



Mensaje del Rector

Pág. 5

Modelos de Simulación para Cereales Forrajeros
en el Sur de Nuevo León, México

Pág. 6

Antagonismo de Cepas Nativas de *Trichoderma* sp.
aisladas en la Comarca Lagunera contra *Phymatotrichum omnivorum*

Pág. 34



Comité Editorial

Dr. Miguel A. Capó Arteaga

Editor en Jefe

Dr. Jesús Valdés Reyna

Editor Ejecutivo

Editores Técnicos

Dr. José L. Puente Manríquez

Fitomejoramiento, Unidad Laguna

Dr. Raúl Rodríguez García

Riego y Drenaje

Dr. Jesús M. Fuentes Rodríguez

Producción Animal

DIRECTORIO

Dr. Eladio Heriberto Cornejo Oviedo
Rector

Ing. Lorenzo Castro Gómez
Secretario General

Raul Villegas Vizcaíno
Director General Académico

M. C. Alfredo Sánchez López
Director de Investigación

Dr. Alfredo de la Rosa Loera
Subdirector de Programación y Evaluación

M. C. José A. Nájera Castro
Subdirector de Operación de Proyectos

UNIDAD LAGUNA

Dr. Armando Espinoza Banda
Subdirector de Investigación

M. C. Francisca Sánchez Bernal
Area de Programación, Operación y Evaluación Científica

Ing. Enrique L. Hernández Torres
Area de Operación Programas y Proyectos de Investigación

Diseño y Formación

Miguel A. Estrada Villarreal

Colaboradores

M. C. Ricardo Cuéllar Flores

M. C. José H. Rancaño Arrijoja

Agraria -Nueva Epoca- es una publicación científica, cuatrimestral, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, con domicilio conocido en Buenavista, Saltillo, Coah., México y se imprime en sus Talleres Gráficos.

Tiraje digital (PDF) para su distribución en medios múltiples.

http://www.uaaan.mx/DirInv/portal_agraria/portal.htm · email: agraria_ne@uaaan.mx

Tel (844) 411-02-00, Ext. 2404 · Fax 411-02-11

Agraria -Nueva Epoca- está indexada, desde 2006, en Latindex (Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal); en la base de datos PERIÓDICA (de la Universidad Nacional Autónoma de México, UNAM, México D. F.); y en 2007 fue incluida en la base de datos del Centro Internacional de Investigación Científica (CIRS).



Centéotl, deidad azteca de la agricultura, es una advocación de Chicomecóatl, diosa del maíz. La Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en su afán de rescatar los valores del pasado histórico de México, la ha adoptado como logotipo de su revista científica, como símbolo que evoca y reafirma nuestras raíces culturales

Nuestra Portada

Composición; paisaje de zonas áridas y caprinos



Normas Editoriales

Tipo de materiales para publicación

La revista **Agraria -Nueva Epoca-** acepta, para su publicación, materiales en español e inglés, sobre temas relacionados con las ciencias agrícolas, pecuarias y forestales, incluyendo las áreas de ingeniería, agroindustria y socioeconómicas. Todo material deberá venir acompañado de la solicitud correspondiente.

Estos materiales pueden ser artículos científicos, notas de investigación o ensayos.

Los materiales que se envíen para su publicación deberán ceñirse a las normas que, para tal efecto establece **Agraria -Nueva Epoca-** y estarán sujetos a revisión y arbitraje por el Comité Editorial de la revista -o por quienes éste designe-, como requisito previo a su publicación.

No se aceptan trabajos ya publicados, o que estén sometidos a consideración en otros medios científicos de difusión.

Es de desear que la realización de la investigación, cuyos materiales sean enviados para su publicación, no exceda de 4 años anteriores a la fecha de su remisión.

Formato

El respeto a las siguientes indicaciones respecto al formato solicitado facilitará grandemente nuestro trabajo de edición.

Textos

Los textos, con todos sus anexos, deberán enviarse empaquetados (nosotros preferimos WinZip), sin contraseñas de seguridad, por correo electrónico, escritos en un procesador de textos de uso común (preferimos Word), en formato tamaño carta (21.57 x 27.94 cm), sin sangría, y a renglón seguido, con márgenes de 2.5 cm por lado. Agradeceremos evitar nombres de archivo excesivamente largos o con espacios en blanco. Los textos se redactarán en un tipo formal conocido ttf (True Type Font) tales como Arial, Times New Roman o similares, de 12 puntos. Las notas se escribirán en 9 puntos.

Todos los renglones, incluidos los encabezados, se iniciarán, invariablemente, a partir del margen izquierdo, sin sangría.

Todos los encabezados, independientemente de su orden, se escribirán en altas y bajas, y negrillas.

Los párrafos se escribirán sin pasar renglón entre ellos; para separarlos, a fin de hacer el texto fácil de leer y corregir, se utilizará el formato automático de párrafo del procesador, para darles un espaciado posterior de 6 puntos.

Las palabras no se separarán, en ningún caso, por sílabas. Es conveniente desactivar el comando automático de inserción de guiones (*hyphenation*) de su procesador.

El material no deberá exceder de 520 líneas para artículos científicos y ensayos, y de 200 líneas para una nota científica, incluidos cuadros y figuras.

Las unidades que se empleen serán las del Sistema Internacional de Unidades (<http://www.sc.ehu.es/sbweb/fisica/unidades/unidades/unidades.htm>)

Las páginas, al igual que los cuadros y las figuras, se numerarán progresivamente con números arábigos.

Cuadros y figuras. Los cuadros y las figuras contendrán sólo la información esencial y en ningún caso repetirán los datos que se presenten en el texto, o en otra forma. Cuadros y figuras deben ser claros, simples, concisos e ilustrativos.

Los cuadros no excederán, en ningún caso, los márgenes de impresión arriba mencionados y deberán presentarse en el cuerpo del texto, con el formato correspondiente, con las columnas separadas por tabulaciones, sin espacios a mano, y en la posición en que se espera que aparezcan, con el número de orden correspondiente.

En los cuadros se empleará sólo el número de cifras significativas necesarias para destacar el punto que se desee.

Los cuadros se realizarán en formato básico con tres líneas horizontales continuas: al inicio del cuadro, al inicio del cuerpo del cuadro (no en el encabezamiento) y al final. El campo y el encabezamiento de las columnas se pueden dividir a conveniencia del autor. No se deben añadir líneas verticales. Los encabezamientos, de columnas y líneas, se escribirán con minúsculas, excepto la primera letra de la oración. Las unidades se colocan debajo de la segunda línea horizontal, como en el ejemplo que se proporciona.

Las figuras tampoco excederán, en ningún caso, los márgenes de impresión establecidos. La posición que vaya a ocupar cada figura, deberá estar indicada en el texto con negrillas, en renglón aparte, con el número correspondiente.

Cada figura se enviará en archivo por separado, en formato tif (compresión LZW), o jpg, con el tamaño exacto en que se pretende que aparezca en la publicación, en una resolución no inferior a 150 pixeles por pulgada, con el número que le corresponda (p. ej: fig 01.jpg).

Los puntos experimentales deberán marcarse visiblemente. Para dividir los ejes, se escogerán intervalos constantes para cada uno. Los mosaicos fotográficos deberán entregarse montados en un solo archivo gráfico (tif, o jpg), totalmente terminados. El aumento de las microfotografías debe indicarse en la leyenda.

En archivo por separado se enviará un listado de las figuras incluidas en el material enviado, con el número de orden y el pie de grabado correspondientes (p. ej.: listafigs.doc)

Las figuras pueden ser fotos a color o en tonos de gris -según sea su original-, gráficas (de preferencia a color), ilustraciones, dibujos, o grabados (de preferencia a color).

Los cuadros deberán redactarse en el mismo procesador de textos y formato señalado arriba.

Las ecuaciones, si las hubiera, se insertarán en el texto con un editor de ecuaciones compatible con su procesador.

Notas de pie de página

Sólo se podrán utilizar, cuando sean absolutamente indispensables, para identificar información adicional y se numerarán progresivamente en el texto. Los asteriscos se reservarán para indicar significancia a 5% (*) y 1% (**), respectivamente. En el pie de grabado -o de cuadro- se incluirán las notas o llamadas que sean pertinentes, y serán señaladas con números arábigos.

Citas bibliográficas

Las citas bibliográficas deberán ser de literatura reciente, relevante y sólo las exclusivamente necesarias para sustentar los planteamientos hechos.

Más detalles en http://www.uaaan.mx/DirInv/Convoc/conv_web/normas.htm, o http://www.uaaan.mx/DirInv/portal_agraria/portal.htm

Contenido

Normas Editoriales / <i>Instructions for authors</i>	2
Convocatoria/ <i>Paper call</i>	4
Editorial / <i>Editorial</i>	
Mensaje del Rector	
Modelos de Simulación para Cereales Forrajeros en el Sur de Nuevo León, México	6
Simulation Models for Cereal Forages in the South of Nuevo León, México Misael Rodríguez Arvizu, Heriberto Díaz Solís, Eduardo Aizpuru García, Ramiro López Trujillo, Víctor Manuel Zamora Villa	
Biocontrol de <i>Rhizoctonia solani</i> y <i>Fusarium</i> sp. con Microencapsulados de <i>Bacillus subtilis</i> y su Efecto en Crecimiento y Rendimiento de Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.)	17
Biocontrol of <i>Rhizoctonia solani</i> and <i>Fusarium</i> sp. by Microcapsules containing <i>Bacillus subtilis</i> and its Effect on Tomato Growth and Yield (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) Marcela Hernández-Suárez, Francisco Daniel Hernández-Castillo, Ricardo Hugo Lira-Saldivar, Gabriel Gallegos-Morales	
Metabolitos Secundarios en Tejido de Nogal Pecanero Dañado por el Barrenador Ambrosial (<i>Euplatypus segnis</i> Chapuis) y Hongos Asociados	26
Secondary Metabolites in Pecan Tree Tissue Damaged by Pinhole Borer (<i>Euplatypus segnis</i> Chapuis), and Associated Fungi Ramón Alvidrez-Villarreal, Francisco Daniel Hernández-Castillo, Oswaldo García-Martínez, Rosalinda Mendoza-Villarreal, Raúl Rodríguez-Herrera, Cristóbal Noé Aguilar-González	
Antagonismo de Cepas Nativas de <i>Trichoderma</i> sp. aisladas en la Comarca Lagunera contra <i>Phymatotrichum omnivorum</i> (Shear) Duggar	34
<i>Trichoderma</i> spp. for Biological Control of <i>Phymatotrichum omnivorum</i> Rosalinda Cervantes-Martínez ¹ , Vicente Hernández-Hernández, Guillermo González-Cervantes, Esteban Favela-Chávez, Vicente de Paúl Alvarez-Reyna	
La Introducción de Un Macho al Inicio de la Fase Luteal, Modifica las Características de las Oleadas Foliculares en las Cabras Cíclicas	41
Introduction of a Buck early in the Luteal Phase Modifies the Characteristics of Follicular Waves in Cyclic Goats Juan Carlos López García, Ángel Mejía Vázquez, Santiago Ramírez Vera, Horacio Hernández Hernández, Gerardo Duarte Moreno, José Alberto Delgadillo Sánchez, José Alfredo Flores Cabrera	
Tasas de Concepción en Respuesta a Dosis Reducidas de Somatotropina en Vacas Holstein durante la Sincronización del Estro	49
Conception Rates in Response to two Reduced Doses of Somatotropin in Holstein Cows during the Synchronization of Estrus Francisco García Sandoval, Ramón Hernández Salgado, Joel Hernández Cerón, Carlos Elizondo Vázquez, Ilda Graciela Fernández García	

CONVOCATORIA

La Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

CONVOCA

a los investigadores, nacionales y extranjeros, interesados en publicar artículos científicos, a enviar sus contribuciones a la revista **Agraria -Nueva Epoca-**, bajo las siguientes bases:

Los trabajos recibidos se someterán al proceso de revisión descrito en las *Normas Editoriales* de la Revista.

Se recibirán contribuciones inéditas de todos los interesados, nacionales o extranjeros, en español o inglés.

Los artículos deberán versar sobre temas de contenido agrícola, pecuario, forestal, y socioeconómico del entorno regional, nacional e internacional.

Las modalidades de publicación son las siguientes:

Artículo científico

Es el resultado de un trabajo de investigación en el cual se aplicó, de forma rigurosa, el método científico, estudiando el efecto que tienen diferentes tratamientos sobre la respuesta medible de un sistema, como metodología para comprobar o rechazar una hipótesis claramente establecida en el trabajo.

Los artículos científicos que se envíen deberán constar de las siguientes partes: Título, Título en inglés, Autor(es), Institución(es) de adscripción y datos de localización del autor responsable (domicilio, teléfono, fax, e-mail), Abstract, que es la traducción al inglés del Resumen, incluidas las palabras clave; Resumen, que incluirá al pie las palabras clave hasta un máximo de seis, Introducción, Materiales y métodos, Resultados y discusión, Conclusiones, Literatura citada, Agradecimientos.

Ensayo científico

Consiste en el análisis crítico de una recopilación actualizada de artículos científicos, informes de investigación, o materiales similares, en los que el autor o autores aportan su opinión personal sobre un tema, estableciendo conclusiones respecto al estado actual del conocimiento sobre el mismo.

Partes de que consta el Ensayo: Título, Título en inglés, Autor(es), Institución(es) de adscripción y datos de localización del autor responsable (domicilio, teléfono, fax, e-mail), Abstract, que es la versión al inglés del Resumen, incluye las palabras clave, Resumen, incluidas las palabras clave hasta un máximo de siete, Introducción, Desarrollo del tema, con los subtítulos que se estimen convenientes, Discusión, cuando proceda, Conclusiones, Literatura citada.

Nota de investigación

Son materiales basados en trabajos experimentales que, sin perjuicio del método y rigor científicos, presentan aspectos metodológicos innovadores o resultados que, por su carácter novedoso, el autor considera de interés publicar antes de finalizar su investigación.

La nota, aunque de menor extensión, cubre todos los aspectos relevantes del proceso de investigación. Su estructura es similar a la del artículo científico, y trata cada uno de sus apartados, con menor profundidad y detalle, aunque no tiene que incluir los encabezados.

La excepción a lo anterior son el Abstract, que se omite, y la Literatura citada, apartado que deberá incluirse expresamente.

De ser necesario, podrán incluirse -también- algún cuadro o ilustración, cuando resulten relevantes para la mejor comprensión de la nota.

Los trabajos a publicar deberán hacerse llegar en versión electrónica, acompañados de una solicitud, de conformidad con las especificaciones marcadas en las Normas Editoriales arriba mencionadas, a la siguiente dirección electrónica: agraria_ne@uaaan.mx, con atención a:

Editor en Jefe de la Revista Agraria -Nueva Epoca-

Dirección de Investigación, UAAAN, Domicilio conocido, Buenavista,

Saltillo, Coahuila, México. CP. 25315

Para mayor información respecto a esta Convocatoria visite http://www.uaaan.mx/DirInv/portal_agraria/portal.htm para consultas diríjase al Editor en Jefe: agraria_ne@uaaan.mx.

Mensaje del Rector

La Investigación, una de las tres funciones básicas de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, se ha caracterizado a lo largo de su historia por darle un merecido prestigio a la Institución, y por ganarles reconocimientos tanto a maestros como a alumnos en el país y en el extranjero.

La Universidad ha obtenido logros importantes en este aspecto, en el ámbito de los cereales y las hortalizas, en el manejo de los recursos naturales, de los frutales, de las ornamentales; en el conocimiento y utilización de las plantas de las zonas áridas, el mejoramiento genético; la silvicultura, la biotecnología, y en lo que se refiere a la medicina veterinaria, por sólo citar los rubros más destacados.

Estos logros son la herencia que nos han legado varias generaciones de investigadores distinguidos que han transitado por sus aulas, campos y laboratorios, lo que nos compromete a continuarla, a mantener su calidad y pertinencia, y a difundirla para contribuir a su fortalecimiento, y proyección social de nuestra Institución.

Una de las acciones fundamentales para lograr este propósito es la reactivación de la publicación de la Revista Agraria –*Nueva Época*– como una estrategia que permita presentar los avances y logros de los miembros de nuestra Comunidad Científica, así como de investigadores destacados de otras instituciones, tanto del medio nacional como internacional, lo cual permitirá que la revista sirva, además, como medio para refrendar la relación de nuestra Universidad con la comunidad científica extramuros.

A ésta habrán de seguir otras acciones para adecuar la estructura y organización de la revista a los requerimientos de los índices de revistas científicas de México y del mundo, y para garantizar su continuidad y permanencia en beneficio de la comunidad científica, de los maestros investigadores, de los alumnos de la Antonio Narro y, finalmente, de los diferentes sectores de la economía nacional y regional.

Además de lo anterior se apoyará a los académicos involucrados en los proyectos de investigación, con miras a fomentar su producción de materiales científicos, de promover su integración en Cuerpos Académicos y de fomentar su membresía en el Sistema Nacional de Investigadores, lo que sin duda contribuirá en el corto plazo a acrecentar el prestigio y la presencia de la Antonio Narro en los foros científicos nacionales e internacionales.

Con la publicación de este ejemplar se cumple, pues, esa primera etapa de actualización de la revista, y se da inicio al proceso de su consolidación, en el que esperamos contar con el apoyo decidido de todos y cada uno de los miembros de nuestra Comunidad Científica.

Alma Terra Mater


Dr. Eladio Heriberto Cornejo Oviedo Rector

Modelos de Simulación para Cereales Forrajeros en el Sur de Nuevo León, México

Misael Rodríguez Arvizu^{1*}, Heriberto Díaz Solís¹, Eduardo Aizpuru García², Ramiro López Trujillo³, Víctor Manuel Zamora Villa⁴

¹Departamento de Recursos Naturales Renovables, ³Departamento de Nutrición y alimentos, ³Departamento de Fitomejoramiento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Calzada Antonio Narro 1923, Col. Buensvista C.P. 25315. Saltillo, Coahuila, México. Tel. (844) 411-0377 y 78 Fax (844) 411-0236. E-mail: misa983@hotmail.com (*Autor responsable).

Abstract

The use of simulation models in agriculture is an alternative in the decision making process, in order to lower the researching costs, and to help reducing economic and production risks, since they summarize interactions among the factors of a productive process. In fodder cultures they are a tool useful to predict the behavior of both, growth and yield, and to help understanding the physiological plant-atmosphere relations. This work was performed with the aim of calibrating the DSSAT 4.0.2.0 software for barley, wheat and triticale cultures in the South of the Mexican state of Nuevo León. The field experiment was established in the experimental station of Navidad, in Galeana, N. L., Mexico, belonging to the Autonomous Agrarian University Antonio Narro (UAAAN). The genetic materials to be evaluated were: NARRO-92-05 barley (*Hordeum vulgare*), AN-239 wheat (*Triticum aestivum*), and AN-125, and AN-31-B Eronga triticale (*X:Triticosecale Wittmack*) under a completely randomized block design. The sowing took place in the spring-summer cycles 2007 and 2008. Program DSSAT 4.0.2.0 was parameterized within each of its modules and later on it was calibrated by the manipulation of genetic coefficients. The calibration and validation of the barley, wheat, and triticale models in the DSSAT 4.0.2.0 software for the genotypes and region of study, were performed satisfactorily, and the models had the capacity to simulate values with a good level of precision, when compared to the observed ones. It may, so, be concluded that, the usage of simulation models of DSSAT 4.0.2.0 software, is suitable to predict growth and yield of fodder cultures.

Key Words: prediction, calibration, barley, wheat, triticale, DSSAT.

Resumen

El uso de modelos de simulación en la agricultura es una alternativa en la toma de decisiones para reducir los costos de investigación, y ayudar a reducir los riesgos económicos, y de producción ya que resumen la interacción entre los factores de un proceso productivo. En cultivos forrajeros son una herramienta para predecir los comportamientos de crecimiento y rendimiento, y ayudan a entender las relaciones fisiológicas planta-ambiente. Este trabajo se realizó con el objeto de calibrar el programa DSSAT 4.0.2.0 para los cultivos de cebada, trigo y triticale en el sur del estado de Nuevo León, México. El experimento de campo fue establecido en el Centro Agrícola Experimental de Navidad, Galeana, N. L., México, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Los materiales genéticos utilizados fueron: cebada NARRO-92-05 (*Hordeum vulgare*), trigo AN-239 (*Triticum aestivum*), y triticale (Eronga, AN-125, y AN-31-B (*X:Triticosecale wittmack*) establecidos en un diseño de bloques al azar. La siembras se efectuaron en los ciclos primavera verano 2007 y 2008. El programa DSSAT 4.0.2.0 fue parametrizado dentro de cada uno de sus módulos y posteriormente se calibró mediante la manipulación de coeficientes genéticos. La calibración y validación de los modelos de cebada, trigo, y triticales en el programa DSSAT 4.0.2.0 para los genotipos y región de estudio, se realizaron satisfactoriamente, y los modelos tuvieron la capacidad de simular valores con buen nivel de precisión, al comparar con valores observados. Se concluye que, mediante el uso de modelos de simulación de DSSAT 4.0.2.0, es factible predecir el crecimiento y rendimiento de cultivos forrajeros.

Palabras clave: predicción, calibración, cebada, trigo, triticale, DSSAT.

Introducción

La simulación en sistemas agrícolas, ha surgido como una herramienta que en base a la integración de sus componentes permite hacer una representación real de los mismos (Odum y Odum, 2000) por medio de operaciones lógicas y aritméticas que representan la estructura (estado) y comportamiento (cambio de estado) del sistema de interés (Grant *et al.*, 1997). Partiendo de lo anterior se han creado un gran número de programas como DSSAT (Decision Support System for Agrotechnology Transfer; www.icasa.net) para simular, o predecir, el desarrollo y producción de un cultivo en base a información genotípica, ambiental y de manejo proporcionada por el usuario. DSSAT es un programa creado como una herramienta de apoyo para la toma de decisiones en la transferencia de agrotecnología desde el año de 1982 (Uehara y Tsuji, 1998). La toma de decisiones en el área agrícola, como en cualquier proceso productivo, es fundamental para alcanzar un objetivo. Por lo tanto, el contar con herramientas que permitan seguir la ruta más acertada para el uso y aprovechamiento sustentable de los recursos disponibles es una necesidad, sobre todo ante los cambios e inestabilidad climática actual. El objetivo de este trabajo fue calibrar y validar los modelos cebada, trigo, y triticale del programa DSSAT 4.0.2.0 para el Sur de Nuevo León, México.

Materiales y Métodos

Se sembraron y muestrearon dos ciclos de cultivo: primavera-verano 2007 y primavera-verano 2008, de los cultivos de trigo, cebada y triticale, en el campo Agrícola Experimental de Navidad, de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, localizado en Galeana, Nuevo León. El campo está situado en los 25° 02' 19" N y 100° 37' 29" O, a una altitud de 1985 m.

