRA	pH	% Humedad	Conductividad eléctrica
	% Limo	% Arcilla	% Arena				
Blanco	56.32 ^a	26.6 ^a	43.68 ^a	42.1 ^a	8.1 ^{ab}	1.12 ^a	0.1 ^a
Composta	54.96 ^a	19.24 ^a	45.04 ^a	42.6 ^a	8.35 ^a	1.22 ^b	0.2 ^b
Fertilizante	53.6 ^a	22.88 ^a	46.4 ^a	43.2 ^a	7.6 ^b	2.54 ^a	0.7 ^a
Dms	4.64	12.35	4.64	3.06	0.51	0.35	0.34

En el cuadro 9, se muestra la distribución de los parámetros fisicoquímicos determinados, la humedad, textura, pH, conductividad eléctrica y CRA.

Ramírez en 1998 explica que la materia orgánica cumple un papel importante en el mejoramiento del suelo pues su presencia cumple las siguientes funciones de aportar los nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas durante el proceso de descomposición (nitrógeno, fósforo, potasio, azufre, boro); activa biológicamente el suelo, ya que representa el alimento para la población biológica que existe; mejora la estructura del suelo favoreciendo a su vez el movimiento

agua y aire e incrementa la capacidad de retención y temperatura del agua, fertilidad potencial del suelo; aumenta la capacidad de intercambio catiónico del suelo, contribuye a estabilizar el pH del suelo; disminuye la compactación del suelo y reduce las pérdidas del suelo por erosión hídrica y eólica.

La FAO en el 2002 encontro que la textura del suelo y su estructura son de importancia preponderante para la fertilidad del suelo y, consecuentemente, para el crecimiento de las plantas.

En nuestros resultados podemos ver que nuestro suelo es limoso-arenoso. Los residuos de materia orgánica en la composta dejados sobre el suelo mejoraron a una alta porosidad, facilitaron la infiltración del agua de lluvia a la parte donde se encuentran las raíces de las plantas y disminuyendo en la parte superficial del suelo ya que controla muchos procesos químicos. La materia orgánica afecta específicamente la disponibilidad de los nutrientes de las plantas, mediante el control de las formas químicas de los nutrientes. El pH del suelo mostro ser moderadamente alcalino estando dentro del rango de pH óptimo para las mayorías de las plantas ya que esto específicamente afecta en la disponibilidad de los nutrientes de las plantas, mediante el control de las formas químicas de los nutrientes. Observamos que nuestro suelo es no salino, el análisis de la CE en suelos se hace para establecer si las sales solubles se encuentran en cantidades suficientes como para afectar la germinación normal de las semillas, el crecimiento de las plantas o la absorción de agua por parte de las mismas. Las sales solubles que se encuentran en los suelos en cantidades superiores al 0.1 % están formadas principalmente por los cationes Na^+ , Ca^{2+} y Mg^{2+} asociados con los aniones Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- y HCO_3^- . La acumulación de sales solubles en el suelo se atribuye principalmente a problemas de drenaje, seguidos de evaporación y

sequía. Es por eso que nuestro suelo fue favorable para un buen crecimiento del cultivo de frijol.

7.2.- Análisis de crecimiento y biomasa.

A continuación se muestran los análisis estadísticos de las variables de crecimiento y biomasa, utilizando el programa Statgraphic, con un error del $>0.05\%$, letras iguales no hay diferencia significativa.

Análisis estadístico para la variable longitud de planta figura 12.

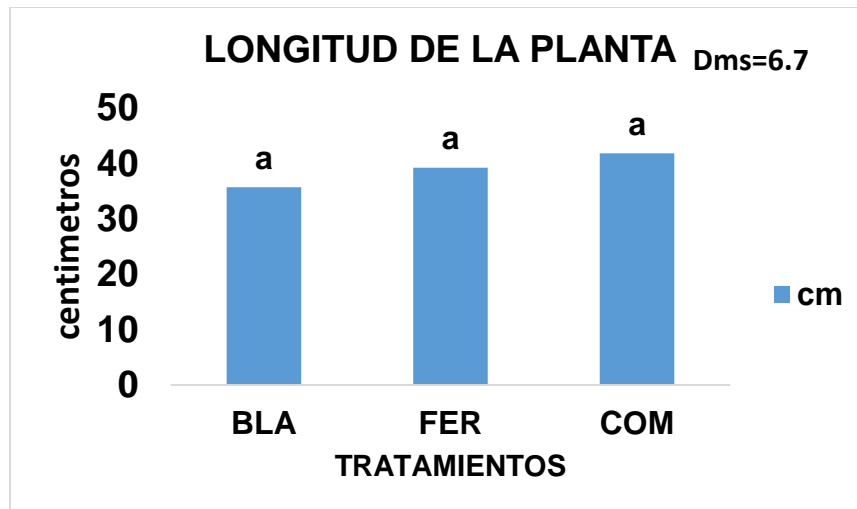


Figura 12. Anova simple para la variable longitud de la planta.

En el análisis estadístico para la variable largo de la planta los diferentes tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo las plantas a las que se les adiciono composta son 15% más grandes que las plantas con puro suelo (blanco).

Acosta et al, (2011) demostró que el frijol necesita para su crecimiento altas cantidades de nitrógeno, fosforo y potasio.

Araya and Hernández en el 2007 encontró que la composta hace que tenga un elevado contenido de materia orgánica que confiere una mejor estructura a nivel de porosidad del sustrato, a su vez sirve de sostén para la planta lo que permite el intercambio de aire, facilita la adsorción de nutrientes y en consecuencia el crecimiento del frijol.

Los resultados obtenidos concuerdan con los obtenidos con Acosta 2011 y Araya y Hernández 2007, en nuestro estudio podemos observar que la composta tuvo más disponible los nutrientes, debido a que contiene materia orgánica, ayuda a crear un balance óptimo de nutrientes y elementos que permiten a las plantas crecer sanas y fuertes aunque el fertilizante también propicia un buen crecimiento la cantidad de nutrientes se agota, lo mismo se observó para el tratamiento de puro suelo (blanco).

Análisis estadístico para la variable longitud del follaje figura 11.

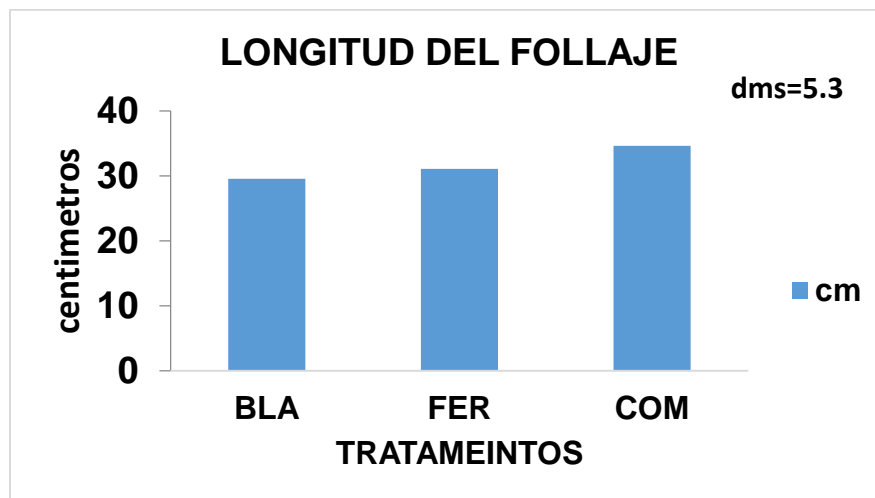


Figura 13. Anova simple para la variable de longitud del follaje.

En el análisis estadístico para la variable de longitud del follaje los diferentes tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo las plantas a las que se les adiciono composta tienen un 15% de follaje más largo que las plantas con puro suelo (blanco).

Jaramillo en el 2007 comprobó que las plantas de frijol que presentan deficiencia en niveles de nitrógeno presentan un menor crecimiento causando deficiencia en el follaje.

Álvarez en el 2007 menciona que los fertilizantes orgánicos son suplementos nutricionales que favorecen el crecimiento y rendimiento de los cultivos agrícolas, a través de la disponibilidad de altos niveles de nutrientes en el suelo.

Los resultados obtenidos concuerdan con los obtenidos con Jaramillo 2007 y Álvarez 2007, podemos observar que la composta propicio un mejor desarrollo en el follaje de las plantas debido a los nitritos estuvieron disponibles, aunque el

fertilizante también propicia un buen crecimiento la cantidad de nitrógeno va disminuyendo conforme a los días, lo mismo se observó para el tratamiento de puro suelo (blanco).

Análisis estadístico para la variable diámetro del tallo figura 14.

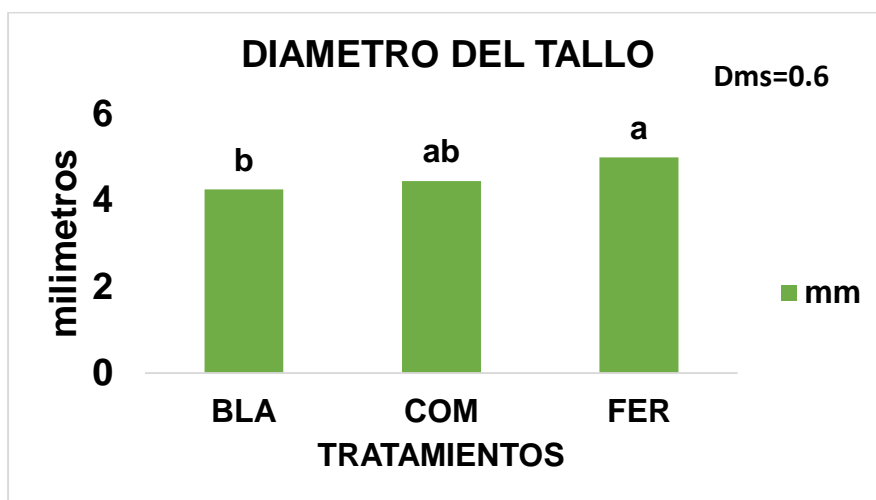


Figura 14. Anova simple para la variable de diámetro del tallo.

En el análisis estadístico para la variable de diámetro del tallo observamos que las plantas que se fertilizaron muestran una diferencia significativa con los demás tratamientos.

Rodríguez en 1997 demostró que la incorporación de fertilizantes en el suelo induce en la planta mayor desarrollo radicular, crecimiento, aumento de la biomasa vegetal y de frutos.

Rosales en el 2004 encontró que la presencia del fósforo en el frijol aumenta el crecimiento radicular lo que podría aumentar la captación de micronutrientes como hierro, pues este es comúnmente absorbido junto con macro nutrientes entre los que se encuentra el nitrógeno principalmente.

Los resultados obtenidos concuerdan con los obtenidos con Rodríguez 1997 y Rosales 2004, podemos observar que el fertilizante propicio un mejor desarrollo en el tallo de las plantas debido a los nitratos, aunque el fertilizante también propicia un buen crecimiento la cantidad de nitrógeno va disminuyendo conforme a los días, lo mismo se observó para el tratamiento de puro suelo (blanco).

Análisis estadístico para la variable longitud de la raíz figura 15.

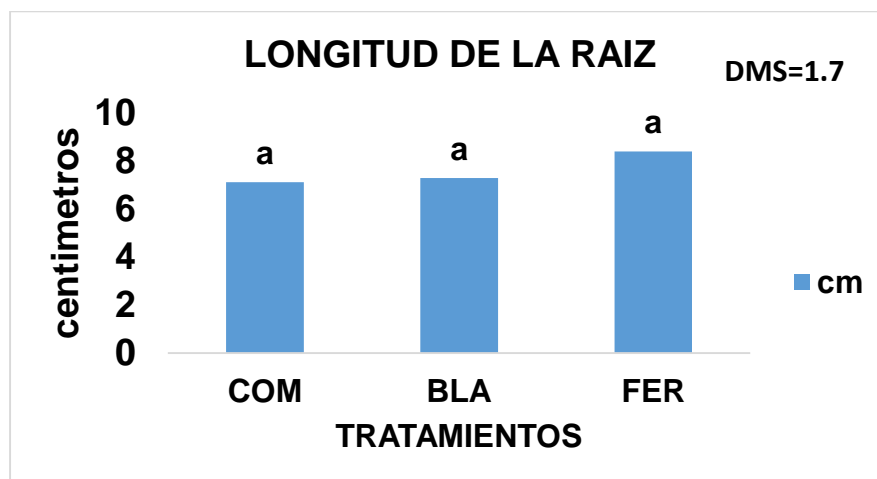


Figura 15. Anova simple para la variable de largo de la raíz.

En el análisis estadístico para la variable de largo de la raíz observamos que los tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo las plantas que fertilizamos tienen un 13% de raíz más larga que las plantas con puro suelo (blanco).

Vinicio en el 2002 encontró que las raíces pueden constituir un importante órgano para el almacenamiento de agua, minerales y carbohidratos.

La FAO en el 2002 encontró que la eficiencia de los fertilizantes se ve en el uso de la tierra y el agua. La profundidad de las raíces de los cultivos puede ser aumentada.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo demostrado por Vinicio 2002 y la FAO 2002 observamos que el fertilizante ayudó a que las raíces se desarrollaran más teniendo raíces más largas debido a que crea ecosistemas de micro-organismo cuyos químicos extraen elementos básicos del suelo y lo hacen disponibles para las plantas, los tratamientos con composta mostraron un menor crecimiento de la raíz debido a que inicialmente las plantas absorben preferiblemente nutrientes esenciales para suplir los requerimientos mínimos del cultivo, lo que conduce a un equilibrio nutricional, lo mismo se observa para los tratamientos con puro suelo (blanco).

Análisis estadístico para la variable peso de la planta figura 16.

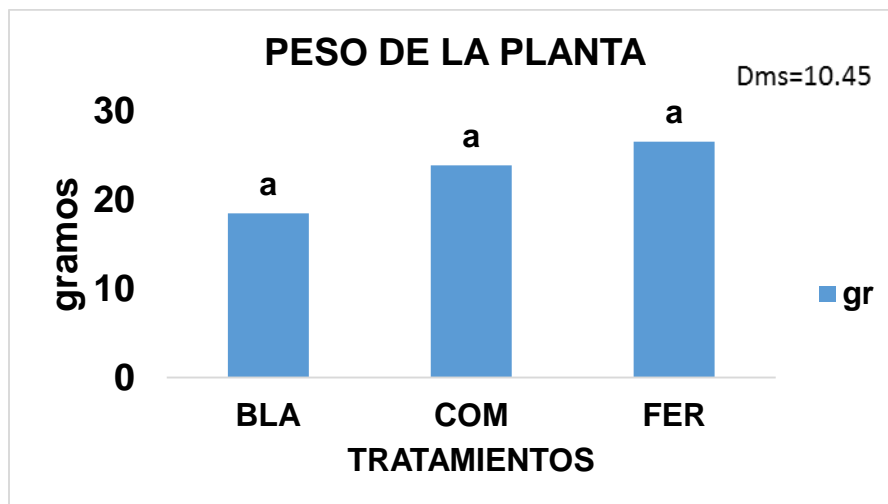


Figura 16. Anova simple para la variable de peso de la planta.

En el análisis estadístico para la variable de peso de la planta observamos que los tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo el tratamiento de plantas con fertilizante resultaron 30% más pesadas que las plantas con puro suelo (blanco).

Miller en el 2005 encontro que el fósforo es esencial para el crecimiento radical, en el proceso de floración, y en la formación de frutas y semillas.

La FAO en 2002 demostró a fin de obtener altos rendimientos, los fertilizantes son necesarios para proveer a los cultivos con los nutrientes del suelo que están faltando.

Los resultados concuerdan con los demostrados por Miller 2005 y la FAO 2002 en nuestro estudio encontramos que el fertilizante provee a las plantas los nutrientes necesarios para tener un mejor crecimiento y por ello un mayor peso, aunque los tratamientos con composta también propiciaron un buen desarrollo, la absorción de los nutrientes es un proceso relativamente más lento, en el tratamiento con

puro suelo (blanco) se ve claramente que los nutrientes no fueron los suficientes para tener un mayor peso en la plantas.

Análisis estadístico para la variable peso del follaje figura 17.

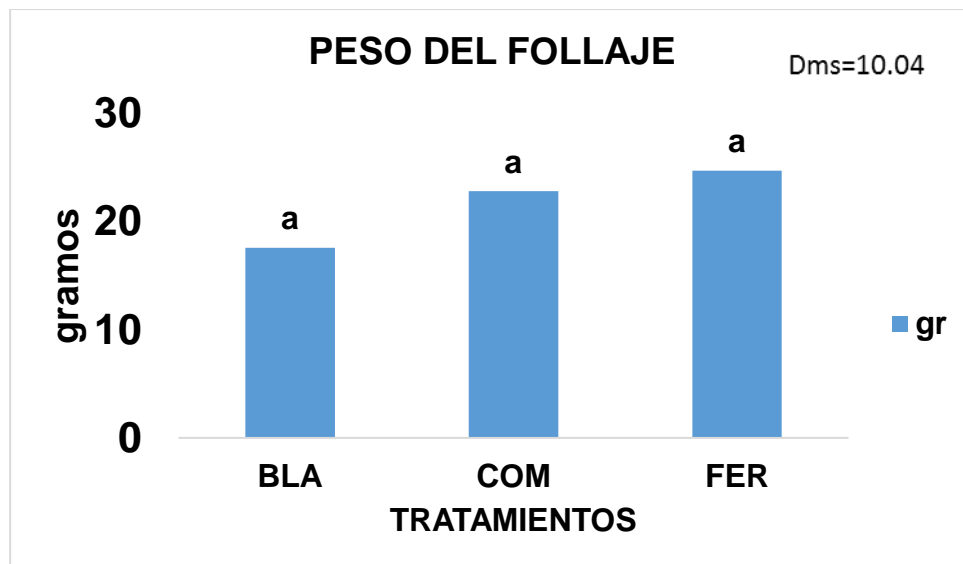


Figura 17. Anova simple para la variable de peso del follaje.

En el análisis estadístico para la variable peso de follaje observamos que los tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo las plantas que fertilizamos tienen un 29% de mayor peso que las plantas con puro suelo (blanco).

Taiz y Zeiger en el 2007 encontro que el nitrógeno es constituyente de aminoácidos, proteínas, coenzimas, ácidos nucleicos, clorofila, etc., y tiene un gran impacto en el crecimiento vegetativo.

Ramírez en 1998 demostro que la fertilización química enriquece el suelo y favorece el crecimiento vegetal debido a que esta rápidamente disponible para la asimilación por parte de la planta.

Los resultados concuerdan con los de Taiz 2007 y Ramírez 1998 en nuestro estudio demostramos que las plantas con tratamiento de fertilizante tuvieron un mayor follaje debido a que las plantas tuvieron un mejor desarrollo y crecimiento por obtener los nutrientes primarios dentro de los componentes del fertilizante con respecto al tratamiento de puro suelo (blanco)

Análisis estadístico para la variable peso de la raíz figura 18.