Se trabajó con los cultivos de cebada (*Hordeum vulgare*), trigo (*Triticum aestivum*), y triticale (*X:Triticosecale* Wittmack). Se sembró un genotipo de cebada (NARRO-95-02), un genotipo de trigo (AN-239), y tres genotipos de triticale (Eronga), (AN-125) y (AN-31-B), en el ciclo primavera-verano 2007, la siembra se efectuó el día 7 de marzo (día juliano 66). La siembra en el 2008 se efectuó el día 22 de febrero (día juliano 53) con cebada (NARRO-92-05), trigo (AN-239), y triticale (AN-31-B). La dosis de fertilización en el ciclo 2007 fue 85-117-00 (N-P-K) con las fuentes fosfato monoamónico, y sulfato de amonio; y para el ciclo 2008 la dosis fue de 60-60-60 con la fuente triple 17. Las dos siembras se realizaron con una sembradora de cereales de grano pequeño, a una densidad de 140 kg ha⁻¹. Antes de las siembras se preparó previamente el terreno, con subsoleo,

rastra y riego.

El arreglo de los experimentos se estableció como bloques al azar, con tres repeticiones, las unidades experimentales fueron de 4.32 m de ancho por 20 m de largo, es decir con una superficie de (86.4 m²) cada una, con un espacio entre parcelas de 1 m.

Los datos climáticos se registraron diariamente por medio de una estación automática (Davis Vantage Pro II) instalada en el sitio del experimento. Los registros se hicieron en intervalos de 30 min, y los datos se descargaron cada semana. La base de datos se procesó en una hoja de cálculo de Excel y se obtuvieron temperaturas máximas y mínimas por día, en grados centígrados, radiación acumulada por día en W m⁻² (unidad de energía) y la precipitación en mm. La estación climatológica registró la radiación solar en W m⁻² y DSSAT 4.0.2.0 que requiere expresar la radiación en MJ m⁻² día⁻¹ (unidad de potencia). Por definición un W es igual a un J s⁻¹ y un MJ es igual a un millón de joules. Como los registros se hicieron cada 30 min se tuvieron 48 valores de radiación en W m⁻² durante el día. Entonces se obtuvo el promedio en W m⁻² s⁻¹. El valor acumulado en el día fue el promedio multiplicado por 86,400 segundos que tiene un día y se obtuvo el resultado en J m⁻² día⁻¹ que dividido entre 1,000,000 es igual a MJ m⁻² día⁻¹.

En los cultivos se muestreó la emergencia en la primera semana, para obtener la densidad de plantas; para esto se contó el número de plantas emergidas en cinco líneas de 50 cm, seleccionadas al azar por medio de un escantillón de madera de 50 cm dentro de cada una de las unidades experimentales. Al final del ciclo para obtener la densidad de tallos, se contó el número de vástagos en cinco líneas de 50 cm seleccionadas de la misma forma que los muestreos de emergencia en cada unidad experimental.

Para acumulación de biomasa, y componentes del rendimiento, semanalmente se cortaron 5 plantas seleccionadas al azar caminando en zigzag sobre la parcela y, al agacharse, se cortó la planta que quedaba más cerca, después se llevaron a la estufa de ventilación forzada a una temperatura de 65 °C por 72 h para secar y posteriormente separar manualmente tallos de espigas, y pesar cada una de las muestras, todo esto desde la primera semana hasta la madurez fisiológica de cada uno de los cultivos. Para estimar el rendimiento por hectárea se usó el peso de dichas plantas, extrapolado en base a los muestreos de densidad de población realizados al principio y al final del cultivo.

Para los modelos de simulación en el programa DSSAT es básica la información de manejo del cultivo (fecha de

siembra, fecha de emergencia, espacio entre surcos, densidad de población, cantidad y tiempo de fertilización y la aplicación del riego) y también se requiere información de las condiciones ambientales del suelo, temperatura, radiación y precipitación (Hunt y Boote, 1998).

Se crearon bases de datos dentro del programa DSSAT en los módulos correspondientes (suelo, clima, datos experimentales, y manejo del cultivo), y se agregaron los genotipos utilizados.

Suelo (Soil Data). Se creó el archivo de características del suelo en el módulo "Sbuild" donde se registró la ubicación geográfica, el color del suelo, el drenaje superficial así como la pendiente en por ciento. La información del suelo se hizo por capas de 30 cm hasta los 120 cm registrando textura en porcentaje de arena, limo y arcilla, porcentaje de materia orgánica, pH, y nitrógeno total en por ciento.

Clima (Weather Data). Dentro del módulo *WeatherMan* se creó el archivo de clima (WTH) con información como ubicación geográfica, temperaturas máximas y mínimas diarias en grados centígrados, radiación solar en MJ m⁻² día⁻¹ y precipitación en mm.

Datos experimentales (Experimental Data). En este módulo ATCreate se cargaron los datos observados durante el ciclo de cultivo de cada uno de los materiales genéticos utilizados. Se crearon dos archivos: el archivo A (rendimiento máximo, fecha de anthesis, número de espigas por metro cuadrado) y el archivo T (datos experimentales semanales).

Datos de manejo del cultivo (Crop Management Data). Con el módulo *Xbuild* se generó el archivo de manejo del cultivo, donde se cargó la información general del experimento como método de siembra, densidad de siembra, densidad de población emergida, espacio entre surcos, variedades utilizadas, estación climática, suelo, profundidad de siembra, para cada uno de los cultivos, y variedades.

La versión 4.0.2.0 de DSSAT aun no cuenta con bases de datos para el cultivo de triticale, así que la calibración se hizo utilizando coeficientes genéticos de trigo, ya que tienen patrones de crecimiento similares.

La carga de los genotipos utilizados en la calibración de DSSAT 4.0.2.0 se realizó en el archivo .CUL en el cual se agregaron las variedades de cada uno de los cultivos estudiados. Se utilizaron como coeficientes genéticos iniciales, los valores de las variedades más semejantes a los materiales trabajados.

Con la información obtenida del ciclo 2007 se calibró DSSAT para cada uno de los cultivos, después de que el

programa estaba operando con los archivos creados, la calibración se llevó a cabo mediante la manipulación de los coeficientes genéticos: P1V, P1D, P5, G1, G2, G3 y PHINT, los cuales se describen al pie del Cuadro 1. Los criterios para evaluar la calibración fueron: minimizar la raíz cuadrada del cuadrado medio del error {RMSE= [Ó (simulado-observado)²/N]^{0.5}} que cuantifica la dispersión o variación entre los valores simulados con los observados, y el coeficiente de determinación (r²) que es una medida del grado de asociación entre los datos simulados y los observados (Gijsman *et al.*, 2002).

La validación de los modelos se realizó con la información del ciclo 2008 utilizando los coeficientes genéticos encontrados en la calibración.

Resultados y Discusión

Calibración

El proceso de calibración realizado mediante la manipulación de coeficientes genéticos, indicó que existen hábitos de crecimiento ciertamente diferentes entre los cultivos de cebada, trigo, y triticales, únicamente se observan similitudes entre el trigo (AN-239) y el triticale (AN-125) como se puede apreciar en los coeficientes genéticos de cada uno de los materiales genéticos evaluados (Cuadro 1), en éste se puede apreciar de forma cuantitativa la descripción de cada uno de los materiales, por ejemplo, los materiales que necesitan vernalización como el triticale (AN-31-B) que necesitan aproximadamente 15 d con temperatura óptima para completar la vernalización, en su ciclo de cultivo; caso contrario de la cebada (NARRO-92-05) y el triticale (Eronga) que no tiene esta característica, esto quiere decir que la tasa de acumulación de biomasa en el triticale (AN-31-B) es retardada antes de acumular los días necesarios para la vernalización y en la cebada (NARRO-92-05) y triticale (Eronga) la acumulación de biomasa es más consistente.

Los materiales utilizados en este estudio mostraron sensibilidad al fotoperiodo, este es un factor que define la iniciación floral (Hogenboom *et al.*, 2003) y por tanto el inicio de llenado de grano, el triticale AN-125 fue el que tuvo mayor porcentaje de reducción en la tasa de desarrollo (75 %). En cuanto a la fase de llenado de grano se observó que la cebada (NARRO-92-05) fue precoz ya que lo que requirió fueron 350 GDD mientras que el triticale AN-31-B necesitó 750 GDD; esto coincidió con lo tardío que se mostró el ciclo de cultivo del mismo. El PHINT o filocrono demostró que el ciclo de cultivo de la cebada fue el más corto de los materiales utilizados, esto se deduce de los 65 GDD que hay entre la aparición de cada una de sus hojas.

Cuadro 1. Coeficientes genéticos encontrados para los cultivos y variedades utilizadas en la calibración.

Cultivo y Variedad	Coeficiente genético						
	PIV*	PID*	P5*	G1*	G2*	G3*	PHINT*
Cebada (NARRO-92-05)	0	60	350	22	34	0.9	65
Trigo (AN-239)	05	50	550	28	30	1.0	70
Triticale (ERONGA)	00	65	650	25	42	1.4	75
Triticale (AN-125)	05	75	450	28	32	1.0	70
Triticale (AN-31-B)	15	70	750	21	41	1.7	80

* PIV = días con temperatura óptima para vernalización; PID = porcentaje de reducción en la tasa de desarrollo con un fotoperiodo 10 hr menor al umbral; P5 = tiempo térmico de la fase de llenado de grano (°C día); G1 = número de semillas por unidad de peso del dosel en la antésis (#/g); G2 = tamaño normal de la semilla bajo condiciones óptimas (mg); G3 = peso seco normal (total, incluyendo grano) de un solo vástago no estresado en la madurez (g); PHINT = tiempo térmico entre la aparición sucesiva de las hojas (°C día).

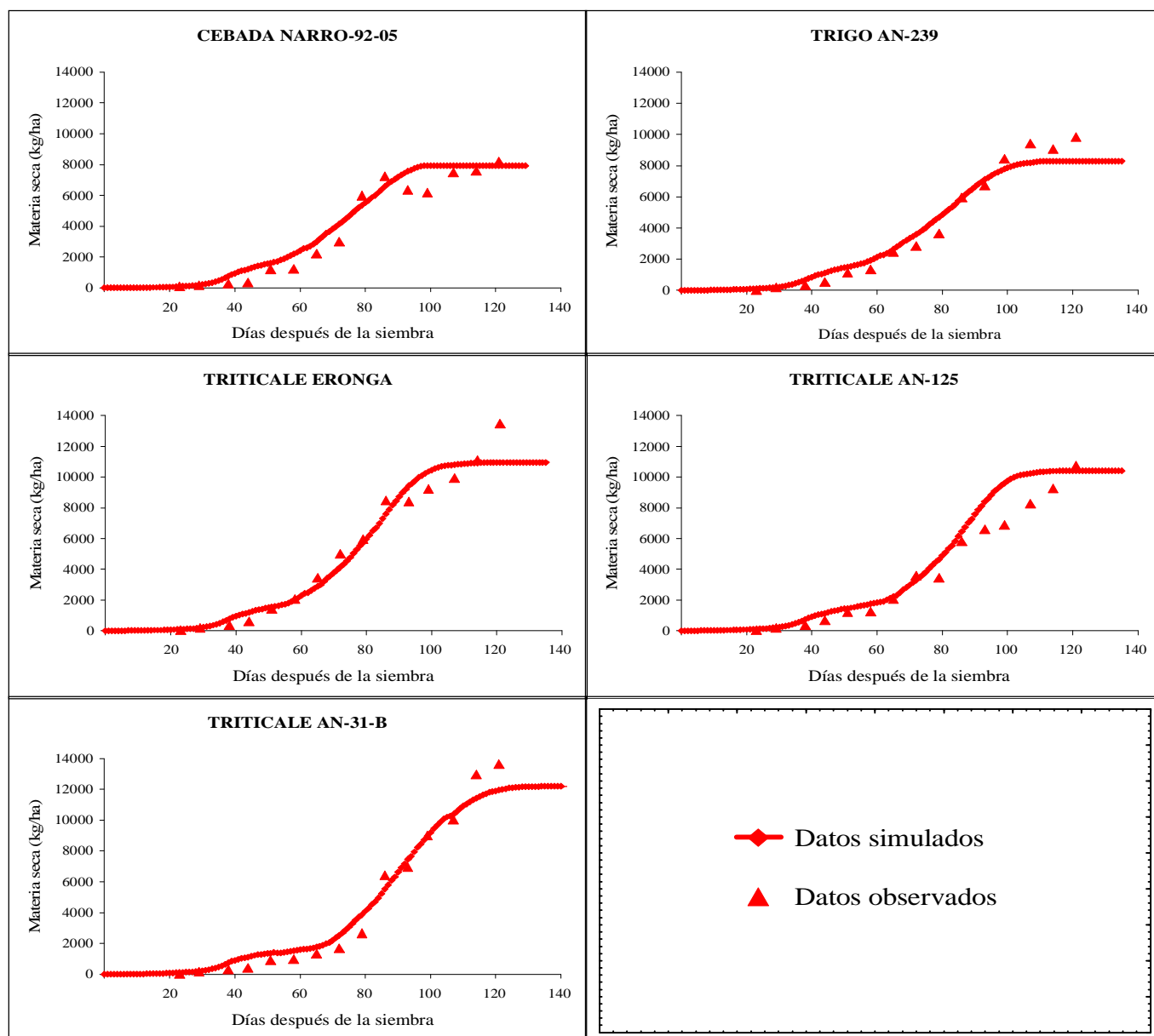


Figura 1. Acumulación de materia seca aérea, parcial durante el ciclo de cultivo en cebada, trigo y triticale, simulados por DSSAT 4.0.2.0.

Acumulación de materia seca parcial aérea

La acumulación de materia seca en los cultivos estudiados mostró distintas tasas de crecimiento como se puede apreciar en la Figura 1. La cebada tuvo rápido crecimiento desde el inicio del ciclo, comparado con los demás materiales y finalizó su crecimiento aproximadamente a los 90 días después de la siembra con un rendimiento aproximado de 9,000 kg ha⁻¹, por otra parte el triticale (AN-31-B) presentó lento crecimiento en la primer etapa de desarrollo lo que indica que necesita días de vernalización para iniciar el amacollamiento (Ewert *et al.*, 1996) y la finalización de su ciclo fue aproximadamente a los 120 días, después de la siembra, con un rendimiento aproximado de 12,500 kg ha⁻¹.

Los indicadores estadísticos de la calibración que se

obtuvieron fueron r^2 de 0.95 para la cebada (NARRO-92-05) y RMSE de 808.1 kg ha⁻¹. Para el trigo (AN-239) se obtuvo una r^2 de 0.97, la cual supera el valor de 0.63 encontrado por Rodríguez *et al.* (1990) al usar CERES-trigo en la simulación de crecimiento de forraje, la RMSE obtenida fue de 709.4 kg ha⁻¹, por arriba de la reportada por Saseendran *et al.* (2004) que obtuvieron una RMSE de 500 kg ha⁻¹ pero es menor a la reportada por Langensiepen *et al.* (2008) con una RMSE de 3,200 kg ha⁻¹, quienes agregan que este error es elevado por lo cual CERES-trigo debe ser mejorado considerablemente.

Para el triticale (Eronga) se obtuvo una r^2 de 0.95 con una RMSE de 891.5 kg ha⁻¹, para el triticale (AN-125) se encontró una r^2 de 0.96 y una RMSE de 1,111.1 kg ha⁻¹ y para el triticale (AN-31-B) se obtuvo una r^2

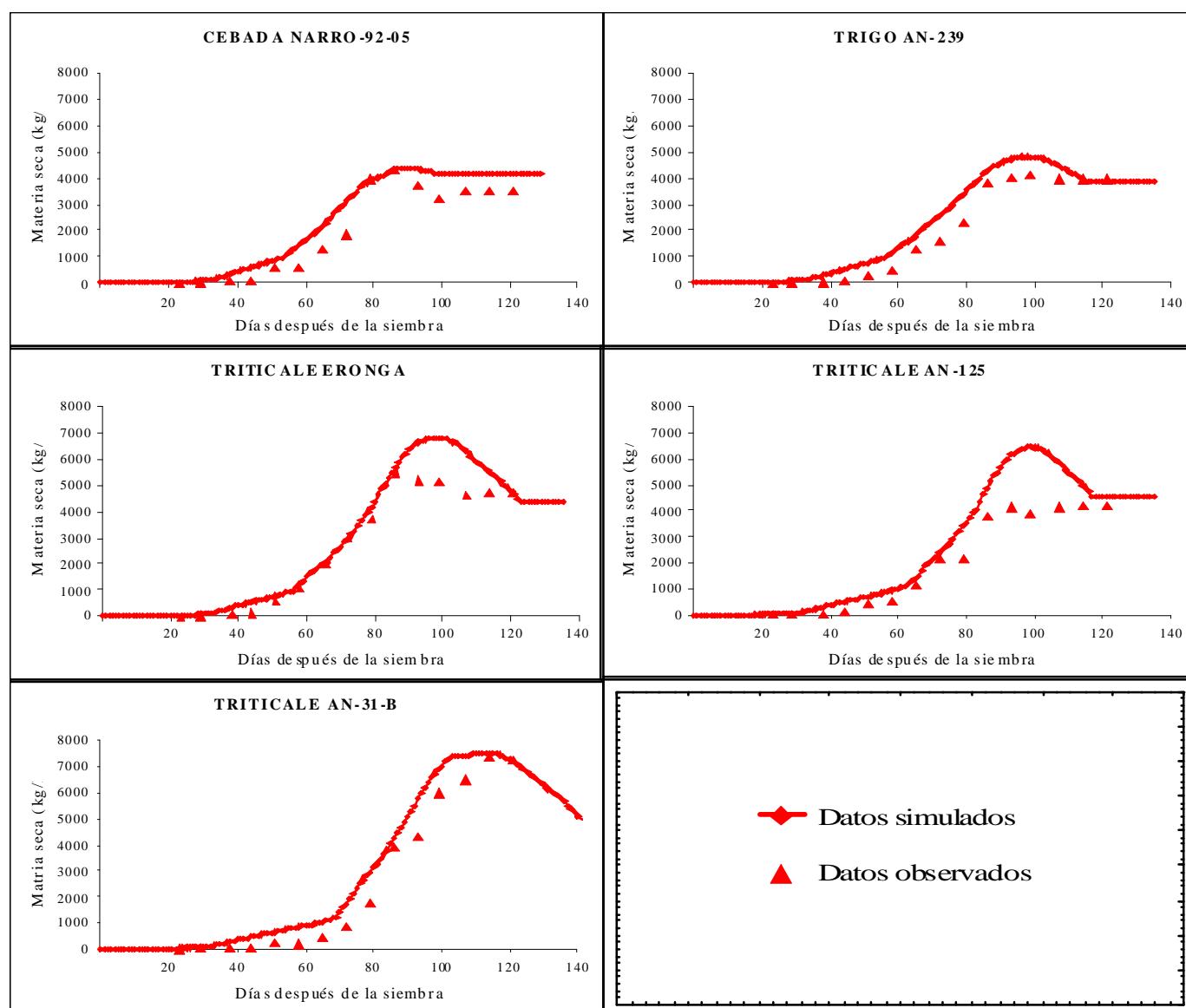


Figura 2. Acumulación de materia seca parcial en tallo durante el ciclo de cultivo en cebada, trigo y triticale, simulados por DSSAT 4.0.2.0.

de 0.98 con una RMSE de 818.5 kg ha⁻¹. Estos valores indican una alta asociación entre datos observados y simulados por los modelos, lo cual muestra que son una herramienta viable para estimar de forma aceptable la acumulación de materia seca parcial aérea.

Acumulación de materia seca parcial en tallo

Los indicadores estadísticos de calibración que se obtuvieron para el componente tallo (Cuadro 2) mostraron un coeficiente de determinación alto, lo que indica que la relación entre los datos simulados con observados tienen buen ajuste, pero la RMSE muestra que en el triticale (AN-125) existe una RMSE de 1,077.2 kg ha⁻¹, este se podría considerar elevado, sin embargo, se encuentra dentro del rango de RMSE de 672.9 a 1,414.8, a excepción de la cebada (NARRO-92-05) y trigo (AN-239) que tienen una RMSE menor y los valores de r² superan el rango 0.62 a 0.92 que reportan los modelos utilizados como ejemplos dentro del programa DSSAT.

Cuadro 2. Coeficiente de determinación (r²) y RMSE obtenidos en la simulación de acumulación de materia seca en tallo para los cultivos y variedades utilizados.

Cultivo y variedad	r ²	RMSE
Cebada (NARRO-92-05)	0.94	624.6
Trigo (AN-239)	0.96	551.5
Triticale (Eronga)	0.96	772.1
Triticale (AN-125)	0.94	1077.2
Triticale (AN-31-B)	0.97	697.9

La acumulación de materia seca en el componente tallo se muestra en la Figura 2, en esta se aprecia como al final del ciclo en el triticale Eronga y AN-125 se presentó un desfase en los días 90 a 120 lo que explica el mayor grado de variación encontrado en estos materiales.

Acumulación de materia seca parcial en hoja

Los resultados obtenidos de la simulación para esta variable indican una baja asociación entre los datos simulados y los observados (Figura 3).

Los indicadores de la calibración indican que en la cebada (NARRO-92-05) se obtuvo el menor grado de ajuste (r²=0.09; Cuadro 3), esto se explica por la caída a cero de los valores simulados a los 100 días después de la siembra lo que coincide con la finalización de crecimiento de este material y para el resto de los cultivos también se obtuvieron valores de r² bajos aunque aceptables.

En todos los materiales, los valores de r² son bajos aunque las demás variables presenten buena relación entre

simulados y observados, además la simulación de los modelos utilizados como ejemplos presentan al igual baja capacidad de simulación en este componente del rendimiento lo que indica que el programa requiere de mejoras en la simulación de esta variable.

Cuadro 3. Coeficiente de determinación (r²) y RMSE obtenidos en la calibración para la acumulación de materia seca en hoja en los cultivos y variedades utilizados.

Cultivo y variedad	r ²	RMSE
Cebada (NARRO-92-05)	0.09	424.8
Trigo (AN-239)	0.42	334.3
Triticale (Eronga)	0.48	346.9
Triticale (AN-125)	0.54	196.6
Triticale (AN-31-B)	0.36	483.4

Acumulación de materia seca parcial en grano

Los resultados obtenidos de la calibración para la acumulación de materia seca en grano se presentan en la Figura 4, donde se observa que el llenado de grano inició entre los 65 y 85 días después de la siembra y en general se encontró una buena relación entre los valores observados y simulados en todos los materiales. Los indicadores estadísticos de calibración obtenidos de los datos simulados con los observados para esta variable, indican lo siguiente: un r² de 0.58 para cebada (NARRO-92-05), y valores de RMSE de 706.1 kg ha⁻¹; Travasso y Magrin (1998) reportan una RMSE de 397 kg ha⁻¹ para rendimiento de grano en Argentina, así que la variabilidad obtenida en este trabajo puede considerarse alta, esta dispersión se explica por la diferencia entre observados y simulados al final del llenado de grano. En trigo (AN-239) se obtuvo una r² de 0.78 en el cual superó el valor de r² de 0.74 encontrado por Rodríguez *et al.* (1990) al usar CERES trigo en la simulación de rendimiento de grano y crecimiento de forraje, la RMSE fue de 565.1 kg ha⁻¹, mientras que Ghaffari *et al.* (2001) reportan una RMSE de 240 kg ha⁻¹, por otra parte Moreno-Sotomayor y Weiss (2004) en Nebraska, reportan RMSE de 811 kg ha⁻¹ y Saseendran *et al.* (2004) reportan una RMSE de 363 kg ha⁻¹ para rendimiento de grano, lo anterior indica que los 564.1 kg ha⁻¹ de desviación estándar del error obtenida en la presente investigación es aceptable considerando también que el rendimiento máximo se estimó en los 3,500 kg ha⁻¹.

Para el triticale (Eronga) se obtuvo una r² de 0.98, y una RMSE de 463.2 kg ha⁻¹, para triticale (AN-125) una r² de 0.94 y una RMSE de 761.7 kg ha⁻¹ y para triticale (AN-31-B) se obtuvo una r² de 0.95 con una RMSE de 920.2 kg ha⁻¹. La desviación estándar del error obtenida

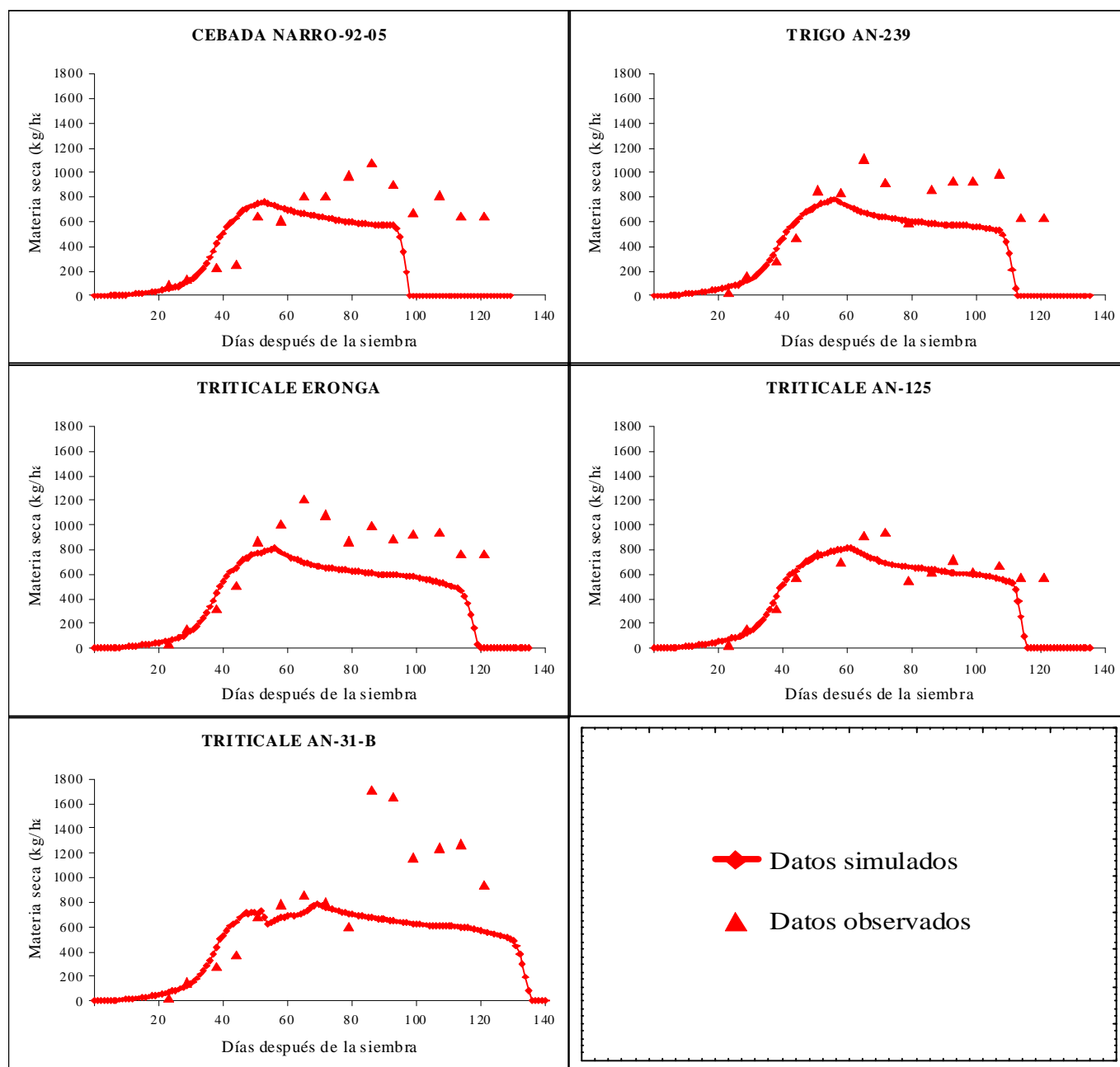


Figura 3. Acumulación de materia seca parcial en hoja durante el ciclo de cultivo en cebada, trigo y triticale, simulados por DSSAT 4.0.2.0.

en los últimos dos materiales, aunque parece elevado podría decirse que es aceptable ya que los rendimientos se estimaron en 4,500 y 6,500 kg ha⁻¹ respectivamente. Cabe mencionar que en el modelo del triticale (Eronga) se obtuvo un buen ajuste como se aprecia en la Figura 4, ya que su error es de 463.2 kg ha⁻¹ y su rendimiento se estimó en 5,500 kg ha⁻¹ es decir un sesgo del 8.4 %.

Validación

La validación se realizó para los materiales de cebada (NARRO-92-05), trigo (AN-239), y triticale (AN-31-B). Para esto, se utilizaron los datos medidos en campo del

ciclo primavera-verano 2008, y en DSSAT se utilizaron los coeficientes genéticos obtenidos en el proceso de calibración del ciclo anterior (2007).

Acumulación de materia seca parcial aérea

En la Figura 5 se presentan los valores observados y simulados por el modelo, en ésta se aprecia que, en los tres materiales, el modelo sobreestimó ligeramente al inicio del ciclo y, en el caso de la cebada (NARRO-92-05), subestimó al finalizarlo. En el triticale (AN-31-B) se presentó desfase durante todo el ciclo de cultivo.

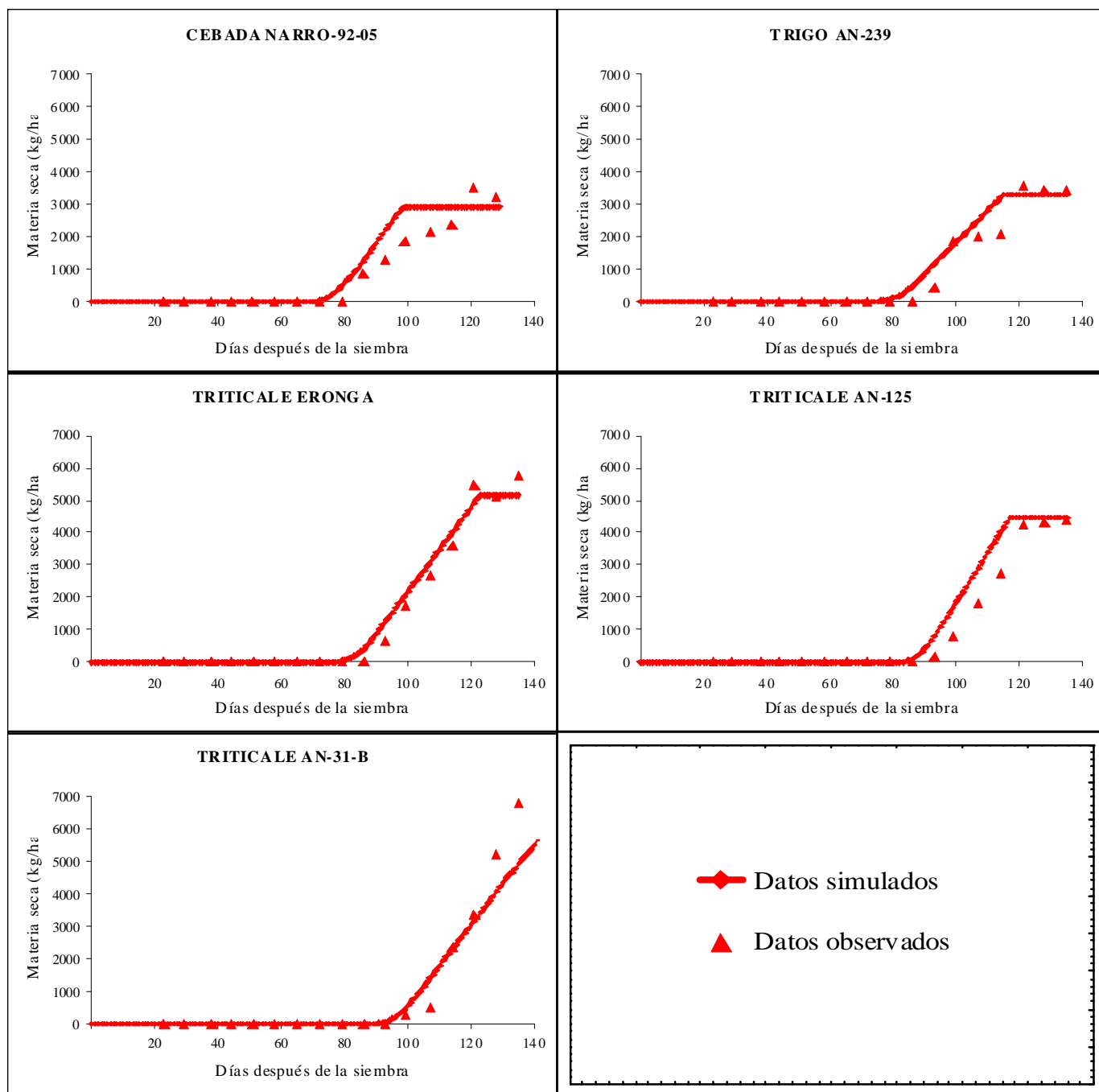


Figura 4. Acumulación de materia seca parcial en grano durante el ciclo de cultivo en cebada, trigo y triticale, simulados por DSSAT 4.0.2.0.

El grado de asociación entre valores simulados con los observados, al validar los modelos, presentó coeficientes de determinación aceptables, sin embargo, su dispersión fue elevada (Cuadro 4), sobre todo en lo que se refiere al triticale (AN-31-B) que fue de 2,184.4 kg ha⁻¹.

Todo esto indica que el modelo ofrece estimaciones aceptables, pero que requiere de mayor información de campo y mayor trabajo de calibración para disminuir su sesgo.

Cuadro 4. Coeficiente de determinación (r^2) y RMSE obtenidos en la validación para la acumulación de materia seca parcial aérea en los cultivos y variedades utilizados.

Cultivo y variedad	r^2	RMSE
Cebada (NARRO-92-05)	0.97	1779.2
Trigo (AN-239)	0.96	1059.3
Triticale (AN-31-B)	0.96	2184.4

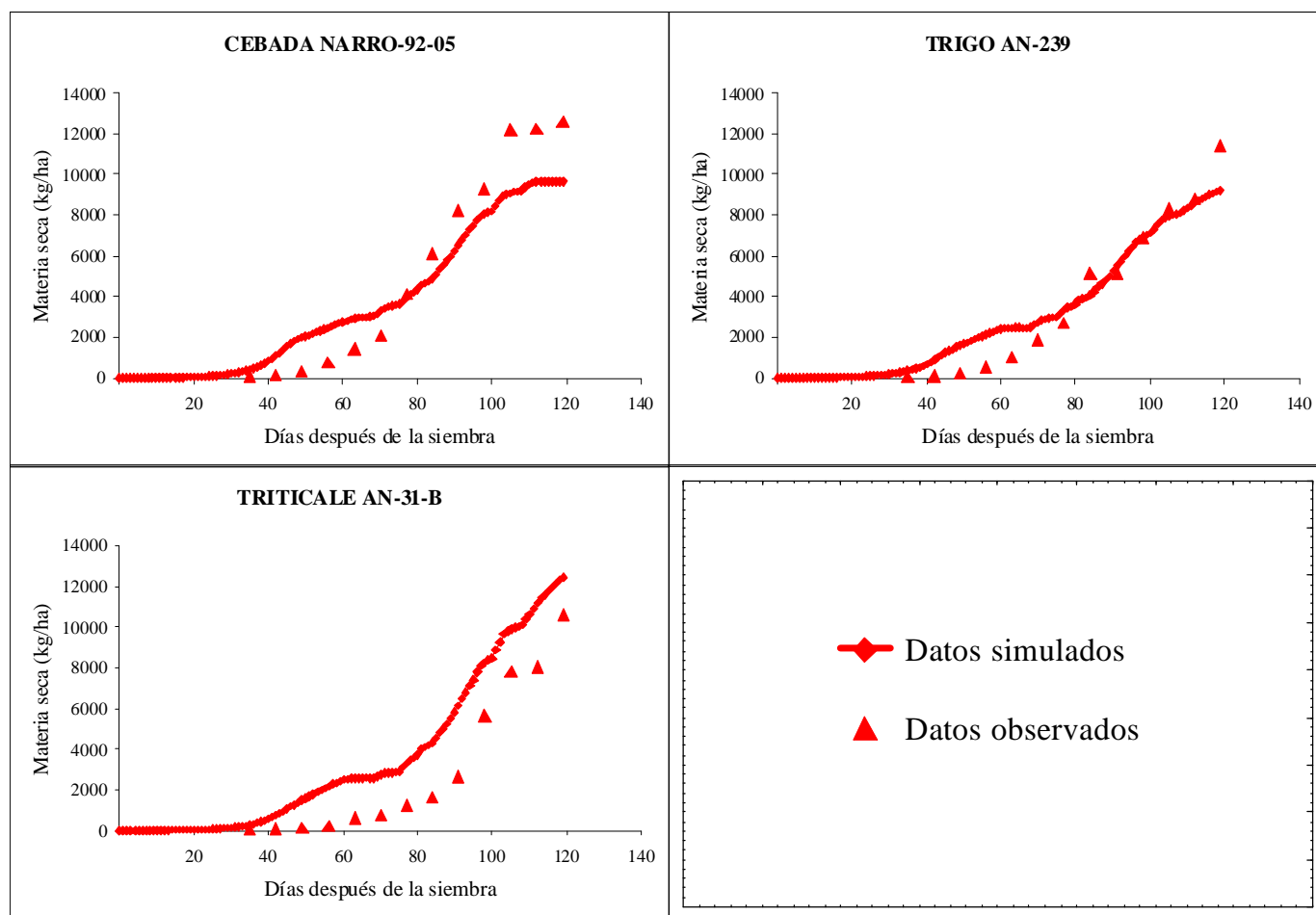


Figura 5. Acumulación de materia seca aérea, parcial durante el ciclo de cultivo en cebada, trigo, y triticale, simulados por DSSAT 4.0.2.0 calibrado.

Acumulación de materia seca parcial en tallo

Los valores observados y simulados por el modelo calibrado para la acumulación de materia seca en el componente tallo se presentan en la Figura 5.

El grado de asociación entre valores simulados y observados, presentó un r^2 (Cuadro 5) bueno, lo cual se explica por el comportamiento similar en la forma de crecimiento que hay en lo simulado y lo observado, pero el grado de error (RMSE) entre estos valores indica, al igual que en la acumulación de materia seca parcial aérea, que existe una estimación pobre por parte del modelo.

Cuadro 5. Coeficiente de determinación (r^2) y RMSE obtenidos en la validación para la acumulación de materia seca en tallo de los cultivos y variedades utilizados.

Cultivo y variedad	r^2	RMSE
Cebada (NARRO-92-05)	0.94	832.7
Trigo (AN-239)	0.96	718.0
Triticale (AN-31-B)	0.92	1854.1

Acumulación de materia seca parcial en grano

En la Figura 7 se presentan los valores observados y los simulados por el modelo, donde se puede apreciar el grado de precisión con que simuló el modelo calibrado.

El grado de asociación entre valores simulados con los observados presentó un coeficiente de determinación de 0.91 para la cebada (NARRO-92-05), un RMSE de 786.5 kg ha⁻¹, que está 389.5 kg ha⁻¹ por arriba de lo reportado por Travasso y Magrin (1998). La r^2 obtenida al validar el modelo de trigo (AN-239) fue de 0.91, y el RMSE fue de 502.4 kg ha⁻¹, el cual estuvo, 262.4 kg ha⁻¹ por arriba de lo reportado por Ghaffari *et al.* (2001) y 139.4 kg ha⁻¹ por arriba de lo reportado por Saseendran *et al.* (2004). El grado de ajuste para el triticale (AN-31-B) fue una r^2 de 0.97 y un RMSE de 973.1 kg ha⁻¹.

Los resultados obtenidos al validar el modelo muestran errores superiores a los reportados por los diferentes autores pero, considerando que en el experimento de campo de esta investigación se midió únicamente la respuesta del cultivo a una práctica de manejo, el modelo simuló con buen nivel de precisión el inicio de llenado de grano y el rendimiento total.

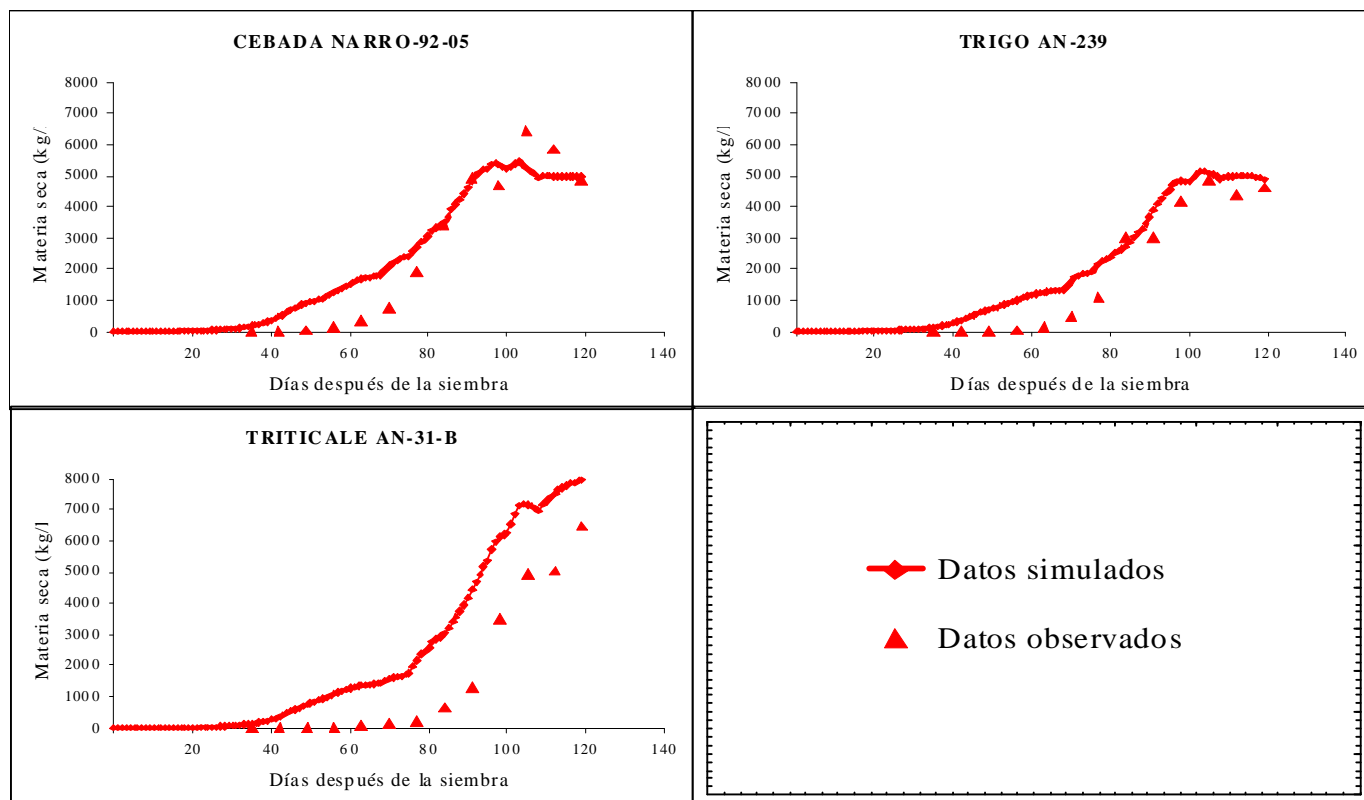


Figura 6. Acumulación de materia seca parcial en tallo durante el ciclo de cultivo en cebada, trigo, y triticale, simulados por DSSAT 4.0.2.0 calibrado.

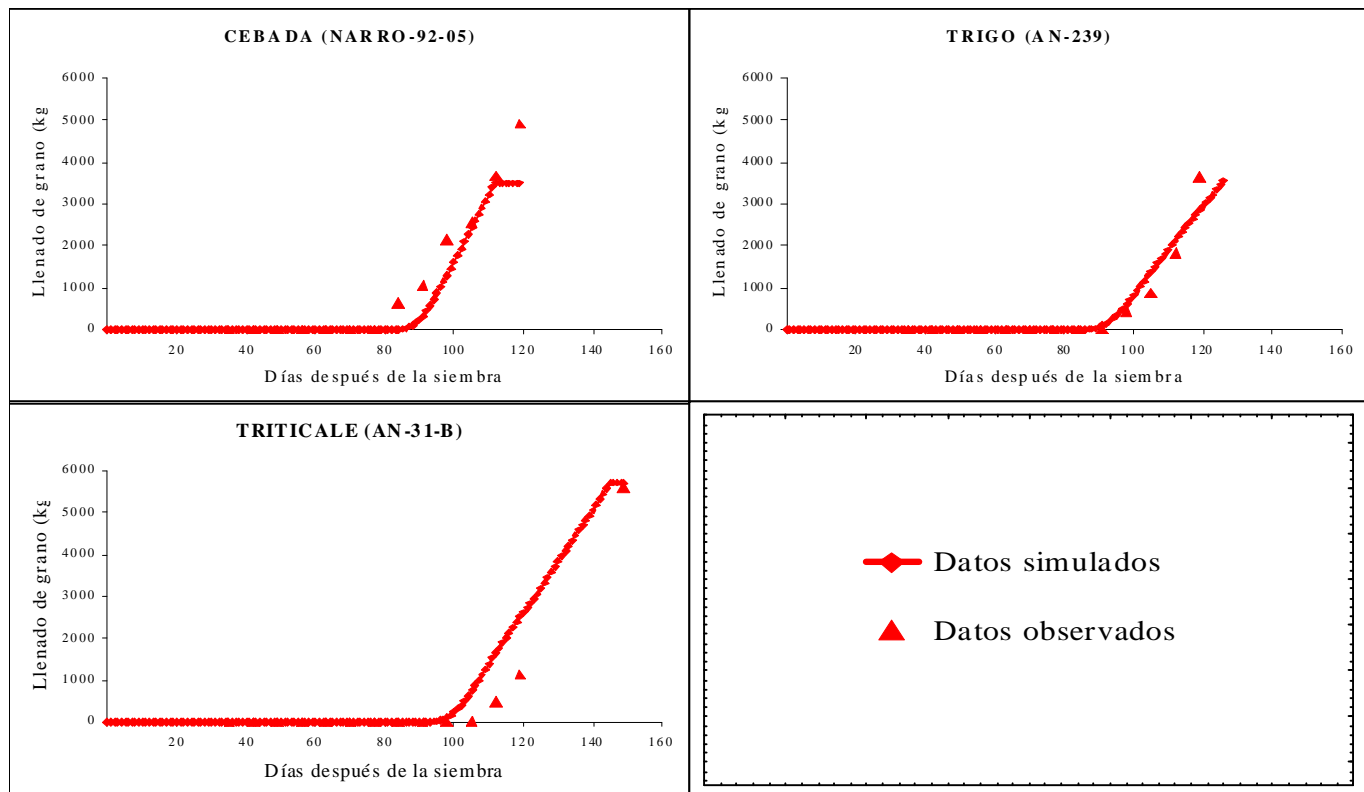


Figura 7. Acumulación de materia seca parcial en grano durante el ciclo de cultivo en cebada, trigo y triticale, simulados por DSSAT 4.0.2.0.