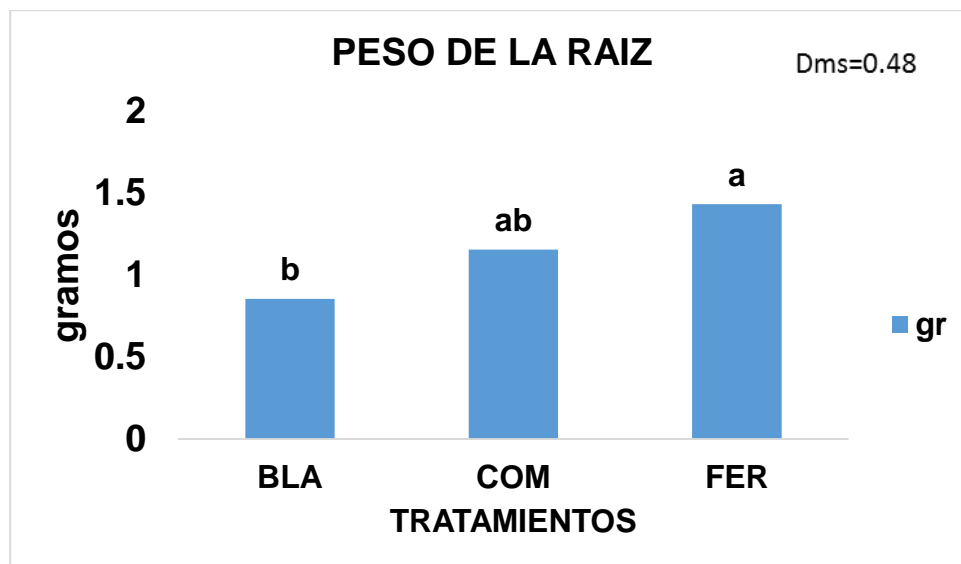


Figura 18. Anova simple para la variable de peso de la raíz.

En el análisis estadístico para la variable número de vainas observamos que los tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo las plantas a las adicionamos composta tienen un 28% más vainas que las plantas con puro suelo (blanco).

La FAO en el 2014 demostró que el flujo de nutrimentos en el sistema suelo-planta está en función del ambiente, la planta, y por una serie de complejas interacciones entre las raíces de las plantas, microorganismos, reacciones químicas y diferentes vías de movimiento.

Lynch en 2008 demostró que las raíces de las plantas crean un ecosistema distinto que puede tener una profunda influencia en el crecimiento de las plantas. Las raíces están influenciadas por el suelo en que viven.

Los resultados concuerdan con los de la FAO 2014 y Lynch 2008 en nuestro estudio encontramos que las plantas a las que se le aplicó fertilizante tuvieron un mayor crecimiento de la raíz y por ello mucho más peso ya que las sales minerales que contiene el fertilizante crean un hongo que se asocia (simbiosis) con las raíces de la planta y esto estimula el crecimiento de estas.

Análisis estadístico para la variable número de vainas figura 19.

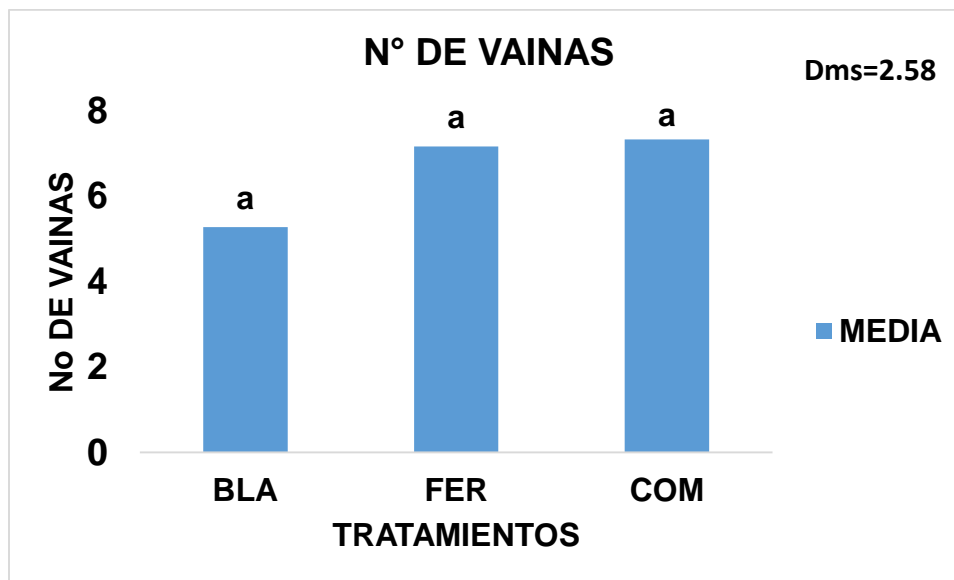


Figura 19. Anova simple para la variable de número de vainas.

En el análisis estadístico para la variable número de vainas observamos que diferentes tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo las plantas a las adicionamos composta tienen un 28% más de semillas que las plantas con puro suelo (blanco).

Calderón y Giraldo 2005 encontraron que los elementos como el nitrógeno, magnesio y fósforo aceleran el desarrollo de la planta y con él, la maduración, lo que lleva a la formación temprana del número de vainas hasta la etapa de maduración final.

Lynch en 2008 encontró que el nitrógeno es el constituyente esencial de las proteínas, está involucrado en todos los procesos principales de desarrollo de las plantas y en la elaboración del rendimiento.

Los resultados concuerdan con Calderón 2005 y Lynch 2008 en nuestro estudio demostramos que la composta ayudó a que las plantas produjeran un mayor

número de vainas se ve la clara diferencia en las plantas con puro suelo (blanco) las cuales tuvieron la cantidad de nutrientes necesarias, con respecto a las plantas que fueron fertilizadas la diferencia no fue mucha con las plantas con composta podemos decir que las plantas que tengan un buen suministro de nutrientes desde su inicio de crecimiento producirán mayores frutos.

Análisis estadístico para la variable número de semillas figura 20.

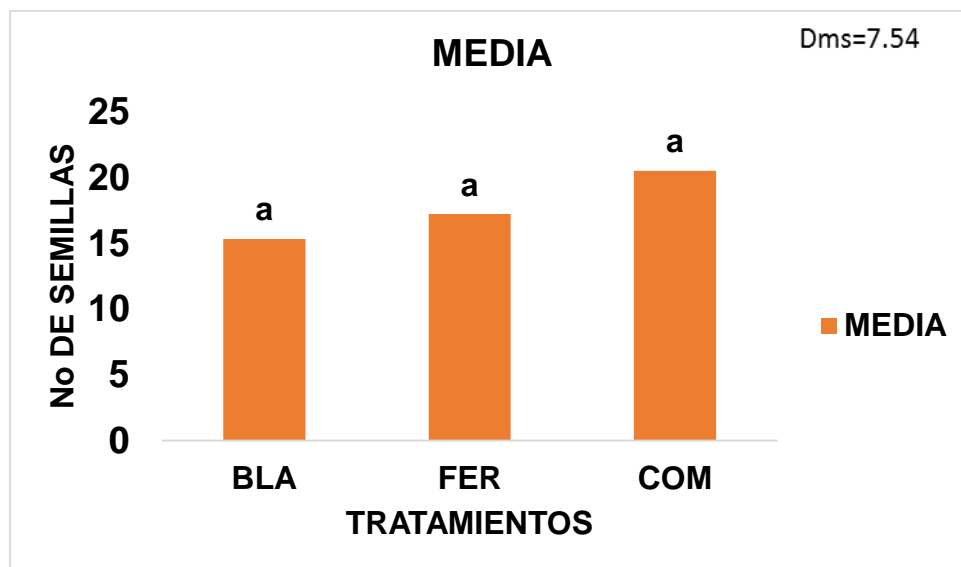


Figura 20. Anova simple para la variable de número de semillas.

En el análisis estadístico para la variable número de semillas observamos que los diferentes tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo las plantas a las adicionamos composta tienen un 25% más semillas que las plantas con puro suelo (blanco).

Taiz y Zeiger en el 2007 demostró que el nitrógeno tiene influencia en la floración y fructificación, y por ende en el rendimiento del cultivo.

Keita en el 2001 encontró que las concentraciones altas de nitrógeno en plantas de frijol ayudan a que se presente un desarrollo temprano de la planta, ya que es un compuesto esencial que está involucrado en el desarrollo del frijol.

Nuestros resultados concuerdan con los de Taiz 2007 et al y Keita 2001 la materia orgánica contenida en la composta nos produjo al final del cultivo de frijol un mayor número de semillas, ya que los tratamientos con composta ayudaron al suelo a provechar los ciclos naturales para una mayor producción y descomposición de los elementos, observamos que el fertilizante también ayuda a una mayor producción de semillas con respecto al tratamiento con puro suelo (blanco) demostramos que para aumentar la producción de frijol es necesario el aporte adicional de nutrientes al suelo y tienen un mayor resultado la composta.

Análisis estadístico para la variable peso de semillas figura 21 utilizando statgrafic con un error $>0.05\%$, letras iguales no hay diferencia significativa.

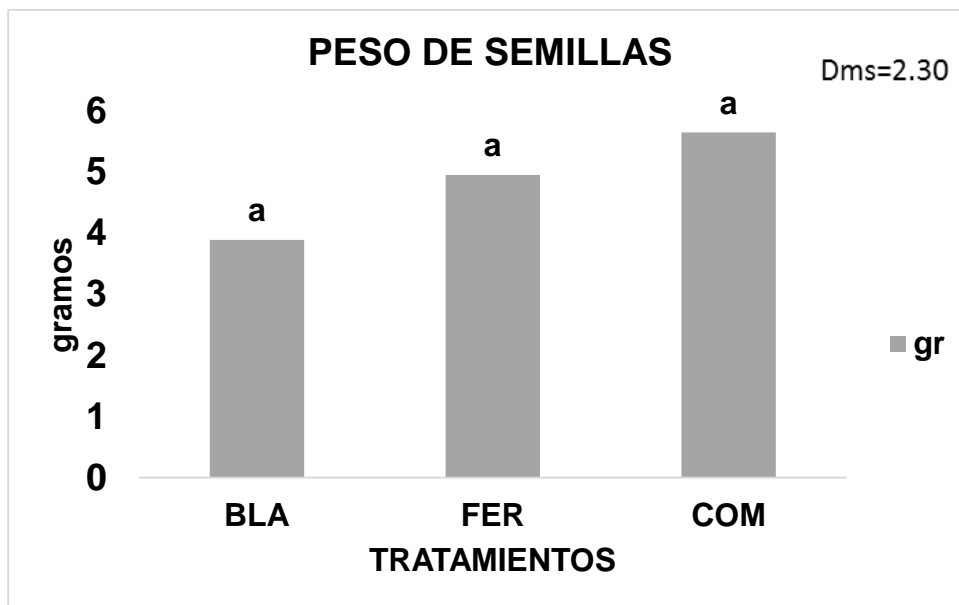


Figura 21. Anova simple para la variable de peso de semillas.