La calibración de los modelos de simulación utilizados por DSSAT 4.0.2.0 presentan ciertas dificultades debido a los procedimientos laboriosos de parametrización del programa en cada uno de los módulos necesarios, en los que se requiere de información detallada del crecimiento y desarrollo de los cultivos con diferentes prácticas de manejo, así como información de ambiente (suelo y clima) y características genéticas del cultivo y variedad a utilizar. Los modelos calibrados tienen una ventaja importante ya que se pueden aplicar a diferentes cultivos y variedades. Utilizando únicamente diferentes prácticas de manejo por computadora será factible la estimación de rendimientos de los cultivos y, con esto, tomar las decisiones más congruentes con los recursos disponibles en la región de trabajo.

Conclusiones

Los modelos de cebada, trigo, y triticale en el programa DSSAT 4.0.2.0 tuvieron la capacidad de simular valores semejantes a los valores observados, para la acumulación de materia seca parcial aérea, y acumulación de materia seca parcial en grano, para los 5 materiales estudiados. Al validar los modelos de cebada (NARRO-92-05), trigo (AN-239), y triticale (AN-31-B) se encontró que los modelos calibrados, aunque simulan de forma aceptable, requieren de más ajustes en base a la evaluación de los cultivos bajo diferentes prácticas de manejo. Los modelos de DSSAT 4.0.2.0 pueden ser calibrados utilizando la información de características genéticas del cultivo, ambiente (suelo y clima) del sitio así como datos experimentales y de manejo del cultivo de interés. Y de la calibración se puede caracterizar un material genético en base a su P1V, P1D, P5, G1, G2, G3 y PHINT mismos que pueden ser de mayor utilidad al conocer cuantitativamente el comportamiento de crecimiento de un cultivo y variedad específica.

Se confirma que los modelos de simulación son una herramienta viable para la predicción del crecimiento y desarrollo de cultivos forrajeros y aplicables en la toma de decisiones dentro de explotaciones agropecuarias.

Literatura Citada

- Ewert, F., J. Porter y B. Honermeier. 1996. Use of AFRCWHEAT2 to predict the development of main stem and tillers in winter triticale and winter wheat in North East Germany. *Eur. J. Agron.* 5:89-103.
- Ghaffari, A., H. F. Cook y H. C. Lee. 2001. Simulating winter wheat yields under temperate conditions: exploring different management scenarios. *Eur. J. Agron.* 15:231-240.
- Gijssman, A. J., G. Hoogenboom, W. J. Parton y P. C. Kerridge. 2002. Modifying DSSAT crop models for low-input agricultural systems using a soil organic matter-residue module from CENTURY. *Agron. J.* 94:462-474.
- Grant, W. E., E. K. Pedersen y S. L. Marín. 1997. Ecology and natural resource management: systems analysis and simulation. John Wiley & Sons Inc. New York, U.S.A. pp. 320.
- Hoogenboom, G., J. W. Jones, C. H. Porter, K. J. Boote, W. D. Batchelor, L. A. Hunt, A. J. Gijssman, P. W. Wilkens, U. Singh y W. T. Bowen. 2003. DSSAT v4 Cropping system simulation model. *In:* Hoogenboom G., J. W. Jones, C. H. Porter, P. W. Wilkens, K. J. Boote, W. D. Batchelor, L. A. Hunt, y G. Y. Tsuji (Eds). Decision Support System for Agrotechnology Transfer Version 4.0. Volume 1: Overview. University of Hawaii, Honolulu, HI.
- Hunt, L. A. y K. J. Boote. 1998. Data for model operation, calibration, and evaluation. pp. 9-39. *In:* Tsuji G. Y., G Hoogenboom. Thorton.(Eds). Understanding options for agricultural production. Kluwer Academic Publishers. Great Britain.
- Langensiepen, M., H. Hanus, P. Schoop y W. Grasle. 2008. Validating CERES-wheat under North-German environmental conditions. *Agric. Systems* 97:34-47.
- Moreno-Sotomayor, A. y A. Weiss. 2004. Improvements in the simulation of kernel number and grain yield in CERES-Wheat. *Field Crops Res.* 88: 157-169.
- Odum, T. H y E. C. Odum. 2000. Modeling for all scales. Academic Press. San Diego, California. USA. pp. 457.
- Rodríguez, A. N. T., James, L. W. Odell y J. B. Daniel. 1990. A Wheat grazing systems model for de US southern plains: Part I-Model description and performance. *Agric. Systems* 33:41-59.
- Saseendran, S. A., D. C. Nielsen, L. Ma, L. R. Ahuja y A. D. Halvorson. 2004. Modeling Nitrogen Management Effects on Winter Wheat Production Using RZWQM and CERES-Wheat. *Agron. J.* 96:615-630.
- Travasso, M. I. y G. O. Magrin. 1998. Utility of CERES-Barley under Argentine conditions. *Field Crops Res.* 57:329-333
- Uehara, G. y G. Y. Tsuji. 1998. Overview of IBSNAT. pp. 1-7. *In:* Tsuji G. Y., G Hoogenboom. Thorton (Eds). Understanding options for agricultural production. Kluwer Academic Publishers. Great Britain.

Biocontrol de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* sp. con Microencapsulados de *Bacillus subtilis* y su Efecto en Crecimiento y Rendimiento de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Marcela Hernández-Suárez^{1*}, Francisco Daniel Hernández-Castillo¹, Ricardo Hugo Lira-Saldivar², Gabriel Gallegos-Morales¹

¹Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Colonia Buenavista, 25315, Saltillo, Coahuila, México. ²CIQA, Saltillo, Coah., México. Tel. (844) 431 74 61. E-mail: marcela_h_s@hotmail.com. (*Autor responsable).

Abstract

The research hypothesis is that rhizobacteria of the genus *Bacillus* have the property of promoting the growth of some plants, being antagonists of phytopathogens, and being microencapsulated in a biopolimeric matrix. Therefore, the objectives of this assay were: 1) adapting a piece of equipment, and evaluating a technique to elaborate sodium alginate microcapsules in which rhizobacteria of *Bacillus subtilis* could be incorporated; 2) analyzing the biocontrol against soilborne phytopathogenic fungi, and 3) determining the promotion of the growth of tomato plants in greenhouse conditions. Strains of *B. subtilis*, identified as B1, J1, M2, and a mixture of them all were used; the microcapsules containing the bacterial strains were attached to tomato seeds of Floradade cv. Once the seedlings sprouted, a second application with *B. subtilis* was done to the flowerpots previously inoculated with *Rhizoctonia solani* and *Fusarium* sp. fungus propagules and spores. The analyzed variables were: incidence and severity of illness; plant growth; aerial dry and root weight and; foliage area and fruit yield. The results showed that the device built, and adapted for microcapsule elaboration was efficacious; *B. subtilis* strains showed its biocontrol activity when they reduced the incidence and severity of the illness by significantly inhibiting the activity of the phytopathogens; moreover, the *B. subtilis* microcapsules stimulated plant growth, and fruit yield. On the basis of the obtained results it may be concluded that the microcapsules containing bacterial strains can be an efficacious biocontrol agent against soil pathogens, and can have a biofertilizing activity, because they notably stimulated the growth, and yields of tomato plants, as compared with those of the witness treatment. It is suggested to validate these results in the field to corroborate the effectiveness of the process shown in this work.

Key words : Biological control; biopesticides; biofertilizer; solanaceous.

Resumen

La hipótesis de esta investigación es que las rizobacterias del género *Bacillus* tienen la propiedad de promover el crecimiento de algunas plantas, ser antagonistas de fitopatógenos, y de poder ser microencapsuladas en una matriz biopolimérica. Por lo tanto, los objetivos fueron: adaptar un equipo y evaluar una técnica para elaborar microcápsulas de alginato de sodio en las que se incorporaron rizobacterias de *Bacillus subtilis*; analizar el biocontrol contra hongos fitopatógenos del suelo y determinar la promoción del crecimiento de plantas de tomate en invernadero. Se utilizaron cepas de *B. subtilis* identificadas como B1, J1, M2 y la mezcla de ellas; las microcápsulas que contenían las cepas bacterianas fueron adheridas a semillas de tomate cv. Floradade. Una vez que se tuvieron las plántulas se realizó otra aplicación de microcápsulas con *B. subtilis* a las macetas que fueron inoculadas previamente con propágulos y esporas de los hongos *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* sp. respectivamente. Las variables analizadas fueron: incidencia y severidad de la enfermedad; crecimiento de plantas; peso seco aéreo y radicular; área foliar y rendimiento de frutos. Los resultados mostraron que el aparato construido y adaptado para elaborar microcápsulas fue eficaz; las cepas de *B. subtilis* mostraron su biocontrol ya que redujeron la incidencia y severidad de la enfermedad al inhibir significativamente la actividad de los

fitopatógenos; además las microcápsulas con *B. subtilis* estimularon el crecimiento de las plantas y el rendimiento de frutos. Con base en los resultados obtenidos se concluye que las microcápsulas conteniendo cepas bacterianas pueden ser un eficaz agente de biocontrol contra patógenos del suelo y pueden tener actividad biofertilizadora, ya que estimularon notablemente el crecimiento y rendimiento de plantas de tomate en comparación con los tratamientos testigo. Se sugiere que estos resultados sean validados en campo para corroborar la efectividad del proceso mostrado en este trabajo.

Palabras clave: Control biológico, bioplaguicidas, biofertilizantes, solanáceas.

Introducción

Una alternativa para disminuir la contaminación por el uso de agroquímicos sintéticos en el manejo de enfermedades del suelo es el uso de antagonistas del género *Bacillus*, ya que son considerados los más eficaces por sus propiedades de inhibición de fitopatógenos del suelo (Aino *et al.*, 1997), así como en la promoción del crecimiento de las plantas e induciendo mayor rendimiento de cultivos (Clements *et al.*, 2002; Dong *et al.*, 2004). Dada su gran diversidad en el suelo y en la rizósfera, se considera a este microorganismo como un colonizador eficaz. Por tal motivo, el uso de rizobacterias para el control biológico provee una herramienta sustentable para el control de fitopatógenos (Ait Barka *et al.*, 2002). El jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) ocupa el tercer lugar en cuanto a volumen de producción mundial, ya que es la hortaliza que más se consume en el mundo, se cultiva en invernadero y campo, y, en ciertas épocas del año, alcanza precios elevados en el mercado internacional, pero es atacado por numerosos fitopatógenos (Estrada *et al.*, 2006). La pudrición de la corona de la raíz causada por *F. oxysporum* disminuye hasta el 50 % de su rendimiento en campo; además, este hongo causa pudrición radical severa y lesiones necróticas extensivas en la base del tallo, provocando una podredumbre en las raíces secundarias, marchites y, finalmente, la muerte de la planta (Hernández-Castillo *et al.*, 2005). La prevención y el control de esta severa enfermedad se han realizado mediante diferentes estrategias, basadas principalmente en la utilización de agroquímicos sintéticos que no logran erradicar a los patógenos causantes de la enfermedad y generan resistencia debido al uso inadecuado de los pesticidas aplicados.

Debido a lo antes señalado, y al severo problema ambiental causado por los agroquímicos sintéticos, a nivel mundial se están evaluando nuevas opciones orgánicas y biológicas que logren prevenir y controlar diversos

fitopatógenos pero con menor impacto ambiental. Por esa razón, el uso de microorganismos antagonistas para el control de hongos patógenos como *R. solani*, *F. solani*, *F. oxysporum* y *Phytophthora infestans*, que atacan el sistema radical del tomate y otros cultivos se han estudiado desde la perspectiva de opciones biológicas para realizar prácticas agrícolas sustentables y amigables con los ecosistemas (Lira-Saldívar y Medina-Torres, 2007).

Por otro lado, la utilización excesiva de fertilizantes sintéticos resulta en mayores costos de producción y en la contaminación de suelos y aguas, especialmente por los nocivos nitratos; éstos también han ocasionado un proceso de deterioro de los recursos naturales y una creciente dificultad para removerlos. En las dos últimas décadas, una de las áreas de estudio que están impactando favorablemente la agricultura sustentable, es la aplicación de biofertilizantes (Fuentes-Ramírez y Caballero-Mellado, 2006) empleando bacterias y hongos que viven en simbiosis con las plantas, lo cual ha resultado muy positivo para fertilizar orgánicamente cultivos de leguminosas, gramíneas, y otros (Rueda *et al.*, 2007). Debido a los altos costos de los fertilizantes sintéticos el uso de microorganismos, como rizobacterias y micorrizas, se vislumbran como los biofertilizantes del futuro, debido a eso los trabajos de investigación con esta orientación deberían alentarse y apoyarse (Shah *et al.*, 2006).

La encapsulación en una matriz biodegradable con base en quitosán, goma guar, goma arábiga, alginato de sodio, y otros biocompuestos, han demostrado ser portadores de microorganismos; estos biocompuestos encapsulan las células vivas, y protegen a los microorganismos contra estrés ambiental (Weinbrecky *et al.*, 2004). Adicionalmente cuando los biopolímeros son degradados por los microorganismos del suelo, se liberan de manera gradual pero en grandes cantidades. Estos microencapsulados (MIC's) presentan ventajas ya que pueden almacenarse secos a temperatura ambiente por periodos prolongados; ofrecen una calidad constante, un mejor ambiente para las bacterias, y pueden ser manipulados fácilmente (González y Bashan, 2000).

El concepto de la inmovilización de células microbianas es atrapar microorganismos benéficos dentro de una matriz o microesfera. Esta técnica puede producir muchos compuestos útiles para la industria farmacéutica, agrícola, alimenticia, y para aplicaciones de ácidos orgánicos, aminoácidos, enzimas, y para biodegradar materiales tóxicos (biorremediación) durante un período extenso de tiempo (Bashan *et al.*, 2002). Los MICs son una forma especial de empacar, en la que un material de tamaño reducido puede ser cubierto de manera individual; en el término microencapsulación se incluyen MICs, micropartículas, nanocápsulas y sustancias bioactivas

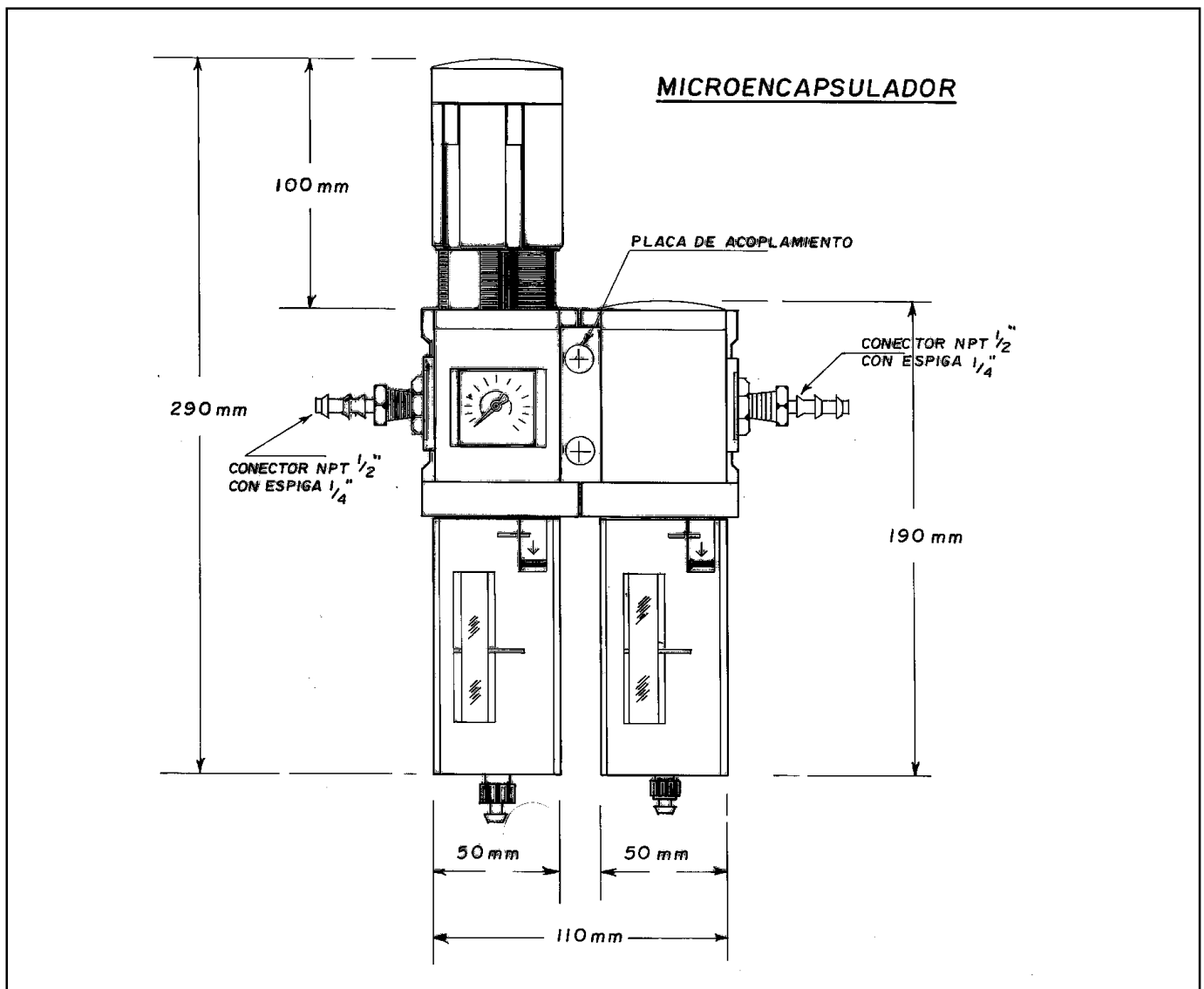


Figura 1. Unidad de filtrado con los componentes que conforman el dispositivo para microencapsular biocompuestos en una matriz biopolimérica.

atrapadas o embebidas en la matriz polimérica (Fery *et al.*, 2004). Las formulaciones con bacterias encapsuladas para usos agrícolas tienen al menos dos objetivos diferentes a las usadas por la industria: por una parte, protegen de manera temporal a los microorganismos encapsulados de factores abióticos adversos del suelo, y de la competencia microbiana y, por otra parte, buscan liberarlos gradualmente de manera que colonicen eficientemente las raíces de las plantas cultivadas (Wiwattanapatapee *et al.*, 2004; Yoon y Kinam. 2004).

Debido a lo antes expuesto, y a la necesidad de contar con opciones biológicas para la prevención y control de enfermedades fitopatógenas, se realizó un trabajo bajo condiciones de laboratorio e invernadero cuyos objetivos fueron: adaptar y evaluar el funcionamiento de un aparato para microencapsular; analizar el efecto de los MICs

conteniendo tres cepas de *B. subtilis* y la mezcla de las mismas, contra *R. solani* y *Fusarium* sp., e investigar el efecto de los MIC's de *B. subtilis* en la promoción de crecimiento, y rendimiento de tomate y su actividad antagónica.

Materiales y Métodos

Construcción del equipo para producir microencapsulados

La fabricación de MICs conteniendo cepas de *B. subtilis* se realizó empleando el equipo originalmente diseñado por Carrillo y Bashan (1997), realizándole adecuaciones mecánicas (Figura 1) para mejorar su funcionalidad en cuanto a la aspersión de mezclas y purificación del aire, para así mejorar la formación de MICs y evitar contaminaciones orgánicas e inorgánicas

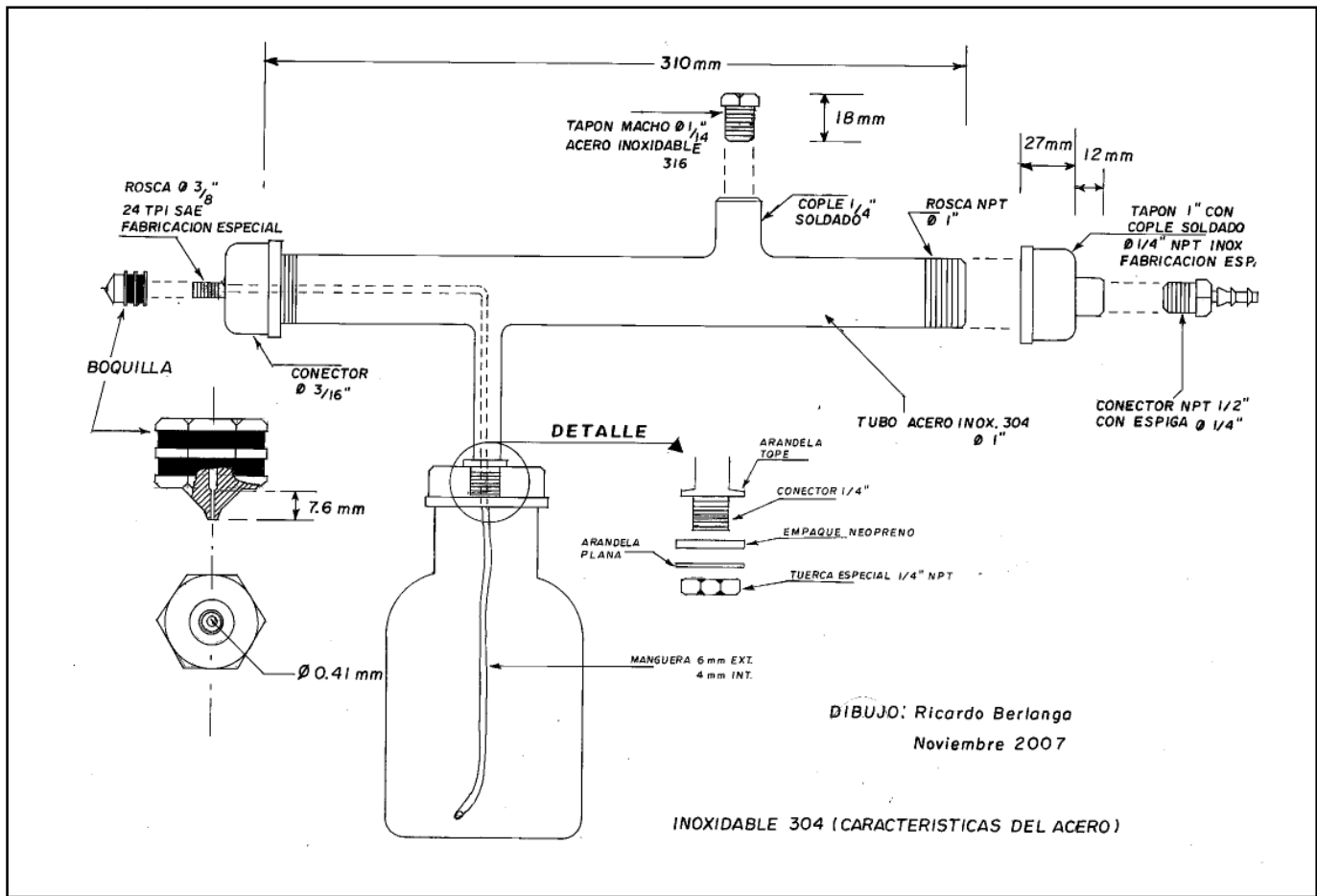


Figura 2. Dispositivo de acero inoxidable, y contenedor de vidrio, presurizado, en el que se realizó la combinación del hidrogel biopolimérico con las cepas bacterianas.

de las mismas. El equipo consta de un filtro regulador con un manómetro integrado para retener sólidos de hasta 0.04 mm, y es alimentado con aire presurizado. Una segunda unidad de filtro, acoplada directamente, recibe el aire ya filtrado y lo hace pasar por otro filtro para retener partículas pequeñas de hasta 0.01 mm.

El equipo completo para elaborar los MICs consiste de un cuerpo de acero inoxidable con un diámetro interior de 1" con dos insertos de 1/4" para las conexiones roscadas (Figura 2). En un inserto se pueden hacer mediciones de la presión en el interior de la recámara, mientras que en el otro situado en la parte inferior, es donde se instala el contenedor con el hidrogel biopolimérico para luego asperjarlo a condiciones de temperatura ambiente y presión atmosférica para que se formen espontáneamente los MICs conteniendo en su interior las cepas bacterianas.

Preparación de los microencapsulados bacterianos

Se utilizaron tres cepas de *B. subtilis* identificadas como B1, J1, M2 y la mezcla de las tres (B1J1M2); las cepas anteriormente habían sido aisladas de parcelas comerciales

(De La Garza, 2005). Para este trabajo las bacterias fueron cultivadas en agar nutritivo, posteriormente se sembraron en 50 mL de caldo nutritivo y se incubaron a 37 °C con agitación a 200 rpm/24 h. El cultivo bacteriano se centrifugó a 5000 rpm/10 min, se desechó el sobrenadante y el paquete o botón celular se resuspendió en 50 mL de solución salina al 0.85 %; se agitó en vortex y se centrifugó nuevamente a 5000 rpm/10 min, este lavado se realizó dos veces. Nuevamente se separó el sobrenadante y se resuspendió el botón celular en solución salina para ajustar la densidad óptica del espectrofotómetro UV-Visible Shimadzu 2401 PC a 540 nm a 1 de absorbancia, determinando que la muestra contenía 1×10^9 UFC/mL aproximadamente. Finalmente se tomaron 20 mL de la suspensión bacteriana ajustada y se mezclaron con 80 mL de alginato de sodio al 2 % previamente esterilizado, dejando en agitación por 15 min. Los 100 mL conteniendo la mezcla de alginato de sodio y las cepas se vaciaron al contenedor del microencapsulador y se inició la aspersión. Al hacer contacto la mezcla del alginato, más el cultivo bacteriano con el CaCl_2 que previamente se había colocado en el fondo de una charola estéril de acero inoxidable, se

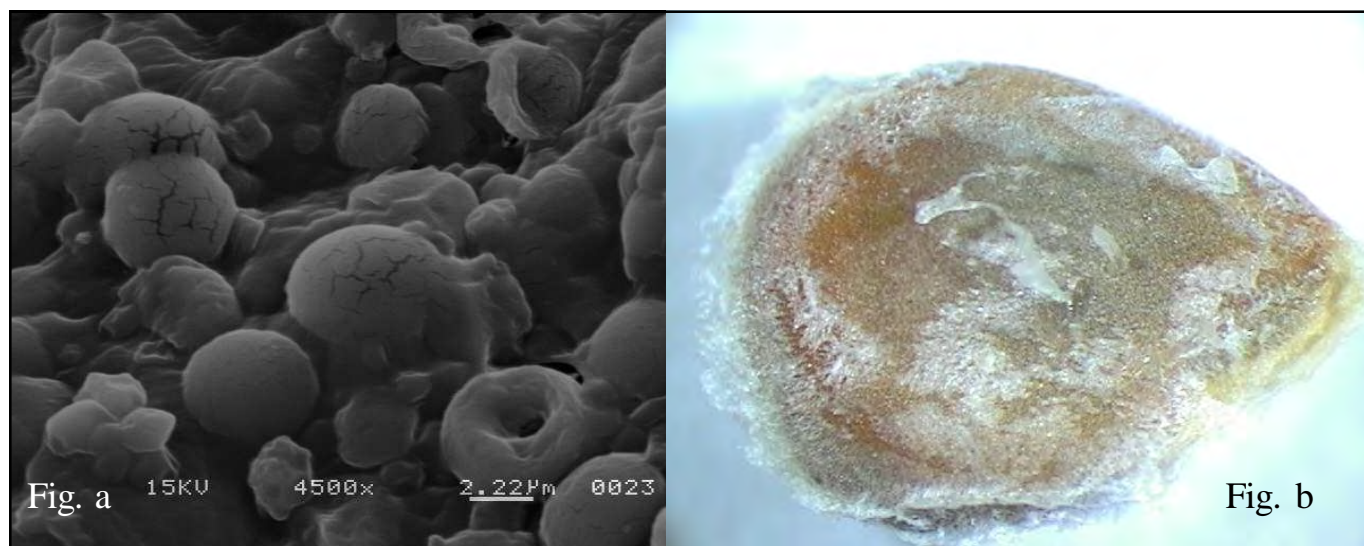


Figura 3. A la izquierda (Fig. a) se muestran los microencapsulados (4500 X) conteniendo las cepas bacterianas y a la derecha (Fig. b) se observa una semilla de tomate cubierta con las microcápsulas (300 X).

formaron las microcápsulas. A continuación las microesferas en la solución de CaCl_2 se vaciaron en un matraz estéril manteniéndose en agitación por una hora; después se separaron los MICs de la solución utilizando papel filtro, se lavaron con solución salina al 0.85 %, se retiró la solución salina, se adicionó caldo nutritivo a la concentración de 1:50 (p/v), y se incubaron a $37^\circ\text{C}/18$ h con agitación constante. Después se realizó otro lavado siguiendo los pasos anteriores, se colocaron los MICs en cajas petri con papel filtro estéril y se secaron a $40^\circ\text{C}/72$ h. Finalmente, para el recuento de las UFC/mL, se disolvió 0.01g de MICs en un tubo conteniendo 1mL de solución salina, y se sembraron por extensión con varilla de vidrio en cajas petri, las cuales contenían agar nutritivo, y se incubaron a $37^\circ\text{C}/24$ h.

Inoculación de los microencapsulados en semillas

Las semillas de tomate variedad Floradade fueron lavadas con agua potable en un recipiente, se decantó el agua, y se adicionó una solución de tween 20 al 2 %, manteniéndolos en agitación durante 10 min; el tween se decantó, y se le adicionó una solución de NaClO_3 al 3% con agitación durante 5 min. Se adicionó una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ al 2 % agitándose 5 min, para luego lavarse cinco veces con agua destilada estéril. Las semillas, secadas a temperatura ambiente, se inocularon manualmente, se humedecieron con una solución de pegamento vinílico (Resistol®) al 0.5 % y se mezclaron con las MICs para adherirlas a las semillas; posteriormente se realizó una observación microscópica para comprobarlo (Figuras 3a y 3b).

Producción de plántulas e inoculación de fitopatógenos

Las semillas inoculadas con *Bacillus* de MICs se sembraron en charolas de poliestireno de 200 cavidades previamente desinfectadas con una solución de NaClO_3 al 3 %; como sustrato se utilizó peat-moss y perlita (50:50 p/p) las charolas se colocaron sobre mesas metálicas en un invernadero. Ya germinadas las semillas y cuando las plántulas alcanzaron una altura promedio de 10 cm se transplantaron a macetas de plástico de 10 L de capacidad las cuales contenían 5 kg de suelo que previamente fue infestado con 400,000 propágulos por mL de *R. solani* y la misma cantidad de esporas de *Fusarium sp.* Las macetas se colocaron en el invernadero durante 90 días a una temperatura promedio de $24\text{-}26^\circ\text{C}$, con Tmax y Tmin de 36 y $22 \pm 2^\circ\text{C}$ respectivamente. Se aplicaron riegos y fertilización, de macro y micronutrientes, con riego automatizado cada tres días. Las macetas se distribuyeron mediante un diseño completamente al azar, con doce repeticiones, y seis tratamientos, en los que se incluyeron las tres cepas bacterianas (B1, J1, M2) y la mezcla de las mismas (B1J1M2); también se incluyeron un testigo químico (tiabendazol a la dosis recomendada comercialmente), y un testigo absoluto (sin fungicida). La aplicación de los MICs con *B. subtilis* a las macetas se realizó previamente al trasplante incorporando 0.01 g en una horadación hecha en el centro de las macetas que previamente fueron inoculadas con propágulos y esporas de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium sp.*; posteriormente se realizó el trasplante.

Parámetros evaluados en plantas

A los 30 y 60 días, después del trasplante (DDT), se

utilizaron cuatro plantas para evaluar el efecto de los tratamientos aplicados; por lo tanto, se midió altura, peso fresco y seco de raíz, tallo, y hojas, así como el área foliar; al final del ciclo (90 DDT) se midieron los mismos parámetros, incluyendo diámetro, y peso de frutos. También se determinaron incidencia y severidad de la enfermedad causada por los patógenos. Por lo tanto se observaron plantas libres de suelo, y residuos orgánicos, para detectar el número de plantas sanas y enfermas; considerándose enfermas aquellas que mostraban síntomas típicos de tallos con lesiones necróticas, marchites, pardeamiento y destrucción de la corteza, y del cilindro central de la raíz. La proporción de plantas con raíces dañadas se expresó en porcentaje. Para establecer el grado de severidad del daño de los hongos se determinó el peso de raíz dañada; cuantificando el peso total de raíz dañada por los patógenos y se pesó. Con estos datos se determinó el porcentaje en peso de raíz dañada. La determinación de la severidad del daño se realizó mediante la escala reportada por Engelhard (1986), la cual establece una escala de 0-5 que se relaciona con síntomas necróticos en hojas; haces vasculares dañados del tallo; síntomas de hojas marchitas, achaparramiento y muerte de la planta.

Resultados y Discusión

Efecto de los microencapsulados con *Bacillus* en crecimiento y área foliar

Los tratamientos aplicados mostraron diferencias significativas ($P < 0.01$) en las variables de crecimiento y área foliar (Cuadro 1). En cuanto a altura de plantas la mezcla de las cepas (B1J1M2) mostró ser más eficaz para estimular el crecimiento, ya que reportó el mayor valor promedio (121.05 cm), pero fue estadísticamente igual que las cepas B1 y J1. Las plantas tratadas con MICs mostraron en promedio 18.2 % mayor altura que los TQ y TA. Un trabajo realizado en tomate por Terry y Leyva (2006), con otras rizobacterias, reportó un efecto positivo con la coinoculación micorriza-rizobacteria en el crecimiento de plántulas, siendo la altura superior en 23% respecto al testigo; también se logró una eficiencia del 40 % respecto a la fertilización nitrogenada. Al realizar trabajos en condiciones de laboratorio y campo utilizando bacterias promotoras del crecimiento en el cultivo de lechuga. Díaz *et al.* (2001) reportan que la cepa *Hafnia alvei* P-3 incrementó la germinación en 36.5 % en comparación al testigo, mientras que en campo la misma cepa incrementó el peso seco en 371 % y el volumen radical en 300 %; además incrementó en 240 % el área foliar. En este estudio el área foliar de plantas de tomate también mostró ser influida por los tratamientos con MICs ya que produjeron más follaje que los tratamientos testigo (TQ y TA), reportando 48.4 y 44.6 % menos área foliar

respectivamente. Esto sugiere un efecto bioestimulador de las cepas bacterianas de *Bacillus* similar al producido por otras rizobacterias con actividad biofertilizadora como lo han consignado Viera y Álvarez (2006).

Cuadro 1. Altura y área foliar de plantas de tomate cv. Floradade sometidas a tratamientos de *Bacillus subtilis* en microencapsulados

Tratamientos	Altura (cm)	Área foliar (cm ²)
<i>Bacillus</i> B1	119.47 a	6857.01 b
<i>Bacillus</i> J1	118.65 a	7762.92 a
<i>Bacillus</i> M2	102.95 b	5393.32 b
Mezcla de <i>Bacillus</i>	121.05 a	7022.90 a
*TQ	99.05 b	4007.51 c
**TA	98.9 b	4302.63 bc
CV (%)	3.11	9.29

Testigo químico; **Testigo absoluto. Cifras con las mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey, $pd^*0.01$)

Efecto en producción de biomasa y rendimiento

La biomasa seca de hojas por planta fue claramente estimulada con los MICs de *Bacillus* (Cuadro 2), ya que las cepas B1 y J1 reportaron los máximos valores (116.41 y 107.57 g), siendo estadísticamente superiores ($P < 0.01$) al resto de los tratamientos. El contraste entre la media de biomasa foliar seca fue notable entre el resultado de la cepa B1 y el testigo absoluto, el cual reportó sólo 26.21 gr; esto representa una diferencia de 77.5 % menos peso seco de hojas.

Cuadro 2. Peso de biomasa seca aérea y subterránea (g) en plantas de tomate cv. Floradade sometidas a tratamientos de *Bacillus subtilis* en microencapsulados

Tratamientos	Hojas	Tallos	Raíces
<i>Bacillus</i> B1	116.41 a	30.31 ab	31.28 c
<i>Bacillus</i> J1	107.57 a	31.92 ab	38.76 b
<i>Bacillus</i> M2	87.67 b	27.90 b	32.04 c
Mezcla de <i>Bacillus</i>	94.51 b	34.69 a	96.63 a
*TQ	82.41 c	28.06 b	33.38 bc
**TA	26.21 d	14.57 c	13.92 d
CV (%)	6.54	8.32	6.97

Testigo químico. **Testigo absoluto. Cifras con las mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey, $Pd^*0.01$)

La biomasa producida en los tallos también resultó afectada favorablemente con la aplicación de MICs ya que la mezcla de las cepas (B1J1M2) produjo, en promedio, 34.69 gr, resultando estadísticamente superior ($P < 0.01$) a

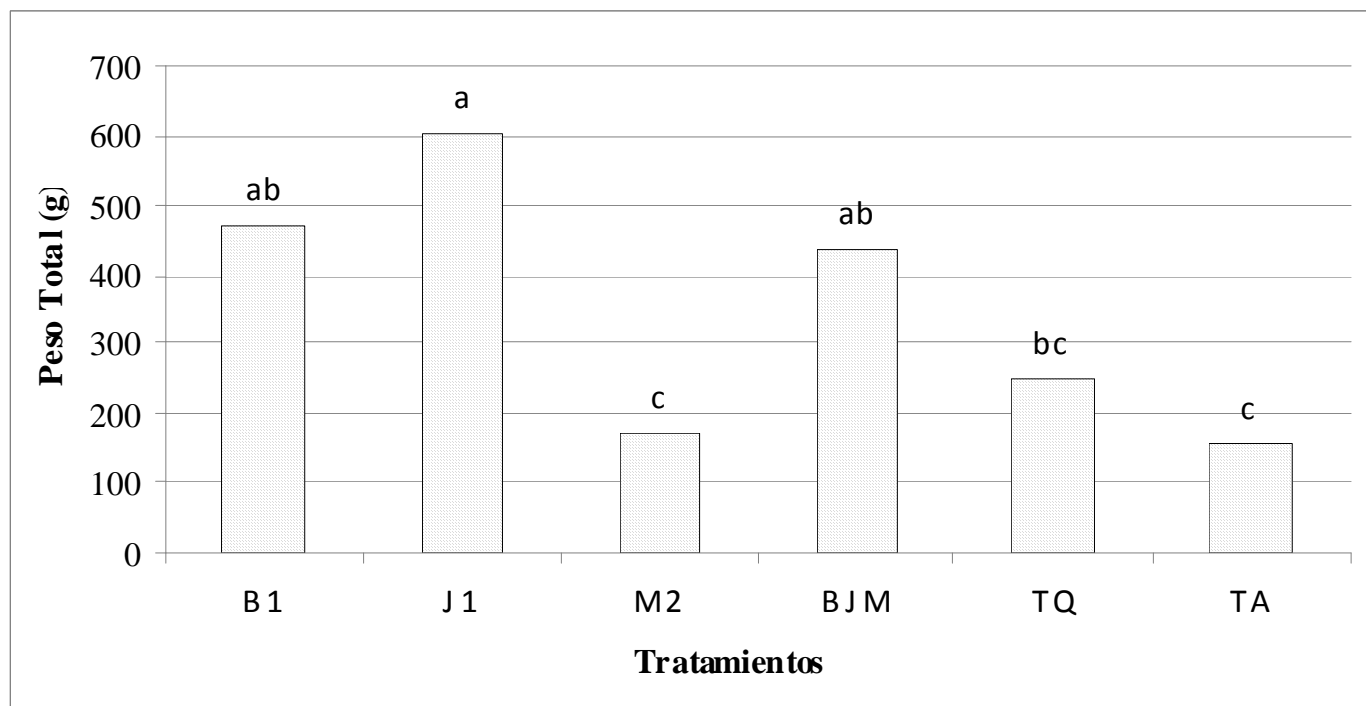


Figura 4. Rendimiento promedio de plantas de tomate sometidas a tratamientos de cepas bacterianas de *Bacillus subtilis* microencapsuladas. Testigo químico (TQ); Testigo absoluto (TA)

los dos tratamientos testigo, ya que el TQ reportó 28.06 g y el TA sólo 14.57 g. Esto representa 19.3 y 58 %, respectivamente, menos biomasa seca de tallos. Estos resultados son coincidentes con lo reportado por De la Garza-Rodríguez (2005) quien señala que los tratamientos con una mezcla de diferentes cepas nativas de *B. subtilis* produjeron raíces significativamente más largas (144.5 %). además, el peso seco fue 191.4% mayor con respecto al testigo. Resultados similares también fueron reportados por Iglesias *et al.* (2000) utilizando Azotobacterias y *Endogone* sp. en el cultivo de trigo, ya que obtuvieron mayor altura, y biomasa aérea y radicular de las plantas.

Por lo que respecta a biomasa radicular la tendencia estimuladora de los MICs también se pudo apreciar en este trabajo, ya que se observaron diferencias estadísticas significativas ($P < 0.01$); el tratamiento B1J1M2 produjo, en promedio, 96.63 g mientras que el TA reportó solo 13.92 gr, esto significa una diferencia de 85.6 % menos biomasa radicular, en plantas testigo que no recibieron aplicación de fungicida, en cambio el testigo químico, con aplicaciones de tiabendazol, reportó 33.38 g; esto significa una disminución de 65 % en la masa radicular, en comparación con las plantas tratadas con la mezcla de *Bacillus*. En el caso específico de tomate, hay reportes de trabajos donde se ha combinado *Azotobacter* + *Pseudomonas* (Martínez *et al.*, 2002) y *Azotobacter* + *G. fasciculatum* (Pulido, 2002), sus resultados indican que esos microorganismos también estimularon la producción de biomasa radicular. En la Figura 4 se muestran los datos correspondientes a

rendimiento de frutos de tomate. Los tratamientos con MICs de *Bacillus* estimularon significativamente ($P < 0.01$) el rendimiento ya que la cepa J1 reportó en promedio 600 g por planta, mientras que el TA solo 180 g; esto significa una diferencia de 70% menor rendimiento. Resultados como estos evidencian el potencial de las rizobacterias de estimular de manera sustentable el crecimiento y producción de biomasa repercutiendo directamente en el rendimiento, por lo puede considerarse que proporcionan grandes ventajas para su utilización en la agricultura sustentable o ecológica (Shah *et al.*, 2006).

Efecto de las cepas microencapsuladas en incidencia y severidad

La incidencia del daño radicular al final de ciclo causado por *R. solani* y *Fusarium* sp. que fueron inoculados al suelo de las macetas fue inexistente en los tratamientos con MICs de *Bacillus* B1, J1 y la mezcla de las tres bacterias (Cuadro 3), lo que resultó estadísticamente inferior ($P < 0.01$) a la incidencia observada en los TQ y TA (27 % y 75 %) respectivamente. En el mismo Cuadro 3 se muestra que la severidad del daño fue estadísticamente diferente entre tratamientos ($P < 0.01$), ya que el 100 % de las plantas del TA y 65 % de las del TQ resultaron severamente dañadas por los fitopatógenos; lo cual implicó la muerte total y parcial de esos tratamientos testigo. En cambio los MICs proporcionaron una protección muy evidente en los tratamientos B1, J1 y la mezcla de las tres. Vessey (2003) también ha reportado que las bacterias

promotoras del crecimiento de las plantas, además de mostrar un eficaz antagonismo contra hongos patógenicos, resultan ser eficaces biofertilizantes en numerosos cultivos.

Cuadro 3. Efecto de microencapsulados de *Bacillus* sobre la incidencia de pudrición de raíz y severidad de la enfermedad en plantas de tomate al final del ciclo de cultivo

Tratamientos	Incidencia (%)	Severidad
<i>Bacillus</i> B1	0 d	0 c
<i>Bacillus</i> J1	0 d	0 c
<i>Bacillus</i> M2	12 c	1.5 c
Mezcla de <i>Bacillus</i>	0 d	0 c
*TQ	27 b	3.5 b
**TA	75 a	5.0 a
CV (%)	10.4	1.2

Testigo químico; **Testigo absoluto. Cifras con las mismas letras son estadísticamente iguales (Tukey, Pd• 0.01)

Conclusiones

El aparato construido, y adaptado, fue eficaz para elaborar microcápsulas conteniendo cepas de *B. subtilis* que mostraron poder estimular el crecimiento de plantas, producción de biomasa y rendimiento de frutos; ejercieron, además, un claro biocontrol ya que redujeron la incidencia y severidad de la enfermedad al inhibir la actividad infectiva de *R. solani* y *Fusarium* sp. Estos resultados sugieren que las microcápsulas conteniendo cepas bacterianas pueden ser un eficaz agente de biocontrol contra patógenos del suelo, y pueden tener actividad biofertilizadora en comparación con los tratamientos testigo. Sería recomendable que estos resultados sean validados en campo para corroborar la efectividad mostrada en este trabajo.