En el análisis estadístico para la variable peso de semillas observamos que los diferentes tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo las plantas a las adicionamos composta tienen un 31% más peso que las plantas con puro suelo (blanco).

Calderón y Giraldo en el 2005 afirman que el uso de fertilizantes orgánicos, incrementan a través del aumento de los niveles de nutrientes minerales disponibles para la planta, los niveles endógenos de giberelina, auxina y citocinina, lo cual genera cambios en los procesos fisiológicos gobernados por estas fitohormonas; las mismas que repercuten en una mayor floración, fructificación, tuberización y rebrote de hojas principalmente.

Celis et al. en el 2010 encontró que el tamaño de la semilla es uno de los componentes del rendimiento que solo puede ser afectado por las condiciones que ocurren en la fase final de llenado del grano, siendo esta manera uno de los

componentes del rendimiento que presenta menor interacción ambiental, es factible obtener altos rendimientos de frijol con nutrición basada en composta.

Los resultados concuerdan con los Calderón et al. 2005 y Celis et al. 2010 en nuestro estudio podemos ver que el tratamiento con composta propicio a un mayor peso en la semilla de las plantas de frijol esto debido a que hubo una mayor cantidad de minerales disponibles para las plantas, se observa que el fertilizante también ayuda con el rendimiento, en comparación con las plantas con puro suelo (blanco) en las cuales no tuvimos mucha cosecha esto debido a la falta de nutrientes necesarios para la floración y fructificación.

Análisis estadístico para la variable número de semillas por vainas figura 22.

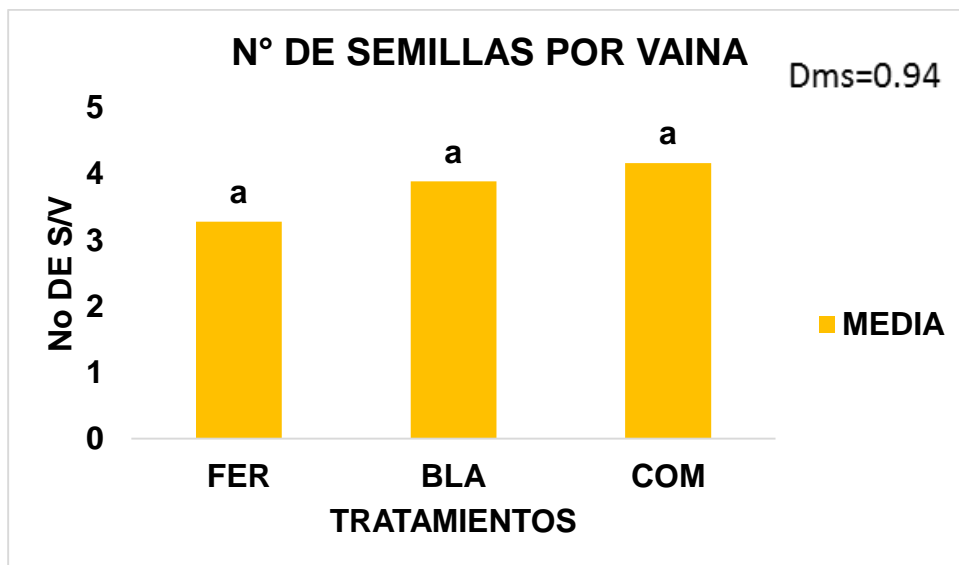


Figura 22. Anova simple para la variable de número de semillas sobre vainas.

En el análisis estadístico para la variable número de semillas sobre vainas observamos que los diferentes tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo las plantas a las adicionamos composta se relacionan un 7% más que las plantas con puro suelo (blanco).

La FAO en el 2002 demostro que el Nitrógeno (N) es el motor del crecimiento de la planta. Suple de uno a cuatro por ciento del extracto seco de la planta. Es absorbido del suelo bajo forma de nitrato (NO_3^-) o de amonio (NH_4^+).

Keita en el 2001 comprobo que si el suministro de nutrientes en el suelo es amplio, los cultivos probablemente crecerán mejor y producirán mayores rendimientos.

Los resultados concuerdan con los de la FAO 2002 y Keita 2001 en nuestro estudio encontramos que aunque el fertilizante contiene nitrógeno y fosfato importantes para la planta estos no son los suficientes para toda la etapa de crecimiento de la planta y tienden a agotarse en cambio en la composta la degradación de los

nutrientes es gradualmente y hay un mayor aprovechamiento en la planta para un mayor rendimiento hasta el final de su desarrollo, lo mismo se observa para los tratamientos con puro suelo (blanco).

7.3.-Producción de fotosintatos.

En las figuras siguientes se muestran los análisis estadísticos de los diferentes metabolitos producidos por las plantas, mediante el programa Statgraphic, con un error de $> 0.05\%$, letras iguales no hay diferencia estadística.

Análisis estadístico para la variable de producción de clorofila total figura 23.

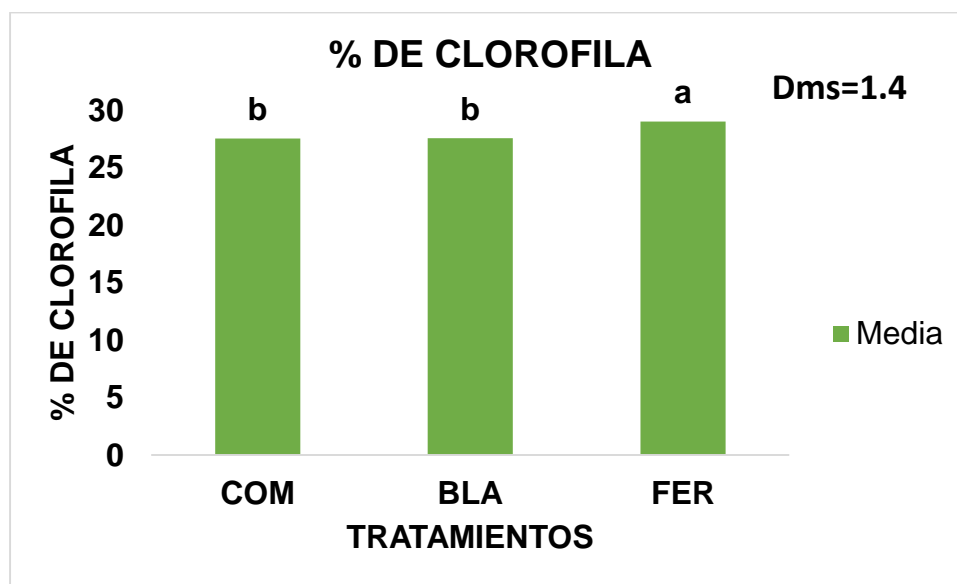


Figura 23. Anova simple para la variable del porcentaje de clorofila total.

En el análisis estadístico para la variable producción de clorofila total el tratamiento en el cual las plantas fueron fertilizadas mostró diferencia significativa con respecto a los otros tratamientos.

Las plantas que fueron fertilizadas tuvieron un 5% más de producción de clorofila que los otros tratamientos.

Warren et al, en el 2005 encontraron que el contenido de clorofila se ve favorecido en la presencia de nitrógeno, fosforo y potasio.

Kopsell et al, en el 2004 encontró que uno de los factores importantes que indican la eficiencia de la fertilización nitrogenada es evaluando el contenido de pigmentos fotosintéticos en las hojas.

Los resultados obtenidos concuerdan con los obtenidos con Warren et al 2005 y Kopsell et al 2004, sin embargo en nuestro estudio podemos observar que el fertilizante tuvo más disponible los nitratos, que aunque nuestra composta contiene materia orgánica el nitrógeno de esta todavía no estuvo disponible para la planta, es posible que esto sucediera por falta de microorganismos degradadores de este material orgánico, lo mismo se observó para nuestro tratamiento con puro suelo (blanco).

Análisis estadístico para la variable dinámica de producción de clorofila figura 24.

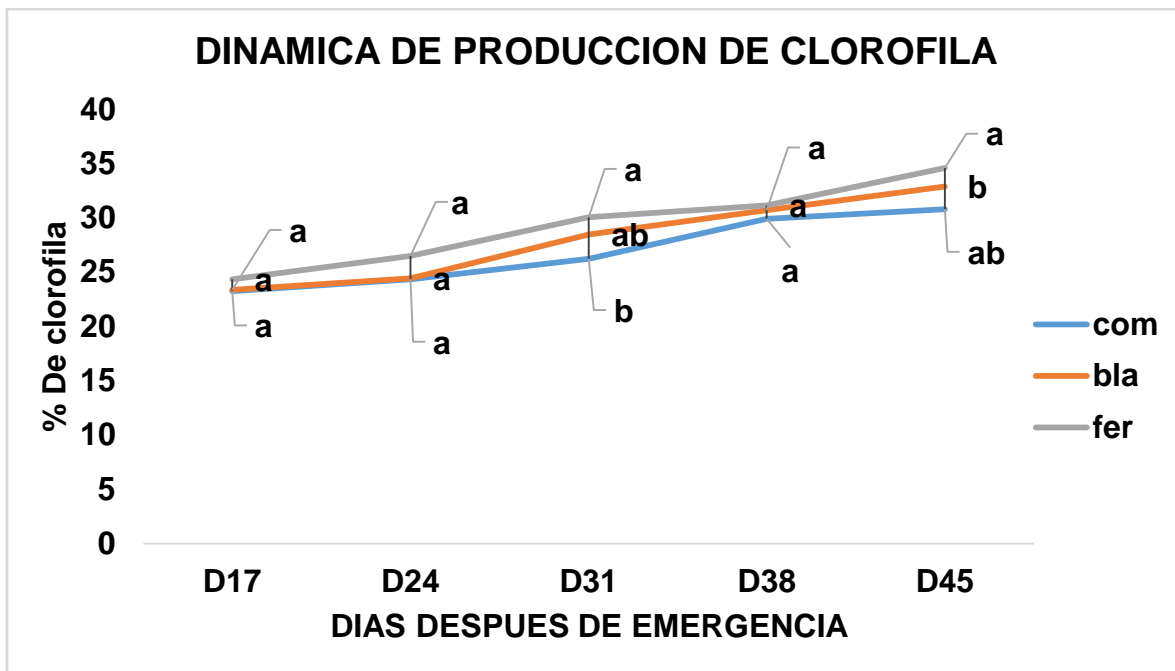


Figura 24. Dinámica de producción del por ciento de clorofila en los días medidos.