Agradecimientos

Al CONACYT y al FOMIX-Campeche por el apoyo económico otorgado para la realización de este trabajo. Al CIQA por permitir efectuar la investigación de laboratorio e invernadero; así como a la MC. Gabriela Padrón Gamboa, y la TA Cristina Sánchez Flores por el apoyo brindado en las actividades de laboratorio.

Literatura Citada

Aino, M., Y. Maekawa, S. Mayama and H. Kato. 1997. Biocontrol of bacterial wilt of tomato by producing seedlings colonized with endophytic antagonistic pseudomonas, pp. 120-123. In A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo, and S. Akino (ed.), Plant growth promoting rhizobacteria: present status and future prospects. Nakanishi Printing, Sapporo, Japan.

Ait Barka, E., S. Gognies, J. Nowak, J. C. Audran and A. Belarbi. 2002. Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. Biol. Control 24:135-142.

Bashan, Y., Hernandez, J.P., Leyva, L.A. and Bacilio, M. 2002. Alginate microbeads as inoculant carrier for plant growth-promoting bacteria. Biology and Fertility of Soils. 35:359-368.

Carrillo, A. y Bashan, Y. 1997. Microencapsulation as a potential carrier for plant growth-promoting bacteria. pp 460-463. In: Ogoshi A Kobayashi K, Homma Y, Kodama F, Kondo N, Akino S (eds) Plant growth-promoting rhizobacteria - present status and future prospects. Faculty of Agriculture, Hokkaido University, Sapporo, Japan.

Clements, L., Miller, B. and Streips, U. 2002. Comparative growth analysis of the facultative anaerobes *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* and *Escherichia coli*. Syst. Appl. Microbiol. 25:284-286.

De la Garza-Rodríguez, R. 2005. Inhibición *in vitro* de bacterias rizosféricas esporuladas sobre fitopatógenos asociados a la marchites de chile. Tesis de Maestro en Ciencias en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 45 p.

Díaz, V.P., Ferrera C.R. y Almaraz S.J. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. Terra 19:327-335

Dong, Y.H., X.F. Zhang, J.L. Xu and L.H. Zhang. 2004. Insecticidal *Bacillus thuringiensis* silences *Erwinia carotovora* virulence by a new form of microbial antagonism, signal interference. Appl. Environ. Microbiol. 70:954-960.

Engelhard, A. 1986. Greenhouse evaluation of soil-applied fungicides for Fusarium wilt of chrysanthemum. pp. 30-31. In: Hickey, K.D. (Ed.) Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens.

Estrada, B.M., M.N. Brito, L.E de la Cruz y V.A., Gómez. 2006. Producción de jitomate en condiciones protegidas. pp. 36-37. In: Memorias del IX Congreso Nacional Agronómico. 26-27 de abril de 2006. Texcoco, México.

Fery A., F. Dubreuil and H. Möhwalld. 2004. Mechanics of artificial microcapsules. New Journal of Physics. 6:18-22.

Fuentes-Ramírez, L.E. y J. Caballero-Mellado. 2006. Bacterial biofertilizers. PGPR: Biocontrol and Biofertilization 143-172.

González, L.E. and Y. Bashan. 2000. Increased growth of the microalga *Chlorella vulgaris* when coimmobilized and cocultured in alginate beads with the plant growth-

- promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. Applied and Environmental Microbiology. 66:1527-1531.
- Hernández-Castillo, F.D., R. De la Garza-Rodríguez, G. Gallegos-Morales, E. Padrón-Corral, A., Sánchez-Arizpe, R.H. Lira-Saldívar. 2005. Efectividad biológica de bacterias rizosféricas esporuladas sobre el complejo de hongos de la marchitez del chile Phytion Int. J. Exp. Bot..
- Iglesias M., S., González y T., Suárez. 2000. Utilización de inoculante mixto en trigo. Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones científicas y tecnológicas. Argentina. 34 p.
- Lira-Saldivar, R.H. y J.G., Medina-Torres. 2007. ¿Agricultura sustentable o sostenible?: El reto es producir alimentos saludables utilizando productos y técnicas amigables con el ambiente. pp. 13-21 In: Agricultura Sustentable y Biofertilizantes. Eds. Lira-Saldivar, R.H. y Medina-Torres, J.G Serna Editores, Monterrey. N.L., México.
- Martínez, R. y B. Dibut. 2002. Biofertilización y producción agrícola sostenible. Retos y perspectivas. p 45. In: XIII Congreso Científico del INCA. Programa y Resúmenes. La Habana, Cuba.
- Pulido, L. 2002. Hongos micorrízicos arbusculares y rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: alternativas para la producción de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y cebolla (*Allium cepa* L). Tesis Doctor en Ciencias Agrícolas. INCA, La Habana, Cuba. 98 p.
- Rueda, E., Tarazón, M., Barrón, J., Corral, F., Murillo, B., García, J., Troyo, E., Holguín R., Larrinaga, J., Bashan, Y., González, E., Puente, M. y Hernández, J. 2007. Bacterias Promotoras del Crecimiento de Plantas: ¿Biofertilizantes en la producción de halófitas con potencial agroindustrial y especies forestales nativas de ambientes árido-salinos? In: Agricultura Sustentable y Biofertilizantes. Eds. Lira-Saldivar R.H. y Medina-Torres J.G. Serna Editores. Saltillo, Coahuila, México.
- Shah, S.K., Shah, R.P., Xu, H.L., Aryal, U.K. 2006. Biofertilizers: An alternative source of nutrients for sustainable production of tree crops. Journal of Sustainable Agriculture 29: 85-95.
- Vessey, J.K. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil 255: 571-586.
- Viera, R.M. y Álvarez, B.D. 2006. Practical applications of bacterial biofertilizers and biostimulators. Biological Approaches to Sustainable Soil Systems 113: 467-477
- Wiwattanapatpee, R., A. Pengnoo, M. Kanjanamaneesathian, W. Matchanavich. 2004. Floating pellets containing bacterial antagonist for control sheath blight of rice: formulation, viability and bacterial release studies. Journal of Controlled Release. 95:455-462.
- Yoon, Y., Kinam, P. 2004. A new microencapsulation method using an ultrasonic atomizer based on interfacial solvent exchange. Journal of Controlled Release. 100:379-388.
-

Metabolitos Secundarios en Tejido de Nogal Pecanero Dañado por el Barrenador Ambrosial (*Euplatypus segnis* Chapuis) y Hongos Asociados

Ramón Alvidrez-Villarreal¹, Francisco Daniel Hernández-Castillo^{1*}, Oswaldo García-Martínez¹, Rosalinda Mendoza-Villarreal², Raúl Rodríguez-Herrera³, Cristóbal Noé Aguilar-González³

¹Departamento de Parasitología Agrícola, ²Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro No. 1923, Colonia Buenavista, 25315, Saltillo, Coahuila, México. E-mail: Fdanielhc@hotmail.com (*Autor responsable). ³Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Blvd. V. Carranza y José Cárdenas s/n, C.P. 25000, Saltillo, Coah., México.

Abstract

The ambrosial pinhole borer (*Euplatypus segnis* Chapuis) is associated to *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* and *Botryodiplodia theobromae* which cause regressive death in pecan trees [*Carya illinoensis* (Wangenh.)]. In some regions of northern Mexico it has been estimated that, due to this combination of insects and phytopathogenic fungi, general losses in pecan yields go far more than 20%. It has also been observed that some trees manage to survive with, and without, chemical treatment. The objective of this assay was to determine some of the biochemical changes (content of N, raw protein, terpenes, condensate and hydrolyzable tannins, cellulose, lignin and silica) that occur in the trees of Western cultivars colonized by this complex. Three healthy, and 3 damaged trees, of 3 orchards were sampled and analyzed in 3 municipalities in the Mexican state of Coahuila. The results were analyzed under a completely randomized nested design; for mean comparison a Tukey test ($P < 0.05$) was applied. The results indicated that the content of terpenes, hydrolyzable tannins, cellulose, lignin, and silica increased significantly in the damaged trees, as compared to the healthy ones, thus it can be concluded that these components increase as a chemical defensive answer of the pecan tree to the invasion of insect, and to the enzymatic action of the associated phytopathogenic fungi

Key words: *Carya illinoensis*, ambrosial pinhole borer, characterization, identification.

Resumen

El insecto barrenador ambrosial *Euplatypus segnis* Chapuis esta asociado a *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* y *Botryodiplodia theobromae* los cuales provocan muerte regresiva en nogal pecanero [*Carya illinoensis* (Wangenh.)]. En algunas regiones del norte de México se han llegado a estimar pérdidas de más del 20 % en la producción, por esta combinación de insectos y hongos fitopatógenos. Asimismo se ha observado que algunos árboles logran sobrevivir con, y sin, tratamiento químico. El objetivo de este estudio fue determinar algunos de los cambios bioquímicos (contenido de N, proteína cruda, terpenos, taninos condensados e hidrolizables, celulosa, lignina y sílice) que ocurren en los árboles del cultivar Western colonizado por este complejo. Se analizaron tres árboles sanos y tres dañados de tres huertas muestreadas en tres municipios del estado de Coahuila. Para el análisis de las respuestas se utilizó un diseño anidado, se realizó la prueba de comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Los resultados indicaron que el contenido de terpenos, taninos hidrolizables, celulosa, lignina, y sílice aumentaron significativamente en los árboles dañados, en comparación de los sanos, esto permite inferir que estos componentes aumentan como una respuesta química de defensa del nogal pecanero a la invasión del insecto, y a la acción enzimática de los hongos fitopatógenos asociados.

Palabras clave: *Carya illinoensis*, barrenador ambrosial, caracterización, identificación.

Introducción

En los municipios de Parras, Torreón, y General Cepeda, en el sur del estado de Coahuila, México, se producen 19,345 ton anuales de nuez pecanera [*Carya*

illinoensis (Wangenh.) K. Koch], con una densidad de 525,060 árboles. En el 20 % de la superficie se ha reportado la presencia del barrenador ambrosial *Euplatypus segnis* Chapuis, que ha ocasionado pérdidas

en la producción de hasta 773.82 ton. (CESAVECO, 2006). El insecto está asociado a los hongos; *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* y *Botryodiplodia theobromae* que, en pruebas de patogenicidad, demostraron ser fitopatógenos en árboles de nogal de la variedad Western bajo condiciones de invernadero (Alvídrez, 2007). Los síntomas observados en campo en árboles colonizados fueron; orificios de entrada con aserrín, excreciones líquidas de color cristalino-rojizo, que se tornan a café oscuro, y un olor penetrante. Al desprender la corteza se distinguieron orificios de 2 mm de diámetro, y manchas necróticas con diversas tonalidades en forma de punta de diamante. También se apreciaron síntomas de pérdida de turgencia, amarillamiento, caída de hojas, muerte parcial de ramas, y muerte total del árbol, en lapsos de tiempo relativamente cortos (tres meses a un año), sin embargo es importante mencionar que algunos de ellos logran sobrevivir con, y sin, ningún tratamiento. Esto hace pensar que se presentan cambios bioquímicos o estructurales, o ambos a la vez como mecanismos de defensa de los árboles, pudiendo ser constitutivas, o inducidas, por la presencia de patógenos (Vivanco, 2005). En este sentido las coníferas presentan ambos mecanismos bioquímicos de defensa contra el ataque de insectos y la infección de patógenos (Berryman, 1972; Christiansen *et al.*, 1993).

Aunque los terpenos están asociados más comúnmente a especies de coníferas, también se han detectado en otras plantas, incluyendo angiospermas (Zwenger *et al.*, 2008). Eyles *et al.* (2003) reportan un aumento de compuestos polifenólicos, incluso taninos hidrolizables, proantocianidinas (taninos condensados), y glicósidos flavonoides en el xilema de árboles de *Eucalyptus globulus* (Labill) y *Eucalyptus nitens* (Maiden), 17 meses después de ser lesionado artificialmente, y señalan que el variado rango de metabolitos secundarios descubiertos en la herida de la madera, es una respuesta a su reparación. El ataque fúngico sobre la celulosa en las paredes celulares reduce la flexibilidad y la resistencia, mientras que la degradación de la lignina afecta la resistencia a la compresión de la madera, de hecho una pérdida significativa de esta resistencia ya ocurre incluso antes de que la pudrición sea detectada en la madera (Wilcox, 1978). Por otra parte, no existen reportes de que la celulosa tenga relación con la defensa contra patógenos, sin embargo los datos eso sugieren. Wainhouse *et al.* (1998) confirmaron la importancia de la lignina como una barrera mecánica de defensa desarrollada en los árboles, dado que cuando el barrenador *Dendroctonus micans* se estableció en abetos noruegos, había una relación negativa entre la cantidad de lignina, y el tamaño de la galería de adultos. Así mismo algunas biomoléculas como aldehídos, terpenos,

ésteres monoterpénoides, ésteres de cianohidrina, cianohidrininas, sesquiterpenos, aceites esenciales, furanos, alcaloides, y compuestos fenólicos (taninos) están presentes, de manera natural, en plantas, y han mostrado actividad insecticida o fitotóxica, en el control de plagas (Vázquez *et al.*, 2007). El objetivo de este trabajo fue determinar algunos de los cambios bioquímicos que presentan los árboles de nogal pecanero dañados por la presencia del barrenador ambrosial *Euplatypus segnis*, y los hongos asociados a este.

Materiales y Métodos

Zona de estudio

La colecta de tejido vegetal de árboles de nogal pecanero enfermo y sano se realizó en tres municipios del estado de Coahuila: Parras de la Fuente (25° 22' N, 102° 11' W; altitud de 1520 msnm) General Cepeda (25° 22' N, 101° 28' W; altitud de 1470 msnm), y Torreón (25° 42' N, 103° 27' W; altitud de 1120 msnm). Se muestrearon tres huertas por municipio, y en cada una de ellas se seleccionaron tres árboles de la variedad, de 20 años de edad, dañados en fase 3, esto es 50 % de área foliar dañada, de 25 a 50 orificios de entrada, y presencia de aserrín en la base del tallo, y tres árboles sanos. Las muestras de madera sana y dañada para los análisis químicos de cada árbol de nogal se obtuvieron de la primera troza cortada a 0.30 m y a 2.60 m del suelo de acuerdo con la norma TAPPI T 257-os 76. En este estudio las rodajas se cortaron de 2 cm debido a que los diámetros de las trozas fueron menores a los que especifica la norma, además de considerarse material para imprevistos. Se obtuvo madera del centro y las otras dos aproximadamente a 15 cm de cada cabezal (inferior y superior), de ellas se realizaron las determinaciones bioquímicas, que incluyen al N, proteína cruda, terpenos, taninos condensados e hidrolizables, celulosa, lignina y sílice. Las muestras se trasladaron al laboratorio en bolsas de polietileno de 20 kg, con el fin de evitar su deshidratación y la dispersión de insectos (larvas y adultos). Posteriormente, las rodajas se descortezaron y secaron en estufa de circulación forzada a 60 °C. Luego se astillaron y molieron en un molino tipo Wiley, y se pasaron a través de una malla No. 40 durante 48 h; enseguida se guardaron a temperatura ambiente en recipientes opacos para evitar la exposición directa a la luz (Honorato-Salazar, 1998).

Extracción de polifenoles

Se colocaron 5 g de polvo de cada una de las muestras de madera sana y enferma en matraces Erlen Meyer (1000 mL) con 20 mL de acetona al 70 % (relación 1:4). Los matraces se forraron con papel aluminio para evitar la

exposición de la luz. Se montó un sistema de reflujo a una temperatura de 60 °C por 12 h. Una vez terminado el reflujo, se filtró con tela de tul, el extracto recuperado se centrifugó por 10 min a 3500 rpm. Al extracto se le retiró el solvente con un rotavapor (Yamato res540) en el que se mantuvo una temperatura de 60 °C, evitando la exposición a la luz.

Determinación de Metabolitos Secundarios

Taninos hidrolizables. Se preparó una curva patrón utilizando una solución estándar de ácido gálico, a una concentración 0.4 g L⁻¹. Se etiquetaron cinco tubos de ensayo del 0 al 4, y se añadieron a cada tubo- 0, 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 mL de la solución estándar, posteriormente se agregó a cada uno 0.4, 0.3, 0.2, 0.1 y 0 mL de agua destilada respectivamente. Enseguida se añadieron 400 µL de los extractos recuperados de las muestras de madera sana y enferma diluida en un tubo de ensayo (extractos en dilución 1:100), al que se le adicionaron 400 µL del reactivo comercial Folin Ciocalteu, se agitó y se dejó reposar por 5 min. Después se adicionaron 400 µL de carbonato de sodio (0.01 M), se agitó, y se dejó reposar por 5 min. Posteriormente se diluyó con 2 mL de agua destilada, enseguida se tomó lectura en un espectrofotómetro UV/Visible (Thermo Spectronic, Biomate3) a 725 nm para determinar fenoles totales. Los cálculos se realizaron con los datos de las lecturas de las muestras y aplicando la ecuación $Y = 5.235X - 0.0256$, obtenida en la curva patrón ($R^2 = 9991$). El ensayo se realizó por triplicado (Ventura-Sobrevilla, 2006).

Taninos condensados. Se preparó una curva patrón utilizando una solución estándar de catequina a una concentración 1 g L⁻¹. Se etiquetaron cinco tubos de ensayo del 0 al 4, se les depositó a cada uno 0, 0.25, 0.50, 0.75 y 1 mL de la solución estándar, respectivamente, y se añadió, 0.75, 0.50, 0.25 y 0 mL de agua destilada. A los tubos con muestra se les agregó 500 µL de la muestra diluida en un tubo de ensayo (16 x 150), al que se le adicionó 3 mL de HCl-butanol al 10 %, luego se le adicionaron 100 µL de reactivo férrico. Estos tubos se sellaron para evitar la evaporación del HCl-butanol. Después se colocó 1h en baño maría con agua hirviendo a 100 °C, se dejó enfriar, y se tomó lectura en un espectrofotómetro UV/Visible (Thermo Spectronic, Biomate3) a 460 nm de absorbancia. Para cuantificar taninos condensados en los extractos de las muestras de madera sana y enferma, primero se hizo una dilución 1:100 y después se procedió de igual manera que para la curva patrón; tomando de aquí 500 µL para transferirlos a los tubos con rosca, y se le agregó el HCl-butanol y reactivo férrico, para después ponerlos en baño maría a 100 °C por 1 h. Las lecturas obtenidas de las muestras fueron calculadas por la ecuación $Y = 1.6102X$

- 0.329, obtenida en la curva patrón ($R^2 = 9967$). Dicho ensayo se realizó por triplicado (Ventura-Sobrevilla, 2006).

N y Proteína Cruda. Se pesaron 5 g por muestra en papel filtro, se colocaron en un matraz Kjeldhal, se agregaron 5 perlas de vidrio, y una cucharada de mezcla reactiva de Se, como catalizador, más 30 mL de H₂SO₄ concentrado, y se colocó en un digestor hasta observar el cambio de tonalidad de café oscuro a verde claro. Para la destilación, en un matraz se agregaron 300 mL de H₂O destilada, 5 granallas de zinc, 110 mL de Na OH al 45 %. En un Matraz Erlen Mayer de 500ml se adicionaron 50 mL de H₃BO₃ al 4 %, más 5 gotas de indicador mixto y se destiló hasta recuperar 300 mL. La titulación se realizó en bureta graduada con H₂SO₄ al 0.11173N. La determinación del N se obtuvo de la digestión húmeda de la materia orgánica y de la cuantificación del amoníaco producido a partir del N. Considerando que el N sólo proviene de las proteínas y que estas lo contienen en aproximadamente un 16 %, se estimó su concentración en porcentaje. Para cuantificar la proteína cruda se multiplico el % de N₂ por el factor de proteína 6.25.

Terpenos. Se colocaron 2 g de muestra de madera sana, y enferma, por dedal de extracción que se introdujo en un extractor Soxhlet, se montó el equipo con matraces de cuello esmerilado previamente pesados sobre manto eléctrico, agregando hexano. La extracción se realizó por 12 h y luego se eliminó el solvente en mufla, enfriando después en campana de secado, y se pesaron los matraces. El porcentaje de extracto en hexano, correspondiente al contenido de terpenos por muestra se calculó mediante la diferencia con el peso inicial (Muñoz *et al.*, 2004).

Lignina, Celulosa y Sílice. Se peso 1 g de cada una de las muestras de madera molida de nogal sano y dañado, dentro de un vaso Berzelius de 600 ml, se añadieron 200 ml de solución ácido detergente y 2 ml de decahidronaftaleno, y posteriormente se calentaron sobre parrillas hasta ebullición por 1 h. La solución se filtro a través de vacío sobre un crisol de capa porosa previamente tarado. El residuo sólido se lavó dos veces con agua destilada caliente, enseguida se lavo con 50 mL de acetona hasta desaparecer el color, se eliminó el residuo de solvente y enseguida se colocó en una estufa de secado a 105 °C, durante 12 h, posteriormente las muestras se colocaron en una campana de secado por 30 min, para obtener la fibra ácido detergente (FAD), que se colocó en crisoles sobre una caja petri con agua fría, y se le agregó 25 mL de solución combinada de permanganato de potasio, al menos cinco veces durante 90 min. Los crisoles de capa porosa se filtraron sobre un embudo de vacío hasta eliminar la solución de permanganato. Los crisoles se depositaron sobre cajas petri y se les añadió solución desmineralizadora hasta la mitad del volumen del crisol, dejando actuar la

solución por 5 min. El proceso se repitió dos veces, hasta que el residuo quedo blanquecino, enseguida se lavó dos veces con alcohol al 70 %, y se secaron los crisoles a 105 °C, dejándose enfriar en desecador para obtener el peso de la lignina. Las muestras de la determinación de lignina se incineraron en una mufla a 570 °C, dejándose enfriar en desecador para obtener el peso de la celulosa a la que se le agregó ácido bórico al 48 % y se lavaron con acetona, se incineraron en mufla a 570 °C, dejándose enfriar en desecador para obtener el peso del sílice (Van Soest and Wine, 1988). Se utilizó un diseño anidado completamente al azar; donde las huertas están anidadas en los municipios; las repeticiones con anidamiento en municipios por huerta; el estado fisiológico por municipios, y estado fisiológico por huerta anidada en los municipios. Se realizó un ANOVA y comparación de medias utilizando la prueba de Tukey $P < 0.05$ (SAS para Windows, V8)

Resultados y Discusión

Los resultados de los análisis químicos de madera de nogal sana y dañada entre municipios (Cuadro 1) indican que no existió diferencia significativa en el contenido de N y proteína cruda, terpenos, taninos condensados, y sílice. La concentración de taninos hidrolizables fue más alta para Torreón (1.02 me/cat), seguido por General Cepeda y Parras. Los valores de celulosa fueron superiores en Torreón y Parras en relación a General Cepeda.