En el análisis estadístico para la dinámica de producción de clorofila total el tratamiento en el cual las plantas que fueron fertilizadas mostraron diferencia significativa en los días 31 y 45 después de la emergencia con respecto a los otros tratamientos.

Para el día 17 después de emergencia el tratamiento con fertilizante presenta un 4% más producción de clorofila con respecto al tratamiento con puro suelo (blanco).

Para el día 24 después de emergencia el fertilizante tiene un 8% más de producción de clorofila con respecto al tratamiento con puro suelo (blanco).

Para el día 38 después de la emergencia el fertilizante mostro una diferencia del 5% con respecto al tratamiento con puro suelo (blanco).

Garate y Bonilla en el 2000 demostró que el nitrógeno favorece la absorción de Mg, lo que influencia a la síntesis de clorofila.

Sanclemente y Peña en el 2008 demostraron que la transferencia de los fosfatos de alta energía del ADP y ATP a otras moléculas (proceso denominado fosforilación), desencadena una gran cantidad de procesos esenciales para la planta. La reacción química más importante en la naturaleza es la fotosíntesis en este proceso, la energía solar es capturada en la ATP.

Los resultados concuerdan con Garete 2000 y Sanclemente 2008 en nuestro estudio de la dinámica de producción de clorofila demostramos que debido a que el fertilizante contiene dentro de sus componentes el fosforo el cual se mueve en la planta en forma de iones y está disponible para las reacciones que necesitan transferencia de energía, esto favorecen la producción de clorofila, la composta contiene materia orgánica rica en nutrientes pero esta debe pasar por un proceso de mineralización, teniendo la liberación de nutrientes para la planta de una manera más lenta.

7.4.-Produccion de deshidrogenasa.

Análisis estadístico para la variable de producción de deshidrogenasa total figura 25.

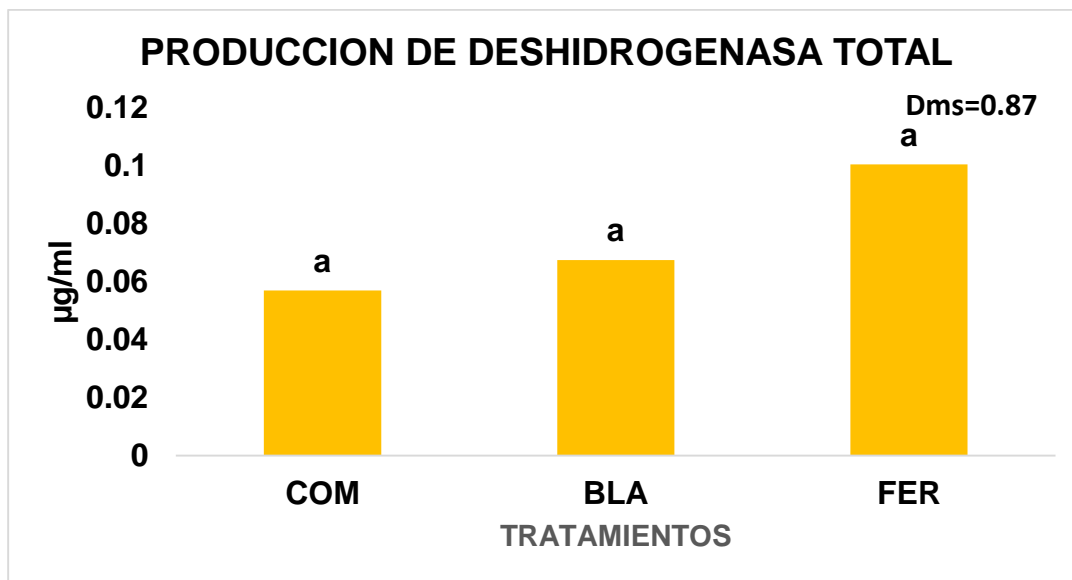


Figura 25. Anova simple para la variable producción de deshidrogenasa total.

En el análisis estadístico para la variable producción de deshidrogenasa total los diferentes tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo los suelos que fueron fertilizados tuvieron un 33% más de producción de deshidrogenasa que los tratamientos con puro suelo (blanco).

Tabatabai en 1994 encontro que los ciclos de los nutrientes en el suelo implican una serie de reacciones bioquímicas, químicas y fisicoquímicas. Está implícita la acción que ejercen los microorganismos, raíces y animales del suelo. Todas estas reacciones son mediadas por enzimas, que son proteínas catalizadoras por su alto poder de activación específico, siendo específicas para cada sustrato

La FAO en el 2002 dijo que los fosfatos derivados de residuos vegetales y animales han sido utilizados para estimular la calidad biológica, física y química del suelo .

Los resultados concuerdan con los obtenidos con Tabatabai 1994 y la FAO 2002 los cultivos leguminosos suministran la energía necesaria, el agua y los nutrientes a los microorganismos y reciben el nitrógeno que los microorganismos producen. Bajo condiciones favorables, las cantidades de nitrógeno son fijadas a través de la bacteria Rhizobium y junto con otros microorganismos realizan tareas básicas en el ecosistema como son cerrar los ciclos de los elementos o descomponer los restos orgánicos. En nuestro estudio podemos ver que los suelos que recibieron fertilizante tuvieron una mayor producción de deshidrogenasa debido a que el nitrógeno lo reciben directamente, la composta no favoreció la producción de la enzima en el suelo suponiendo los nutrientes no habían sido degradados por ciclos biogeoquímicos, los tratamientos con puro suelo (blanco) tiene pocos nutrientes y su asimilación es más lenta.

7.5.-Concentración de carotenos y licopenos.

Análisis estadístico para la variable de concentración de carotenos figura 26.

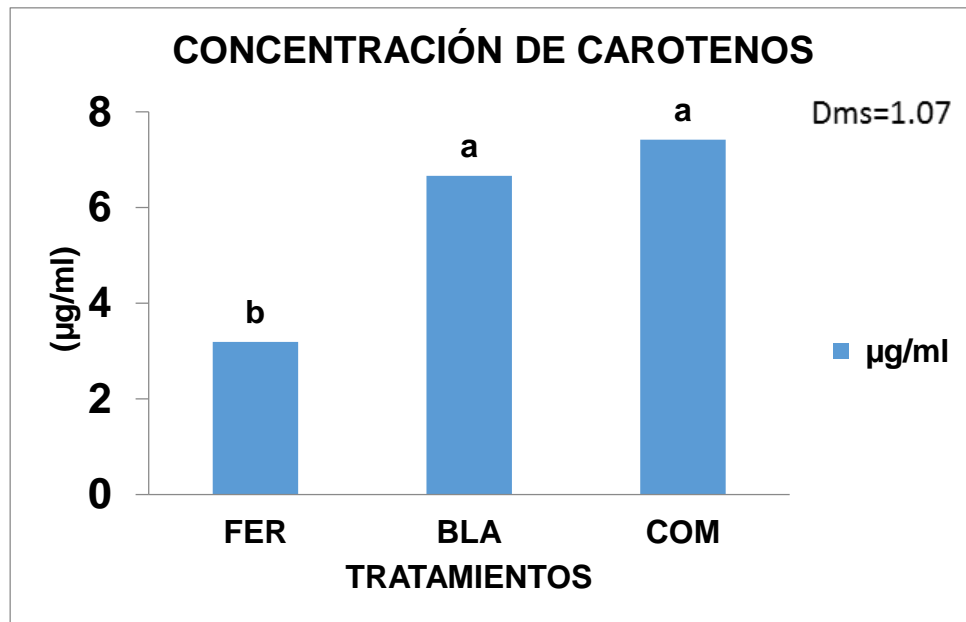


Figura 26. Anova simple para la variable concentración de carotenos.

En el análisis estadístico para la variable concentración de carotenos, el tratamiento en el cual a las plantas se le adiciono fertilizante mostro una diferencia significativa a los demás tratamientos.

El tratamiento con composta muestra un 10% más de producción de carotenos con respecto al tratamiento con puro suelo (blanco) y 57% más que las plantas a las que se les aplico fertilizante.

Huppe and Turpin en el 2006 demostro que las fuentes de nitrógeno como el amonio no necesita tanta energía en la asimilación como la que se usa en el nitrato, esto hace disponible energía que se puede direccionar a la síntesis de carotenoides.

Avalos y Pérez en el 2009 dijo que el conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo constituye el metabolismo. La mayor parte del carbono, nitrógeno y de la energía termina en moléculas comunes a todas las células necesarias para su funcionamiento.

Los resultados concuerdan con Huppe 2006 y Avalos y Pérez 2009 en nuestro estudio encontramos que los tratamientos a los que se le agregaron composta tuvieron una mayor concentración de carotenos, esto se debe a que la composta tuvo amonio como fuente de nitrógeno lo cual propicio que la energía se utilizara para la síntesis de carotenos, observamos que el tratamiento con puro suelo (blanco) también tuvo una buena producción de carotenos esto debido al ciclo del nitrógeno y los microorganismos que se encargan de fijar el nitrógeno hacen que el suelo se vuelva a regenerar en nutrientes obteniendo las fuentes de nitrógenos necesarias para la síntesis de estos compuestos. Observamos que el fertilizante no tuvo una buena producción de carotenos.

Análisis estadístico para la variable de concentración de licopenos figura 27.

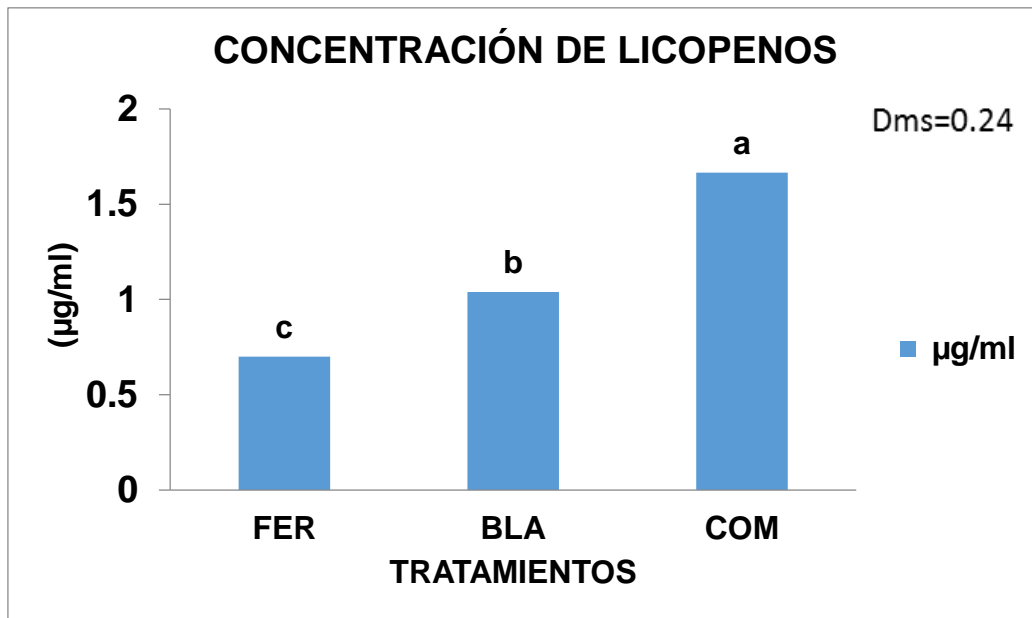


Figura 27. Anova simple para la variable concentración de licopenos.

En el análisis estadístico para la variable concentración de licopenos, el tratamiento en el cual a las plantas se le adiciono composta mostro una diferencia significativa a los demás tratamientos.

El tratamiento con composta muestra un 38% más de producción de licopenos con respecto al tratamiento con puro suelo (blanco).

Núñez et al en el 2005 encontró que como bien se sabe que las compostas son ricas en diversos nutrientes y quizás esa sea la razón por la cual la planta entra en un tipo de estrés y lo refleja en el contenido de licopenos.

Lumpkin en el 2005 demostro que la aplicación de composta aumenta el contenido de licopeno.

Los resultados concuerdan con los de Núñez 2005 y Lumpkin 2005 en nuestro estudio los tratamientos con composta mostraron una mayor producción de licopenos, ya que la planta entra en estrés al tratar de degradar los compuestos de la composta, lo mismo que observa para el tratamiento con puro suelo (blanco), en comparación del tratamiento con fertilizante como las plantas tenían los nutrientes necesarios para crecer, formar frutos y flores no hubo ese estrés en la planta.

7.6.-Concentración de fenoles y flavonoides.

Análisis estadístico para la variable de concentración de fenoles figura 28.

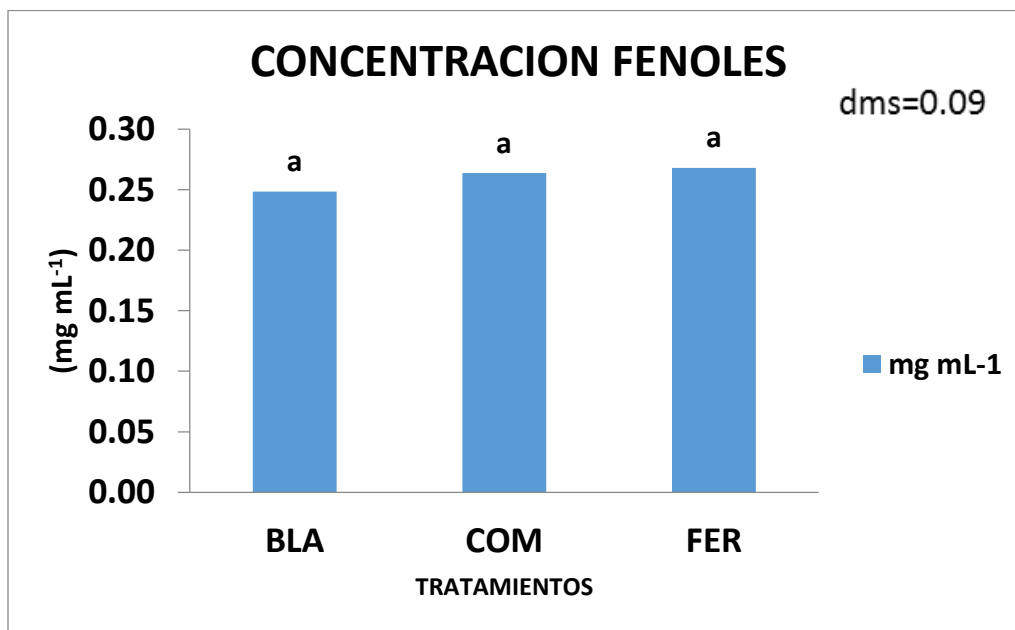


Figura 28. Anova simple para la variable de concentración de fenoles.

En el análisis estadístico para la variable concentración de fenoles, los tratamientos no mostraron diferencia significativa sin embargo, los tratamientos

que adicionamos fertilizantes tienen de un 7 a 8 % más de concentración de fenoles que las plantas con los otros tratamientos.

Martin et al, en el 2013 comprobó que los desechos de la actividad agrícola en general, considerando tanto cultivos protegidos como no protegidos, contienen grandes cantidades de metabolitos primarios como lípidos, proteínas y carbohidratos y un amplio rango de compuestos bioactivos fenólicos, terpenoides y alcaloides entre otros.

Avalos y Pérez en el 2009 demostraron que el conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en un organismo constituye el metabolismo. La mayor parte del carbono, del nitrógeno y de la energía termina en moléculas comunes a todas las células, necesarias para su funcionamiento y el de los organismos. Se trata de aminoácidos, nucleótidos, azúcares y lípidos, presentes en todas las plantas y desempeñando las mismas funciones.

Los resultados obtenidos concuerdan con Martin 2013 y Avalos 2009 en nuestro estudio podemos ver que los tratamientos que tienen fertilizante tuvieron una mayor producción de fenoles ya que este provee los elementos necesarios para la formación de estos metabolitos a través de diferentes reacciones que tienen lugar en las células de las plantas, con respecto a las plantas con puro suelo (blanco) observamos que la producción de fenoles no fue tan alta debido a la falta de moléculas de las cuales se forman los compuestos fenólicos.

Análisis estadístico para la variable de concentración de flavonoides figura 29.

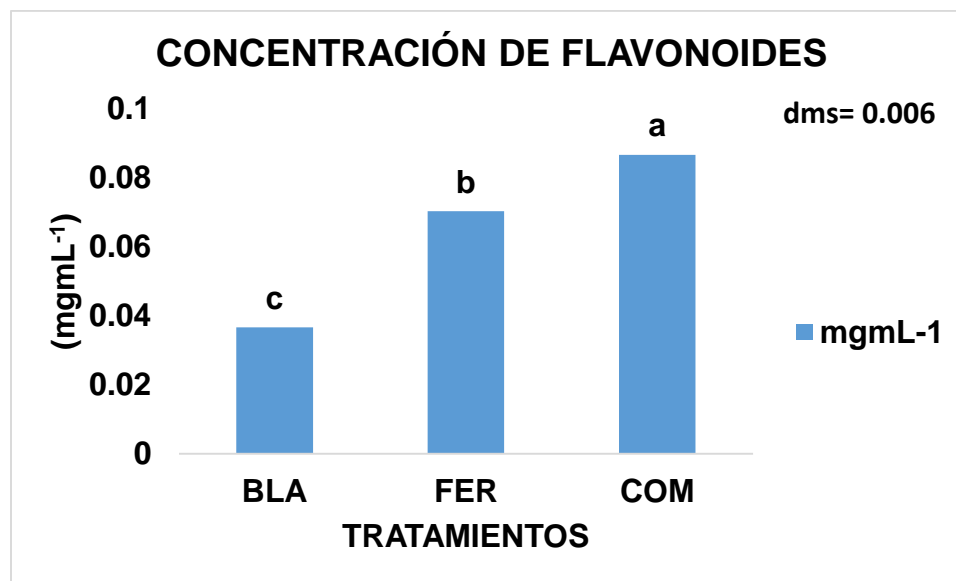


Figura 29. Anova simple para la variable de concentración de flavonoides.

En el análisis estadístico para la variable concentración de flavonoides, el tratamiento en el cual a las plantas se le adiciono composta mostro una diferencia significativa a los demás tratamientos.

Avalos y Pérez en el 2009 demostraron que las plantas destinan una cantidad significativa del carbono asimilado y de la energía a la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos, y que se denominan metabolitos secundarios.

Anaya y Espinosa en el 2001 demostraron que los flavonoides estimulan las simbiosis benéficas, que culminan en la formación de nódulos fijadores de nitrógeno. Los tipos de flavonoides producidos por cada especie leguminosa no

son idénticos. En el frijol se producen, por ejemplo, eriodietiol, naringenina y genisteína. El nitrógeno es el segundo factor limitante más importante, después del agua, para el establecimiento de cultivos.