Cuadro 1. Composición bioquímica de árboles de nogal pecanero muestreados en tres diferentes municipios del estado de Coahuila.

Municipios	N (%)	Pc (%)	T (%)	TC (me/ac. gal)	TH (me/cat)	C (%)	L (%)	S (%)
Torreón	0.55484 a	3.4678 a	3.8928 a	0.81619 a	1.01965 a	62.142 a	14.8311 ab	1.14714 a
Parras	0.52610 a	3.2881 a	4.9817 a	0.82553 a	0.87363 c	61.639 a	13.6483 b	1.17007 a
G. Cepeda	0.55537 a	3.4711 a	4.2272 a	0.79769 a	0.97114 b	57.102 b	15.4994 a	1.17108 a

Medias con literales distintas en la misma columna son diferentes ($P < 0,05$); N= nitrógeno; Pc= proteína cruda; T= terpenos; TC= taninos condensados; TH= taninos hidrolizables; C= celulosa; L= lignina y S= sílice.

El contenido de lignina (Cuadro 1), fue mayor en General Cepeda (15.49 %) que en Parras (13.64 %). Las huertas muestreadas en los tres municipios mostraron niveles de manejo agroecológico clave: como es la mejora de la calidad del suelo por la incorporación de materia orgánica y el manejo de la fertilidad. Estas condiciones inducen una mayor resistencia de las plantas a los insectos plaga (Phelan *et al.*, 1995).

Los valores de la composición química de árboles enfermos y sanos (Cuadro 2), indicaron que la concentración de nitrógeno (N) no fue significativa, lo que sugiere un nivel de fertilización similar en las huertas muestreadas. En este sentido las prácticas de fertilización pueden tener efectos indirectos en la

resistencia o susceptibilidad de las plantas a los insectos plaga y a las enfermedades, al cambiar la composición de nutrientes en los árboles. Por otro lado el N total ha sido considerado un factor nutricional crítico que modifica la abundancia y el comportamiento de los insectos (Mattson, 1980).

El nivel proteína cruda (Pc), en árboles sanos (3.38 %) y dañados (3.43 %), fue similar (Cuadro 2). Torres *et al.* (2005) mencionan que los diferentes periodos de lluvia aumentan significativamente el contenido y producción de proteína en la biomasa disponible (% PC/kg ha⁻¹) y no disponible; Las defensas químicas basado en proteína en los árboles incluyen las enzimas como el quitinasas y glucanasas que pueden degradar los componentes del organismos invasor. Los inhibidores de las enzimas interfieren con la habilidad del organismo de utilizar recursos del tejido invadido. Otras enzimas inducibles como la peroxidasas y lacasas pueden hacer las paredes celulares más duras a través de la promoción de lignificación, afectando directamente el organismo del invasor. Las defensas basado en proteína pueden ser favorablemente específicas a un organismo particular, pero sólo un subconjunto pequeño de ellas pueden regularse durante el ataque de un hongo patógeno específico, ejemplo de ello es el abeto de Noruega (Hietala *et al.*, 2004; Nagy *et al.*, 2004).

Cuadro 2. Composición bioquímica de árboles de nogal pecanero, enfermos y sanos, muestreados en tres diferentes municipios del estado de Coahuila.

Estado Fisiológico	N (%)	Pc (%)
Sano	0.54144 a	3.384 a
Enfermo	0.54943 a	3.434 a

Medias con literales distintas en la misma columna son diferentes ($P < 0,05$). 1= sano; 2 = dañado; N= Nitrógeno; Pc = proteína cruda

Los terpenos aumentaron significativamente en los árboles de nogal pecanero atacados por el complejo insecto barrenador-hongos (Cuadro 3) como ocurre en especies

de coníferas (Zwenger *et al.* 2008). Trapp y Croteau (2001) determinaron que aumentar las concentraciones de terpenos es una respuesta del hospedero a los insectos cuando taladran y socavan en el tejido de los árboles. Los terpenos también han demostrado inhibir el desarrollo del patógeno (Klepzig *et al.*, 1996). Aunque hay una respuesta inducida a la invasión de insectos, la biosíntesis de terpenos toma tiempo y ocurre después de que los barrenadores han transportado las hifas a la madera y el patógeno se establece, la distribución de terpenos puede variar dentro de una especie (Semiz *et al.*, 2007). Thompson *et al.* (2006) encontraron altas concentraciones de terpenos en el xilema y bajas en el floema, así como niveles moderados en la savia de la madera en el análisis de muestras de árboles. Kessler y Baldwin (2001) demostraron que los insectos herbívoros pueden inducir la emisión de terpenos de una planta, y también hacen que la planta emita señales para atraer especies predatoras. Estos experimentos proporcionan no solamente la evidencia del gran alcance del rol de los terpenos para la defensa de la planta, sino también dan un modelo de coevolución entre plantas, ácaros, e insectos.

Los taninos condensados (Cuadro 3) se redujeron en árboles enfermos. Alonso *et al.* (2001) refieren que en plantas de *Calluna vulgaris* los aumentos en las concentraciones de Nitrógeno, promueven disminución en compuestos fenólicos totales y en los niveles de taninos condensados.

La concentración de taninos hidrolizables aumentó considerablemente en la madera enferma en relación a la madera sana (Cuadro 3), esto es una respuesta de las plantas ante el complejo insecto-patógeno, dado que los compuestos tánicos desempeñan una función relevante en los mecanismos de resistencia a los organismos patógenos, debido a sus propiedades antifúngicas (Singh y Kim, 1997; Rocha *et al.*, 2001; Encinas *et al.*, 2000; Morita *et al.*, 2001). Eyles *et al.* (2003) mencionan que la madera que desarrolló el xilema lesionado artificialmente, después de 17 meses, en árboles de *Eucalyptus globulus* (Labill) y *Eucalyptus nitens* (Maiden), fue analizado anatómica y químicamente, encontrando un aumento de compuestos polifenólicos, incluyendo taninos hidrolizables, taninos condensados, glicósidos y flavonoides, los autores consideraron que el diverso rango de metabolitos secundarios descubiertos en la herida de la madera es una respuesta de reparación. Los taninos muestran un rol importante en los mecanismos de protección de la planta contra insectos, hongos de pudrición, o como agente alelopático, estos reaccionan rápidamente con otras biomoléculas formando productos complejos con proteínas (estructurales y catalíticas), almidón, sustancias pécticas y celulosas. Así se tiene que el ataque enzimático derivado

del metabolismo de hongos, o bacterias hospedados en la madera, puede ser inactivado o disminuido sustancialmente ante la presencia de taninos. (González, 1996). Algunos de estos compuestos bioactivos como son los taninos y terpenos, juegan un papel importante de manera natural en los mecanismos de defensa de frutales y hortalizas (Cowan, 1999; Howard *et al.*, 2000; Lombardi-Boccia *et al.* 2004).

Cuadro 3. Composición bioquímica de árboles de nogal pecanero enfermos y sanos, muestreados en tres diferentes Municipios del estado de Coahuila.

Estado Fisiológico	T (%)	TC (me/ac. gal)	TH (me/cat)
Sano	2.5122 b	0.89883 a	0.84736 b
Enfermo	6.2222 a	0.72744 b	1.06226 a

Medias con letras distintas en la misma columna son diferentes (P<0,05). 1= sano; 2 = dañado. T= terpenos; TC= taninos condensados; TH= taninos hidrolizables.

El contenido de celulosa tuvo incrementos significativos en la madera de los árboles enfermos en relación de la sana (Cuadro 4), siendo la celulosa el polisacárido de mayor proporción en la madera, es la sustancia más importante producida por este organismo vivo, siendo el principal componente de la pared celular (Fengel, 1984). La celulosa es la responsable de determinadas propiedades físicas y mecánicas de las maderas por constituir el material de sostén del árbol, dándole resistencia y tenacidad (Coronel, 1994). El ataque fúngico sobre la celulosa de las paredes celulares reduce la flexibilidad del árbol, mientras que la degradación de la lignina afecta a la resistencia a la compresión de la madera. Una pérdida significativa de esta resistencia ocurre antes de que la pudrición sea detectada en la madera (Wilcox, 1978). No existe reporte de que la celulosa tenga relación con aspectos de defensa contra patógenos, sin embargo, eso sugieren los datos.

La concentración de lignina aumentó considerablemente en árboles de nogal atacados por el insecto (Cuadro 4), Wainhouse *et al.* (1990) mencionan que el aumento de lignina tiene un efecto en los insectos barrenadores de madera, con una reducción en la supervivencia larval, proporción de peso y crecimiento del insecto, así como construcción de las galerías estrechas y deformes, los adultos ovipositaron menos en los árboles con alto contenido de lignina. La lignificación puede ser una característica constitutiva en algunas especies, pero también puede ocurrir como un proceso de refuerzo de los tejidos, cuando están sujetos a daño físico y se manifiesta durante la defensa con acumulación de lignina en grandes cantidades, de forma localizada en los tejidos

atacados por patógenos. La lignina se produce por la unión enzimática de unidades de fenilpropanoides formando largos polímeros que confieren impermeabilidad y resistencia mecánica; además, la lignina es resistente a la degradación producida por muchos patógenos (Nicholson y Hammerschmidt, 1992). Wainhouse *et al.* (1998) confirman la importancia de la lignina como una barrera mecánica de defensa desarrollada en los árboles, dado que cuando el barrenador *Dendroctonus micans* se estableció en abetos noruegos, había una relación negativa entre la cantidad de lignina, y el tamaño de la galería de adultos, quienes excavaron galerías más grandes en los árboles, con una baja concentración de lignina. Cuando *Ascoalyx abietina* de manera natural infectó madera de abetos elegantes de noruega, se acumularon compuestos fenólicos en la pared celular, y grandes volúmenes de lignina total. Cvikrova *et al.* (2006). Cuando *Pinus banksiana* fue atacado por el hongo *Gremmeniella abietina*, este invadió la corteza del tallo, las células del floema y el cambium vascular; los tejidos ligno-suberizados que producen los árboles enfermos, confinan al patógeno dentro del área afectada, siendo la primera demostración de un mecanismo anatómico en defensa de una coníferas, (Simard *et al.*, 2001). Los árboles genéticamente modificados con poca lignina aumentan la destrucción de bosques y formas de vida y son más susceptibles, no solo a daños por tormentas, sino también a ataques de insectos, hongos, y bacterias (Van *et al.*, 2004).

Cuadro 4. Contenido de componentes estructurales de la madera de árboles de nogal pecanero enfermos y sanos muestreados en tres diferentes Municipios del estado de Coahuila.

Estado Fisiológico	C (%)	L (%)	S (%)
Sano	58.808 b	10.1244 b	0.78473 b
Enfermo	61.781 a	19.1948 a	1.54080 a

Medias con letras distintas en la misma columna son diferentes (P<0,05). 1 = sano; 2 = dañado. C = celulosa; L = lignina y S= sílice

Asimismo, en este estudio se observa que el silicio se incrementa significativamente en madera enferma con respecto a la sana (Cuadro 4). El Si forma agregados insolubles (fitolitos) y solubles (polímeros del ácido ortosilícico), entrelazados con celulosa y componentes de la pared celular, haciéndolas resistentes y flexibles, con lo que protegen al tejido contra la acción del agua, del aire y los microorganismos (Quero, 2007). Los fisiólogos vegetales no consideran al Si como un elemento esencial para las plantas; sin embargo, se ha reportado que la

presencia de sílice beneficia los cultivos, por inducción de resistencia y protección contra diversos factores ambientales bióticos y abióticos atribuido en parte a su acumulación y polimerización en las paredes celulares, lo cual constituye una barrera mecánica contra el ataque de patógenos e insectos (Epstein, 1999). El Si activa una serie de genes defensivos en arroz, trigo, y maíz; se confirma que algunos insectos predadores (Coleoptera: Coccinellidae) se alimentan más en plantas con mayores niveles de Si, lo que implica que las plantas suplementadas con Si liberan compuestos volátiles para atraer a los enemigos naturales de las plagas. Esto genera, consecuentemente, un decremento en la preferencia de los insectos por las plantas (Batista *et al.*, 2005). Así mismo (Vázquez *et al.*, 2007) encontraron que algunas biomoléculas como aldehídos, terpenos, ésteres monoterpénoides, ésteres de cianohidrina, cianohidrininas, sesquiterpenos, aceites esenciales, furanos, alcaloides, y compuestos fenólicos (taninos) presentes de manera natural en plantas, probados en diferentes bioensayos, mostraron actividad insecticida, o fitotóxica, en control de plagas.

Conclusiones

La concentración de terpenos, taninos hidrolizables, celulosa, lignina, y sílice aumentaron significativamente en árboles enfermos, esto permite inferir que el aumento de estos componentes es una respuesta de defensa bioquímica del hospedero a la invasión del insecto, y a la acción enzimática de los hongos fitopatógenos asociados. Los resultados confirman que la activación de defensa en las plantas tiene una base compleja que depende de la manifestación coordinada de un conjunto de mecanismos de defensa. Estos mecanismos responden a la expresión, o represión, de genes cuyos productos participan en las diferentes vías metabólicas que participan en la defensa.

Estos genes, llamados genes de defensa, conforman la base de la resistencia horizontal o poligénica conocida por los fitopatólogos y mejoradores de plantas. Los mecanismos de defensa de la resistencia horizontal, sean estos la producción de fitoalexinas, metabolitos secundarios, proteínas PR, deposición de lignina, reacción hipersensible o SAR; son los responsables de actuar en detrimento del patógeno invasor. En otras palabras, la defensa en plantas es básicamente poligénica. Por otro lado, los genes R conforman la base de la resistencia vertical o monogénica u oligogénica. A pesar de lo que sugiere su nombre, los genes R no son directamente responsables de la resistencia, sino que actúan como receptores de las señales (proteínas Avr) originadas del patógeno. Esto conlleva a la activación de diferentes cascadas de señales que, en última instancia, inician la expresión de genes responsables

de los mecanismos de defensa

Literatura Citada

- Alonso, I., Hartley, S.E., Thurlow, M. 2001. Competition between heather and grasses on Scottish moorlands: Interacting effects of nutrient enrichment and grazing regime. *J. Vegetation Sci.* 12: 249-260.
- Alvírez, V. R. 2007. Capacidad patogénica de los hongos aislados del barrenador ambrosial (*Euplatypus segnis*) (Chapuis) (Coleoptera: Platypodidae) y tejido vegetal del nogal pecanero (*Carya illinoensis*) Koch y sus metabolitos secundarios. Tesis Postgrado, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Batista, G.F., Campos, M.J., Donizete, S.C., Marcos, G. M. 2005. Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. *Sci. Agric.* 62: 547-551.
- Berryman, A.A. 1972. Resistance of conifers to invasion by bark beetle-fungus associations. *BioScience* 22:598-602.
- CESAVECO. 2006. Comité estatal de sanidad vegetal del estado de Coahuila. Boletín, 158.
- Coronel, E. O. 1994. Fundamentos de las propiedades físicas y mecánicas de las maderas. Primera Parte. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Nacional de Santiago del Estero, Argentina. p.13-28.
- Cowan, M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiol. Rev.* 10, 564-5
- Christiansen, E. Fjone, G. 1993. Pruning enhances the susceptibility of *Picea abies* to infection by the bark beetle-transmitted bluestain fungus, *Ophiostoma polonicum*. *Scand. J. For. Res.* 8(82): 235-245.
- Cvikrova, M., Mala J., Hrubcova, M., Eder, J. 2006. Soluble and cell wall-bound phenolics and lignin in *Ascocalyx abietina* infected Norway spruces. *Plant Sci.* 170 563–570.
- Encinas, O., Velásquez, J. Rojas, L. 2000. Applications of biopreservatives from naturally durable woods in the preservation of caribbean pine. Documento impreso. ULA. 62p.
- Epstein, E. 1999. Silicon. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50: 641-664.
- Eyles, A., Davies, N. W., Mohammed, C. 2003. Wound wood formation in *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus nitens*: anatomy and chemistry. *Can. J. For. Res.* 33(12): 2331–2339
- Fengel, D., Wegener, G. 1984. “Wood Chemistry, Ultrastructure Reaction”, Walter de Gruyter, Berlín, Germany. pp: 2-220.
- González-Laredo, R. F. 1996. Preservación de madera con taninos. *Madera y Bosques* 2(2): 67-73 67.
- Hietala, A.M., Kvaalen, H., Schmidt, A., Jøhnk, N., Solheim, H., Fossdal, C.G. 2004. Temporal and spatial profiles of chitinase expression by Norway spruce in response to bark colonization by *Heterobasidion annosum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 3948–3953.
- Honorato-Salazar, J. A., Hernández-Pérez, J. 1998. Determinación de componentes químicos de la madera de cinco especies de encino del Estado de Puebla. *Madera y Bosques* 4(2): 79-93.
- Howard, L. R., Talcott, S. T., Brenes, C. H., Villalon, B. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J. Agric. Food Chem.* 48, 1713-1720.
- Kessler, A., Baldwin, T. 2001. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emission in nature. *Science* 291: 2141-2144.
- Klepzig, D. D., Smalley, E. B., Raffa, K. F. 1996. Combined chemical defenses against an insect-fungal complex. *J. Chem. Ecol.* 22 (8): 1367-1388.
- Lombardi-Boccia, G., Lucarini, M., Lanzi, S., Aguzzi, A., Capelloni, M. 2004. Nutrients and antioxidant molecules in yellow plums (*Prunus domestica* L.) from conventional and organic productions: a comparative study. *J. Agric. Food Chem.* 52, 90-94
- Mattson, W.J. Jr. 1980. Herbivory in relation to plant nitrogen content. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 11: 119-161.
- Morita, S., Yasaki, Y. Johnson, G.C. 2001. Mycelium growth promotion by water extractives from inner bark of radiate pine (*Pinus radiata*, Don.). *Holzforchung* 55(2): 155-158.
- Muñoz-Concha, D., Vogel H. y Razmilic I. 2004. Variation of chemical compounds in leaves of *Drimys* spp. (Magnoliophyta: Winteraceae) populations in Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 77: 43-50.
- Nagy, N.E., Fossdal, C.G., Krokene P, Krekling T., Lønneborg A., Solheim H. 2004. Induced responses to pathogen infection in Norway spruce phloem: changes in polyphenolic parenchyma cells, chalcone synthase transcript levels and peroxidase activity. *Tree Physiol.* 24: 505–515.
- Nicholson, R.L., Hammerschmidt, R. 1992. Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 30: 369-389.
- Phelan, P.L., Mason, J.F., Stinner, B. R. 1995. Soil fertility management and host preference by European borer. *Ecosyst. Environ.* 56; 1-8
- Quero, G. E. 2007. Silicio en la protección de las plantas. División de Investigación, Instituto Tecnológico Supe-

- rior de Uruapan. Protección y Nutrición de Hortalizas y Frutas. 5 (26)
- Rocha, B.V., Nobuo, A.S. 2001. Avalicao dos taninos da casca de *Eucalyptus grandis* W. Hill Ex Maiden como preservativo de madeira. Rev. Arvore 25(2): 245-256.
- Semiz, G., Heijari, J., Isik, K., Holopainen, J.K. 2007. Variation in needle terpenoids among *Pinus sylvestris* L (Pinaceae) provenances from Turkey. Biochem. Syst. Ecol. 35: 652-661.
- Simard, M., Rioux D., y Laflamme, G. 2001. Formation of Ligno-Suberized Tissues in Jack Pine Resistant to the European Race of *Gremmeniella abietina*. Biochem. Cell Biol. 91 (12): 1128-1140.
- Singh, A.P. Kim, Y.S., 1997. Biodegradation of wood in wet environments: a review. The International Research Group of Wood Preservation. Document No. IRG/WP 97-10217.
- Thompson, A., Cooper, J., Ingram, L.L. 2006. Distribution of terpenes in heartwood and sapwood of loblolly pine. Forest Prod. J. 56:7-8.
- Torres, R. A. Chacón E., Armas S. Espinoza F. 2005. Efecto de los patrones de siembra sobre la producción de proteína cruda en bancos de *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit. Zootecnia Trop. 23(1):27-38.
- Trapp, S. Croteau, R., 2001, Defensive Resin Biosynthesis in Conifers. Annu. Rev. Plant Biol. 52: 689-724.
- Van F. K. Beardmore, T. 2004. Current status and environmental impact of transgenic forest trees. Can. J. For. Res. 1163-1180.
- Van Soest, P. J. and R. H. Wine. 1988. Determination of lignin, cellulose and silice in Acid-Detergent Fiber with Permanganate. 5 Assoc. Official Annals Chem. 51: 780.
- Vázquez, L., A. Pérez, F., L. Díaz S., R. 2007. Biomoléculas con actividad insecticida: una alternativa para mejorar la seguridad alimentaria. Cienc. Tecnol. Aliment. 5(4) 306-313.
- Ventura-Sobrevilla, J. M. 2006. Biodegradación de taninos presentes en extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* Cov.) y hojases (*Flouencia cernua* D.C.) mediante fermentación en estado sólido usando *Aspergillus niger* PSH. Tesis de Maestría en Ciencia del Departamento de Investigación en Alimentos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila. Saltillo, Coahuila, México.
- Vivanco, J. M., Cosio, E., Loyola-Vargas, V. M. Flores, H. E. 2005. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. Investigación y Ciencia 10 (8) 68-75.
- Wainhouse, D., Ashburner R., Ward, E. Boswell, R. 1998. The Effect of Lignin and Bark Wounding on Susceptibility of Spruce Trees to *Dendroctonus micans*. J. Chem. Ecol. 24 (9)
- Wainhouse, D. Cross, D. J. and Howell, R. S. 1990. The role of lignin as a defence against the spruce bark beetle *Dendroctonus micans*: effect on larvae and adults. Oecologia 85 (2)
- Wilcox, W.W. 1978. Review of the literature on the effects of early stages of decay on wood strength. Wood and Fiber 9:252-257.
- Zwenger, S. y Basu, C. 2008. Plant terpenoids: applications and future potentials. Biotechnol. Molecular Biol. Rev. 3 (1): 1-7.
-

Antagonismo de Cepas Nativas de *Trichoderma* sp. aisladas en la Comarca Lagunera contra *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar

Rosalinda Cervantes-Martínez^{1*}, Vicente Hernández-Hernández, Guillermo González-Cervantes, Esteban Favela-Chávez, Vicente de Paúl Alvarez-Reyna

Postgrado en Ciencias Agrarias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe, C.P. 27054, Torreón, Coahuila, México. Tel. y Fax 01-871-729-76-76. E-mail: rosy_cervantes23@yahoo.com.mx. (*Autor responsable).