Los resultados concuerdan con los Avalos 2009 y Anaya 2001 en nuestro estudio observamos que los tratamientos que contienen composta tienen una mayor concentración de flavonoides cabe señalar que la eficiencia de las vías metabólicas depende del estado de desarrollo y crecimiento de las plantas, de su metabolismo primario y de los factores medioambientales de los lugares que habitan. Los metabolitos secundarios son derivados de vías laterales a la producción de los metabolitos primarios, particularmente de la fotosíntesis. Encontramos también que los tratamientos con fertilizantes también tienen una mayor concentración de flavonoides con respecto al tratamiento con puro suelo (blanco) esto se debe a que los flavonoides estimula la simbiosis con los microorganismo fijadores de nitrógeno.

XIII.-CONCLUSION

Los suelos de los tratamientos mostraron que son suelos moderadamente alcalinos con predominancia de textura limoso-arenosa.

La cuantificación de fenoles, por el método de Folinciocalteu se determinó que las muestras analizadas no mostraron diferencia significativa entre los tratamientos, siendo las plantas con fertilizante el tratamiento que tuvo la mayor concentración de fenoles.

La concentración de flavonoides, por el método de Tricloruro de Aluminio demostró que las plantas de frijol, contienen cantidades de flavonoides. Las plantas de frijol tratadas con composta tuvieron diferencia significativa con respecto a los otros tratamientos. Es posible que esto se deba a que la composta contiene mayor diversidad nutricional. También es posible que la composta este provocando estrés y esta sea la causa del aumento en la producción de flavonoides.

En el metabolismo intervienen reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o viceversa. Los metabolitos obtenidos son derivados de vías laterales a la producción de los metabolitos primarios, particularmente de la fotosíntesis.

Para obtener una buena producción de fenoles y flavonoides es necesario tener una buena fuente de carbono, nitrógeno y energía para que al momento de realizar el metabolismo primario dentro de las células puedan formar las moléculas necesarias para la formación de los compuestos fenólicos, teniendo en cuenta que las rutas metabólicas dentro de la planta se relacionan entre sí, y son sucesiones de reacciones químicas que parten de un sustrato para obtener varios productos finales a través de metabolitos intermediarios.

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol los cuales tiene una gran importancia actualmente debido a su capacidad antioxidante para prevenir enfermedades crónicas, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, inflamación crónica y muchas enfermedades degenerativas.

El contenidos de licopenos y carotenos las plantas tratadas con composta mostraron diferencia significativa con respecto a las plantas tratadas con fertilizante, esto indica que la planta al tratar de degradar la materia orgánica contenida en la composta entro en un estrés provocando una mayor producción de estos compuestos.

En cuanto la producción de la enzima deshidrogenasa, el tratamiento con fertilizante mostro 33 % más de producción de la enzima en relación a los otros tratamientos. Esto indica los fosfatos contenidos en el fertilizante resultan adecuados para estimular la actividad biológica del suelo.

IX.- BIBLIOGRAFIA

- Acosta G. J. A., Hernández G. and Jimenez H. (2011). *Variedades de frijol y producción de semillas INIFAP-ORCE-CEBAJ*. Guanajuato.
- Acosta J. and Paolini Y. (2005). Actividad de la enzima deshidrogenasa en suelo calciorthids enmendado con residuos orgánicos. *SciELO*.
- Agenda estadística Chiapas. (1991). Chiapas.
- Albuquerque G. (29 de Abril de 2011). Biosensor evaluation of the antioxidant activity of wines and teas. *Interference studies and comparison with other methods*, 17.
- Aloe J. and Toribio M. (2 de Septiembre de 2007). *Análisis de suelos guía práctica de muestreo*. Obtenido de <http://www.profertilnutrimentos.com.ar/images/archivos/?id=128>.
- Álvarez P. J. M. (2007). *Manual de compostaje para la agricultura ecológica*. Andauca: Albanta creativos.
- Anaya A. L. and Espinosa G. F. J. (2001). Simbiosis Rhizobium leguminosas. En *Relaciones químicas entre organismos: aspectos básicos y perspectivas de su aplicación* (págs. 122-123). México: Plaza y Valdes.
- Anderson G. (2001). Hypocholesterolemic effects of oat bean products. *Michigan Dry Bean Digest*, 2-5.
- Araya R. and Hernández J. C. . (2007). *Protocolo para la producción local de semilla de frijol*. San Jose, Costa Rica.
- Avalos G. A. and Pérez U. E. (2009). Serie Fisiología vegetal. Madrid.

Bitocchi E. (2013). Molecular analysis of the parallel domestication of the common bean (*Phaseolus vulgaris*) in Mesoamerica and the Andes. En *New Phytol* (págs. 300-313).

Boletín de reseña. (1985).

Calderon S. and Giraldo A. (2005). Respuesta del frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.) a la aplicación de gallinaza a niveles constantes de N. P. Y K. . *Agronomía Colombiana*, 23-32.

Celis V. R., Peña V. C. B. (2010). Caracterización morfológica de las semillas y consumo de reservas durante la emergencia de plántulas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) silvestres y domesticado. *Fac Agron*, 61-87.

Chang M. H., Yang H. M. and Chern J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *J. Food Drug Anal.*, 178-182.

FAO. (2002). *World Fertilizer use Manual*. Paris: IFA.

FAO. (2014). *Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura*. Obtenido de Portal de suelos de la FAO:
<http://www.fao.org/soils-portal/levantamiento-de-suelos/propiedades-del-suelo/propiedades-biologicas/es/>

Fernández P. J. V. (2011). Barrido sistemático de la actividad antioxidante total y el contenido de compuestos fenólicos (flavonoides y fenoles totales) de alimentos vegetales. 52-56.

Ficha técnica. (2015). *DELCORP S. A.* Obtenido de DELCORP S. A.:
<http://www.delcorp.com.ec/index.php/divisiones/fertilizantes/fertilizantes-simples/fosfato-diamonico-dap>

Flores L. M. (2015). el cultivo de frijol en México. *Revista digital universitaria*, 3-4.

- Gálpaz N. (2006). A chromoplast-specific carotenoid biosynthesis pathway is revealed by cloning of the tomato white-flower locus. *Plant Cell*, 18.
- Garate A. and Bonilla I. (2000). Fundamentos de Fisiología vegetal. En A.-B. J. M., *Nutrición mineral y producción vegetal* (pág. 113). Barcelona: McGraw-Hil Interamericana.
- García, A. (1981). *Experimentos en microbiología del suelo*. México, DF: Continental.
- Guisado R., Bordez G., Garcia M. (2013). *Oxidación y producción de radicales libres*. Granada.
- Huppe H. C. and Turpin D. H. (2006). Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. *Ecología aplicada*, 93-99.
- Jaramillo J. R. V. (2007). *Manual técnico buenas prácticas agrícolas en la producción de tomate bajo condiciones protegidas*. Colombia: FAO.
- Keita K. A. (2001). *Nutrición, regulación del crecimiento y desarrollo vegetal*. Saltillo, Coahuila: Buenavista.
- Kopsell D., Lefsrud M. and Curran J. (2004). Variation in lutein, carotene, and chlorophyll concentrations among brassica oleracea cultivars and seasons. *Horticultural Science*, 39.
- Lara M. F. (2015). El cultivo de frijol en México. *Revista digital universitaria*, 3-4.
- León R., C. I. (2007). Metabolic engineering of ketocarotenoids biosynthesis. *Revista de investigación y difusión científica*, 43.
- López L. M. (2002). Flavonoides. *Fitoterapia*, 108-114.

- Lumpkin H. (2005). A comparison of lycopene and other phytochemicals in tomatoes grown under conventional and organic management systems. *Technical Bulletin N°34*, 10.
- Lynch J. M. (2008). Microbes are rooting for better crops. *New Scientist*, 45-49.
- Martin R. E. (2013). *Diseño experimental de una planta de extracción de licopenos*. Almería: Universidad de Almería.
- Martínez F. A., Gonzalez G. J., Culebras J. M. and Tunon M. J. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. En *Nutricion Hospitalaria* (págs. 271-278).
- Masson B. C., Giraud E., Perret X. and Jaques B. (2009). *Establishing nitrogen-fixing symbiosis with legumes: how many rhizobium recipes? Trends in Microbiology*.
- Miller C. E. (2005). *Plant Physiology*. Biotech books.
- Núñez A. N., Garcia P. N. and Medina T. M. G. (2005). Efecto sobre el contenido de licopeno de tomate sembrado en invernadero bajo diferentes sistemas de cultivo. *VII Congreso nacional de ciencias de los alimentos y III Foro de ciencia y tecnología de los alimentos*, (pág. 6). Celaya, Guanajuato.
- Pascual, J. (1995). *Efectividad de los residuos orgánicos en la mejora de la calidad de los suelos áridos: Aspectos Biológicos y Bioquímicos*. ESPAÑA: Tesis doctoral.
- Puente, A. J. (2006). *Consejería de agricultura y pesca*. Obtenido de Manual de compostaje:
http://www.juntadeandalucia.es/agriculturaypesca/portal/www/portal/com/bin/portal/DGAEcológica/estudiostales/estudio_compost.pdf

- Ramírez G. (1998). *Efecto de la fertilización con nitrógeno y fósforo del frijol (Phaseolus vulgaris)*. Costa Rica: Ed. Agronomía.
- Reyes F. G. (6 de Enero de 2007). *Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural pesca y alimentación*. Obtenido de Subsecretaría de desarrollo rural.
- Robards K., Prenzler D. and Tucker G. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. En *Food Chemistry* (págs. 401-436).
- Rodríguez M. (1997). *Fertilización foliar en el cultivo de tomate en condiciones de inveradero*. Montecillo Mex.: Tesis doctoral EDAF-IRENAT-CP.
- Rosales S. R. (2004). *Variedades mejoradas de frijol del INIFAP*. Texcoco, México : Libro técnico num 16.
- Sanclémente M. and Peña E. (2008). Crecimiento y la eficiencia fotosintética bajo diferentes concentraciones de nitrógeno. *Acta Biológica Colombiana*, 13.
- Shing S. P., Teran H., Muñoz C. G., y Takegami J. C. (1999). Two cycles of recurrent selection for seed yield in common bean. En *Crop Science* (págs. 391-397).
- Skujins, J. (2000). *Enzymes in soil*. New York: McLaren and G. H. Peterson.
- Tabatabai M. (1994). Soil enzymes in . En A. J. Weaver R. W., *Methods of soil analysis Part 2. Microbiological and Biochemical properties Soil Science Society of America* (págs. 775-833). USA: Bottonmley.
- Taiz L. and Zeiger E. (2007). *Fisiología vegetal*. Universitat Jaume.
- Técnicoagricolas. (24 de Agosto de 2013). *Ciclo del potasio*. Obtenido de Gabinete de Ingenieros Técnicos agrícolas.
- Tecnum. (28 de Julio de 2009). *Ciclo del fósforo*. Obtenido de <http://www.tecnum.es/asignaturas/ecologia/hipertexo/04ecosis/137cicp.htm>

Vinicio G. M. (2002). Fertilización foliar, principios y aplicaciones. *Laboratorio de suelos y foliares* (pág. 145). Costa Rica: Melendez.

Vitale A. A., Bernatene E. A. and Pomilio B. A. (2010). Carotenoides en quimioprevención: Licopeno. *SCIELO*, 1-4.

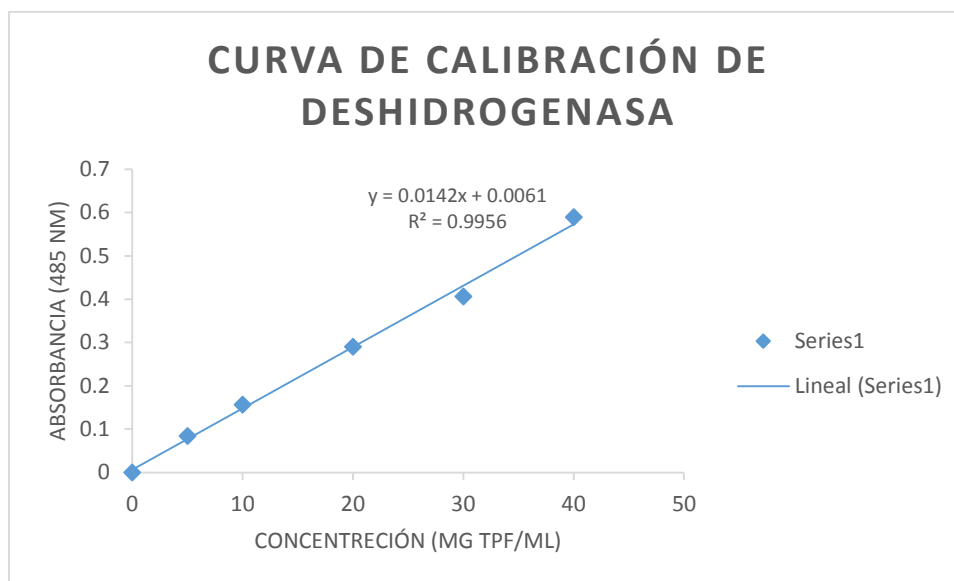
Warren C. R., Mcgrath J. F. and Adams M. A. (2005). Differential effects of N, P and K on photosynthesis and partitioning. *Annals of Forest Science*, 62.

Winkel S. B. (2001). Flavonoid Biosynthesis. *Plant Physiology*, 85-93.

X.- ANEXOS

Preparación de la curva de calibración de 1,3,5-trifenilformazano

Se toman 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 4.0 ml de la solución de TPF en matraces volumétricos de 50 ml. Se adicionan 8.3 ml de solución de amortiguador TRIS pH 7.6 a cada matraz y se aforan con metanol (o acetona) a 50 ml. Las concentraciones finales que se obtienen son 0, 5, 10, 20, 30 y 40 μg TPF/ml. Se lee en espectrofotómetro a una longitud de onda de 485 nm. Controles Los controles se preparan con 5 mL de solución amortiguadora TRIS sin adicionar TTC, y se tratan igual que las muestras.



Anexo 1. Curva patrón de la actividad de la deshidrogenasa.

Cálculos

La actividad de la deshidrogenasa en suelos se expresa como $\mu\text{g TPF/g}$ suelo por día. Los valores obtenidos de absorbancia en las muestras analizadas son interpolados en la curva de calibración para obtener la concentración del TPF. Como blanco se utilizan los controles de suelo. Para obtener la actividad de cada muestra se utiliza la siguiente fórmula:

$$A_D = \frac{V \{ [TPF]_M - [TPF]_C \}}{s_c}$$

s_c

Donde:

A_D = actividad de la lipasa, en $\frac{\mu\text{g TPF}}{\text{g de suelo seco} \times \text{d}}$

$[TPF]_M$ = concentración de TPF en la muestra de suelo, en $\mu\text{g/mL}$

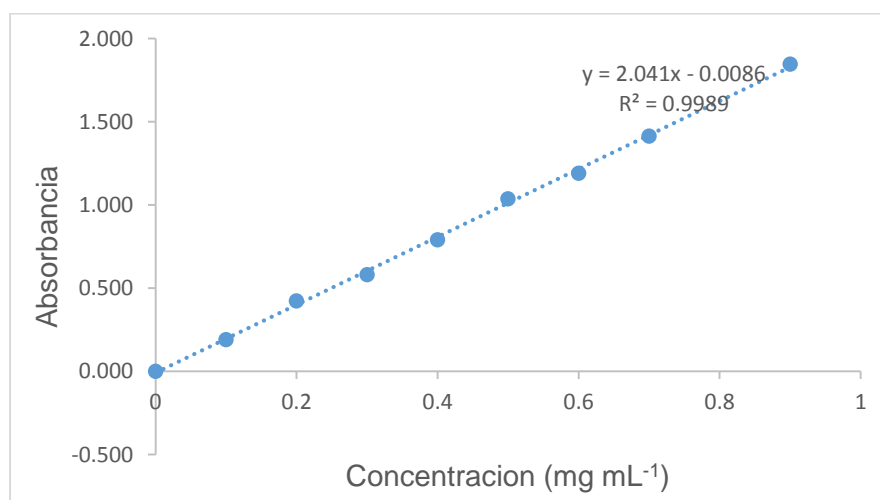
$[TPF]_C$ = concentración de TPF en la muestra de suelo, en $\mu\text{g/mL}$

s_c = peso del suelo en base seca de 1 g de suelo húmedo, en g

V = volumen de metanol (o acetona) adicionado a la suspensión, en mL

Fenoles totales (método colorimétrico de Folin- Ciocalteu)

Para la elaboración de la curva estándar se utilizó una solución estándar de ácido gálico (1 mg/mL) de la cual se tomaron volúmenes de 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 y 0.9 μL y se completó el volumen de cada uno a 500 μL con agua destilada. Las concentraciones finales obtenidas fueron 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 y 0.9 mg/mL, finalmente se leyó la absorbancia a 725 nm en espectrofotómetro marca HACH DR5000 (Makkar *et al.*, 2007).



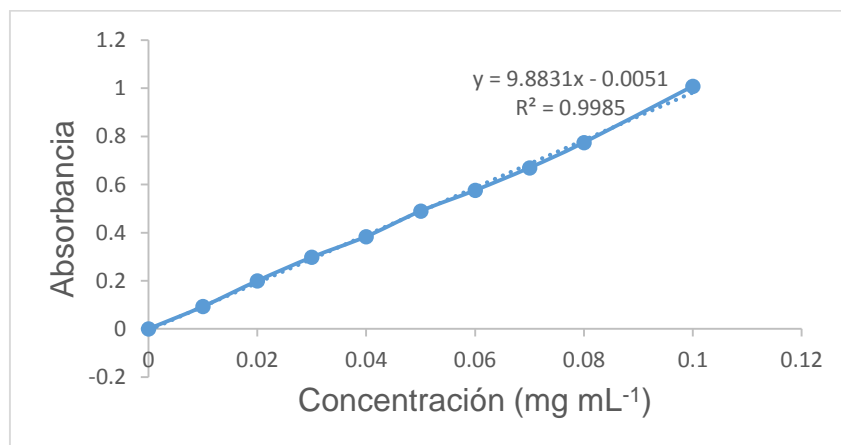
Anexo 2. Curva patrón de fenoles.

Se tomó una alícuota de 25 μL del extracto y se completó el volumen a 500 μL con agua destilada. A estas soluciones se le adicionaron 250 μL del reactivo de Folin-

Ciocalteu y 1250 μL de carbonato de sodio al 20%, la mezcla se agitó en un vortex y se incubó a temperatura ambiente cubriéndolo de la luz, esto durante 2 horas, transcurrido el tiempo se leyó la absorbancia a 765 nm en espectrofotómetro marca HACH DR5000. Los resultados fueron expresados en términos de equivalentes de ácido gálico (mg g^{-1}). Las pruebas se realizaron por triplicado (Singleton et al., 1999; Makkar *et al.*, 2007).

Flavonoides (método colorimétrico del cloruro de aluminio)

La determinación de la concentración de flavonoides se realizó mediante una curva de calibración realizada con una solución de quercetina, la cual se llevó a cabo disolviendo 10 mg en etanol al 80% para obtener una concentración de 0.1 mg mL^{-1} . Se hicieron las diluciones correspondientes para obtener concentraciones de 0, 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08 y 0.1 mg mL^{-1} . Finalmente se leyó la absorbancia a 415 nm en espectrofotómetro marca HACH DR5000.



Anexo 3. Curva patrón de flavonoides.

A una muestra de 0.5 mL de extracto se le agregaron 1.5 mL de etanol al 95%, 0.1 mL de cloruro de aluminio al 10%, 0.1 mL de acetato de potasio 1M y 2.8 mL de agua destilada. Posteriormente la mezcla se incubó a temperatura ambiente por 30 min y se midió la absorbancia de la muestra a 415 nm. Las pruebas se realizaron por triplicado (Chang *et al.*, 2002).