Abstract

The *Phymatotrichum omnivorum* fungus, is a soilborne pathogen that causes one of the most destructive, and hard to control diseases; the rotting of the root of the cotton, or Texas root rot. Biological control is an alternative for the handling of the disease. *Trichoderma* spp., a fungus that is a natural inhabitant of the ground, is used like antagonistic of several phytopathogen fungi. This work consisted of evaluating the antagonistic action of native isolations of *Trichoderma* at the Comarca Lagunera, México, against a strain of *P. omnivorum*, and identifying the species of these isolations. Dual confrontations were performed in laboratory to determine the degree of antagonism of 13 isolations of *Trichoderma* against the phytopathogen. The 13 isolations, and a witness with four replications, were evaluated outdoors, in flowerpots; using sclerotiums of *P. omnivorum* and bean plants to evaluate the *Trichoderma*'s antagonistic activity. All the isolations showed an effective antagonistic activity against *P. omnivorum*. The identified species of *Trichoderma* were *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*. *Trichoderma* showed an effective control of *P. omnivorum*, that is why it may be concluded that Texas root rot can be used as a rotting bioregulator.

Key words: Bioregulator, antagonistic, Texas root rot.

Resumen

El hongo *Phymatotrichum omnivorum*, es un patógeno del suelo que ocasiona una de las enfermedades más destructivas y difícil de controlar: la pudrición de la raíz del algodón, o pudrición texana de las raíces. El control biológico, es una alternativa para el manejo de la enfermedad; *Trichoderma* spp. es un hongo habitante natural del suelo que se utiliza como antagonico de varios hongos fitopatogenos. Este trabajo consistió en evaluar la acción antagonica de aislamientos nativos de *Trichoderma* de la Comarca Lagunera, México, frente a una cepa de *P. omnivorum* e identificar las especies de estos aislamientos. Se realizaron enfrentamientos duales en laboratorio para determinar el grado de antagonismo de 13 aislamientos de *Trichoderma* frente al fitopatogeno. Los 13 aislamientos, y un testigo con cuatro repeticiones, fueron evaluados en macetas al aire libre; utilizando esclerocios de *P. omnivorum* y plantas de frijol para evaluar la actividad antagonica de *Trichoderma*. Todos los aislamientos mostraron actividad antagonica efectiva contra *P. omnivorum*. Las especies identificadas de *Trichoderma* fueron *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*. *Trichoderma* presentó un control efectivo de *P. omnivorum*, por lo que puede ser utilizado como biorregulador de la pudrición texana.

Palabras clave: Biorregulador, antagonico, pudrición texana

Introducción

Los fitopatogenos que habitan en el suelo son principalmente, de los generos *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Verticillium* y *Phymatotrichum*, y afectan a los principales cultivos de importancia económica para el hombre. Estos fitopatogenos son difíciles de erradicar, ya que pueden persistir en el suelo por varios años debido a las estructuras

de resistencia que forman y a su amplio rango de hospedantes; su distribución mundial es amplia ya que se encuentran en la mayoría de los suelos, y son causantes de enfermedades que afectan la productividad de los cultivos hasta causar la muerte de las plantas, generando grandes pérdidas económicas (Hernández, 2002; Herrera y Samaniego, 2002).

El hongo *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar;

Cuadro 1. Huertas de nogal muestreadas en la Comarca Lagunera para el aislamiento de *Trichoderma* spp. UAAAN-UL, Torreón, Coah., México, 2006.

Huerto	Lugar	Localidad	Coordenadas	
			Latitud	Longitud
1	Lácteos Florida	Francisco I Madero, Coahuila	25° 45' 33"	103° 17' 43"
2	La Partida	Torreón, Coahuila	25° 35' 33"	103° 19' 04"
3	Las Villas	Torreón, Coahuila	25° 37' 5.7"	103° 24' 14"
4	Huerto Narro	Torreón, Coahuila	25° 33' 28"	103° 22' 12"
5	Rancho Ana	Torreón, Coahuila	25° 35' 48"	103° 22' 23"
6	San Antonio	Torreón, Coahuila	25° 38' 08"	103° 22' 27"
7	Recreativo Natividad	Matamoros, Coahuila	25° 34' 54"	103° 16' 30"
8	Huerto INIFAP	Matamoros, Coahuila	25° 31' 44"	103° 14' 38"
9	La Trinidad	Rodeo, Durango	25° 18' 03"	104° 38' 28"
10	San Isidro	San Pedro, Coahuila	25° 44' 35"	103° 00' 07"

causante de la pudrición texana se encuentra principalmente en el Norte de México (Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León) y Sur de Estados Unidos (Arizona, California, Nuevo Mexico, Texas); adaptado a suelos de pH alto y temperatura óptima de 28 °C; con un amplio rango de hospedantes, ya que puede atacar a más de 2,000 especies de plantas entre silvestres y cultivadas. En la Comarca Lagunera, además del nogal, afecta a la vid, el algodón, alfalfa, chile, tomate y árboles ornamentales (Streets y Bloss, 1973; Herrera y Samaniego, 2002).

El nogal, en el norte del país, está sujeto al ataque de pocos organismos patógenos, sin embargo, *P. omnivorum*, puede provocar pérdidas cuantiosas a las huertas afectadas. En un estudio realizado en 1995 en nogales cuya edad fluctuaba entre 10 y 48 años se encontró una incidencia de la enfermedad de 10.5 %. Se estima que la pérdida ocasionada por pudrición texana en nogal en la Comarca Lagunera es de 12 millones de pesos anuales (Herrera y Samaniego, 2002).

El sector primario invierte anualmente de 25 a 30 millones de dólares en el control químico de enfermedades y plagas; éste control no ha resultado efectivo debido a la resistencia que crean los organismos a los plaguicidas, y las perturbaciones ocasionadas al ambiente, suelo y salud humana.

La búsqueda de formas de control que eviten la contaminación del medio ambiente, con menores riesgos tanto para las plantas como la micoflora del suelo, ha conducido a soluciones basadas en el uso de microorganismos antagónicos de los patógenos, y a la creación de un medio más propicio para el desarrollo de estos organismos, a la vez que se induce un equilibrio biológico que reduce fuertemente el potencial infectivo de

fitopatógenos como el causante de la pudrición texana.

Trichoderma spp. tiene varias ventajas como agente de control biológico, pues tiene un rápido crecimiento y desarrollo, y produce una gran cantidad de enzimas, inducidas ante la presencia de hongos fitopatógenos; además se desarrolla en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura; es tolerante a condiciones ambientales extremas, y al hábitat donde los hongos causan enfermedad; puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de plaguicidas y otros químicos (Tronsmo y Hhjelijord, 1998). Además, su gran variabilidad lo convierte en un reservorio de posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos. Este estudio se realizó en la Comarca Lagunera con los objetivos de: a) conocer la actividad antagónica de especies nativas de *Trichoderma* contra *P. omnivorum*; b) Identificar especies del género *Trichoderma* en suelos de la Comarca Lagunera y c) evaluar el antagonismo de *Trichoderma* sobre *P. omnivorum*.

Materiales y Métodos

El trabajo de investigación se realizó en dos fases; una de campo, y otra en laboratorio. La fase de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna (UAAAN-UL) en la ciudad de Torreón, Coah., México; localizada en el paralelo 25° 26' 51" LN y el meridiano 103°27' 47"LO con una altitud de 1200 m.

En la fase de campo se tomaron muestras de suelo en diferentes localidades de la Comarca Lagunera (Cuadro 1), para el aislamiento de *Trichoderma* spp., durante los meses de febrero a octubre de 2006, en huertas de nogal.

El aislamiento de *Trichoderma* se realizó en el

laboratorio de Parasitología de la UAAAN-UL; de cada muestra de suelo se tomaron 10 submuestras de 50 mg, cada una; se preparó un medio de cultivo que favoreciera el crecimiento de *Trichoderma* según Papavizas y Davey, 1950 (Jonson y Curl, 1972) el cual se colocó en cajas petri sobre las cuales se dispersó uniformemente el suelo. Las cajas se incubaron a temperatura ambiente, y se revisaron diariamente durante 10 días, procesándose 820 submuestras.

Prueba *in Vitro*

Se realizaron enfrentamientos duales colocando a los dos microorganismos -antagónico y patógeno- en cajas PETRI con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) en las mismas condiciones, para observar el desarrollo simultáneo (Bell *et al.*, 1982).

El efecto antagónico se evaluó utilizando como patógeno el aislamiento de *P. omnivorum*, obtenido de las raíces de plantas de nogal con síntomas de la enfermedad. El aislamiento se hizo en cajas petri con PDA (Hernández, 1987). Se evaluaron 13 aislamientos nativos de *Trichoderma* spp., y un testigo con un total de 14 tratamientos. Los tratamientos se presentan en el Cuadro 2.

Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Relación Agua-Suelo Planta-Atmósfera (CENID-RASPA INIFAP), Gómez Palacio, Dgo., México, el 22 de junio del 2007, con duración de 30 días, período en que la temperatura promedio fue 26.5 °C, con una mínima y máxima de 19 a 34 °C.

Preparación del inóculo de *P. omnivorum*

El inóculo del patógeno se preparó en arena y sorgo para la obtención de esclerocios (Lyda y Kerneley, 1992).

Aplicación de los microorganismos

Se aplicaron 3 g de *Trichoderma* y 20 esclerocios de *P. omnivorum* a las macetas una semana antes de la siembra. Se sembraron 4 semillas por maceta.

Evaluaciones

En la prueba *in vitro* se realizaron observaciones a las 48, 72 y 96 h y en la prueba de macetas a los 8, 15 y 30 días después de la siembra.

Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron: porcentaje de germinación, semillas dañadas, plantas enfermas y plantas muertas. Al concluir los 30 días, se evaluó peso

Cuadro 2. Tratamientos de *Trichoderma* spp contra *Phymatotrichum omnivorum*. UAAAN-UL. Torreón, Coah., México, 2006.

Tratamiento No.	Tratamientos de estudio
1	T1 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)
2	T2 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)
3	T3 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)
4	T4 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)
5	T5 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)
6	T6 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)
7	T7 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)
8	T8 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)
9	T9 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)
10	T10 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)
11	T11 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)
12	T12 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)
13	T13 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)
14	T14 (Testigo: <i>P. omnivorum</i> sin antagonista)

Identificación de *Trichoderma* spp.

Los aislamientos utilizados en los tratamientos se identificaron morfológicamente con apoyo de claves taxonómicas.

Prueba en macetas

El experimento en macetas se instaló al aire libre, en el

total de la planta, longitud de la raíz, tallo y estado físico de esclerocios.

Resultados y Discusión

Las especies identificadas de los aislamientos seleccionados y obtenidos en suelos de la Comarca Lagunera se presentan en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Identificación a nivel de especie de las 13 cepas de *Trichoderma* seleccionadas. UAAAN-UL. Torreón, Coah., México, 2006.

Especie	Aislamiento	Principales características
<i>T. harzianum</i> Hn1, Sa1, Hi1	Si1,P1, P2, RN1, V8, Ra1,	Las colonias presentan un crecimiento rápido arriba de 9 cm de diámetro en 5 días a 20° C en Agar-Avena. Colonias de color verde. Hifas hialinas, conidióforo con ramificación intrincada. Conidios globosos o subglobosos de pared lisa de color verde olivo. Con un radio menor a 1.25, 2.8-3.2 x 2.5-2.8 µm; no tiñen el medio las colonias.
<i>T. pseudokoningii</i>	R3, Lf1, Lf3	Colonias de 3-5 cm de diámetro en 5 días a 20° C en Agar-Avena. Puede ser confundido con <i>T. koningii</i> por tener conidios y fiálides similares, pero en esta especie las fiálides en su mayor parte surgen lateralmente y solas; el conidióforo es largo en vez de piramidal.
<i>T. koningii</i> Hi4		Colonias de 3-5 cm de diámetro en 5 días a 20° C en Agar-Avena. Conidióforos con ramificación abierta. Conidios de pared lisa, elipsoidales u oblongos de 3.0-4.8 x 1.9-2.8µm. Fiálides regularmente dispuestas en número de 3 ó más.

Cuadro 4. Crecimiento promedio de *P. omnivorum* en los enfrentamientos con *Trichoderma* spp. UAAAN-UL. Torreón, Coahuila, México, 2006.

Tratamientos	Diámetro cm
T14 (Testigo: <i>P. omnivorumi</i> sin antagonista)	3.50 A
T3 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	2.72 B
T6 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	2.35 B
T8 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	2.17 BC
T9 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	2.17 BC
T1 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	2.15 BC
T2 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	1.82 CD
T7 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	1.82 CD
T5 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	1.80 CD
T4 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	1.70 D
T10 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	1.32 E
T11 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	1.05 E
T12 (<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	1.00 E
T1 3(<i>P.omnivorum</i> +Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	1.10 E

* Medias con la misma letra son iguales en DMS (p<0.05)

La especie que presentó mayor frecuencia en los aislamientos fue *T. harzianum*. Las especies identificadas coinciden con las reportadas por Danielson y Davey (1973), las cuales tienen variada distribución geográfica y son características de áreas con temperatura cálida, siendo esta condición predominante en la Comarca Lagunera, en la cual se reporta una temperatura promedio de 20.3 °C con una mínima de 5.7 °C y una máxima de 36.6 °C.

Prueba *in vitro*

Los trece aislamientos de *Trichoderma* spp., manifestaron diferencia en el crecimiento micelial en los cultivos duales con el aislamiento de *P.omnivorum*. La actividad antagónica de *Trichoderma* spp. contra el patógeno fue intermedia, moderada y acentuada. El análisis estadístico detectó diferencia altamente significativa para diámetro de crecimiento entre tratamientos. Esto demuestra

que la capacidad antagonica de *Trichoderma* es altamente variable coincidiendo con Mihuta-Grimm y Rowe (1986) quienes demostraron que de 255 aislamientos obtenidos de diferentes lugares, sólo el 15 % de los mismos fueron efectivos en el control de *Rhizoctonia*.

Considerando un tiempo de 72 h la velocidad de crecimiento de *Trichoderma* después de las 48 h fue más acelerada observando que todos los tratamientos fueron superiores al testigo. Esto indica claramente la variabilidad de los aislamientos en velocidad de crecimiento, característica que permite utilizar en el control de enfermedades a las especies o aislamientos antagonicos que presentan mayor desarrollo en menos tiempo (Cook y Baker, 1983).

Los tratamientos que presentaron menor crecimiento de *P. omnivorum* fueron: T7, T10 y T12 que corresponden a *T. harzianum*, aunque todos los tratamientos mostraron menor crecimiento con respecto al testigo (Cuadro 4).

De acuerdo a los estudios realizados por Alippi y Mónaco (1990), el antagonismo en cajas petri (*in vitro*) es una prueba inicial, importante para poder determinar el tipo de interferencia por las características que presenta dicho enfrentamiento en cada uno de los aislamientos. Esta prueba inicial constituye una aproximación para estudios subsiguientes de sistemas biológicos de control de enfermedades.

Prueba en macetas

En la prueba de germinación a la semilla de fríjol utilizada en el experimento se obtuvo 94 %.

En la prueba que se realizó a los esclerocios se obtuvo el 100 % de germinación, demostrando que los esclerocios utilizados en esta prueba fueron viables.

Los 13 aislamientos de *Trichoderma* spp, no presentaron diferencia significativa sobre la semilla de frijol con respecto al testigo donde no se aplicó *Trichoderma*. Este resultado es lógico si se considera que *P. omnivorum* no forma parte de fitopatógenos causantes del complejo de enfermedades de la semilla y plántula.

Longitud de tallo y raíz a los 30 días después de la siembra

El análisis estadístico detectó diferencia significativa entre tratamientos en cuanto la longitud de tallo pero no en longitud de raíz. El mejor tratamiento para este parámetro es el T7 y el peor estadísticamente fue el T2. El resto de los tratamientos (T1, T3, T4, T5, T6, T8, T9, T10, T11, T12 y T13) no mostraron diferencia significativa con el testigo (Cuadro 5).

El tratamiento T7 correspondiente a *T. pseudokoningii*, tuvo una mayor longitud, siendo este el mejor, demostrando de esta manera su capacidad para estimular el crecimiento de la planta, lo cual concuerda con Villegas (2005), que menciona que *Trichoderma* spp además de ser un antagonista de fitopatógenos del suelo favorece el crecimiento de la planta. El T2 fue el peor tratamiento para este parámetro.

Peso total de la planta

El análisis estadístico detectó diferencia altamente

Cuadro 5. Longitud de tallo de plantas de fríjol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah., México, 2007.

Tratamientos	Longitud Tallo
T7 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	76.81 A
T10 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	53.44 B
T9 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	50.92 BC
T11 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	49.42 BCD
T13 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	45.25 BCDE
T8 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	41.99 BCDE
T4 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	38.90 BCDE
T6 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	34.33 BCDE
T12 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	34.00 BCDE
T1 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	27.88 CDE
T14 (Testigo: <i>P. omnivorum</i> sin antagonista)	25.96 DE
T5 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	25.19 DE
T3 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	25.13 DE
T2 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	23.42 E

* Medias con la misma letra son iguales en DMS ($p < 0.05$)

Cuadro 6. Peso fresco total de las plantas a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah., México, 2007.

Tratamientos	Peso total
T12 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	40.10 A
T10 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	38.25 A
T9 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	37.70 A
T3 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	32.50 AB
T14 (Testigo: <i>P. omnivorum</i> sin antagonista)	31.97 AB
T1 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	31.95 AB
T2 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	29.90 AB
T5 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	29.55 ABC
T11 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	25.62 BCD
T13 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	25.05 BCD
T4 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	24.92 BCD
T8 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	22.60 BCD
T7 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	19.00 CD
T6 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	17.60 D

* Medias con la misma letra son iguales en DMS ($p < 0.05$)

significativa para el peso fresco de plantas en los tratamientos. Los tratamientos con mayor peso de planta fueron T9, T10, T12 aunque estos son los mejores no presentaron diferencia significativa con respecto al testigo. Todos los tratamientos son estadísticamente iguales al testigo, el T6 fue el que mostró menor peso (Cuadro 6).

Los resultados obtenidos demuestran que *Trichoderma* no solo estimula el crecimiento sino además la ganancia en peso. El porcentaje incrementado depende de la especie vegetal y del aislamiento de *Trichoderma*; ésto coincide con estudios preeliminares realizados por Agudelo *et al.* (2001) en 27 aislamientos de *Trichoderma* y cuatro de *Gliocladium* en estimulación de crecimiento sobre planta de frijón y pasto estrella.

Estado físico de esclerocios después de 30 días en medio infestado con *Trichoderma*

Los esclerocios que se extrajeron de las macetas fueron destruidos completamente en todos los tratamientos, excepto en el testigo, en el cual los esclerocios se encontraron en estado firme y germinados, los filamentos del hongo medían de 2 a 3 cm de longitud; esto concuerda con estudios realizados por Samaniego-Gaxiola *et al.* (1989) quienes reportan que *T. harzianum* y *T. pseudokoningii* lograron inhibir el 100% de crecimiento de micelio y viabilidad de esclerocios de *P. omnivorum*.

Conclusiones

Las especies identificadas fueron tres, *T. harzianum*, *T. koningii* y *T. pseudokoningii*. Las tres especies presentaron efecto antagónico marcado sobre *P. omnivorum*. El hongo antagónico del género *Trichoderma* es una alternativa en los métodos de control para dar un manejo integrado a la pudrición tejana y de ésta manera

reducir el uso de productos químicos contaminantes de suelo y medio ambiente.

Literatura Citada

- Agudelo, P., Orduz, S., Hoyos, I. 2001. Aislamientos de *Trichoderma* y *Gliocladium* estimulantes de la germinación y el crecimiento de frijón (*Phaseolus vulgaris*) en: Memorias XXII Congreso de la Sociedad Colombiana de Fitopatología. Medellín.
- Alippi, H. y Mónaco C. 1990. Antagonismo de hongos fitopatógenos y saprobios en suelos hortícolas. Rev. Argent. Microbiol. 22: 90-93.
- Bell, D., Wells, H. and Markman, C. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathol. 72: 379-382.
- Cook, J.R. and Baker, K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS Press. St. Paul, Minnesota. 539 p.
- Hernández, H. V. 2002. Manejo integrado de enfermedades en el cultivo del algodón. Memorias del IV curso regional de aprobación en el control de plagas del algodón. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Departamento de Parasitología. Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria. Dirección General de Sanidad Vegetal. Sistema Nacional de aprobación Fitosanitaria. Torreón, Coahuila, México.
- Hernández H., V. 1987. Effects of cultivar, seed quality, pathogen virulence, inoculum density, and to see depth on host resistance to the seed-seedling disease complex of cotton. A Dissertation Submitted to the Graduate College of Texas A&M University in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor

- of Physolophy. December 1987. 179 pp. College Station, Texas, U.S.A.
- Herrera, P. T. y Samaniego, G.J.A. 2002. Enfermedades del nogal. pp. 177-206. *In*: CELALA. 2002. Tecnología de producción en nogal pecanero. SAGADERPA. INIFAP. CIRNOC. CELALA. Matamoros, Coahuila, México. Noviembre de 2002.
- Lyda, S. D. and Kenerley, C.M. 1992. *Phymatotrichum* *In*: Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. APS press, St. Paul, Minnessota. pp 145-148.
- Samaniego-Gaxiola, J.A., Ulloa-Sosa, M. y Herrera-Pérez, T. 1989. Hongos del suelo antagónicos de *Phymatotrichum omnivorum*. Rev. Mex. de Fitopatol. 8: 86-95.
- Streets, R.B. and Bloss, H. E. 1973. *Phymatotrichum* root rot. Monograph No. 8. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. U.S.A. 38 p.
- Villegas, M. A. 2005. *Trichoderma Pers* características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Villavicencio, Colombia. <http://www.oriusbiotecnologia.com/tecnica/128-trichoderma-pers-caracteristicas-generales-y-su-potencial-biologico-en-la-agricultura-sostenible> (10 de Octubre de 2007).
-

La Introducción de Un Macho al Inicio de la Fase Luteal Modifica las Características de las Oleadas Foliculares en las Cabras Cíclicas

Juan Carlos López García, Ángel Mejía Vázquez, Santiago Ramírez Vera, Horacio Hernández Hernández, Gerardo Duarte Moreno, José Alberto Delgadillo Sánchez, José Alfredo Flores Cabrera*

Centro de Investigación en Reproducción Caprina, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe, C.P. 27054, Torreón, Coahuila, México. Tel. y Fax: 871 7 29 76 76. E-mail: flores_cabrera@hotmail.com (*Autor responsable).

Abstract

This assay was performed to determine if the introduction of a male at the beginning of the luteal phase modifies the characteristics of the follicular wave in cyclical goats. So, during the sexual season, 17 multiparous females were synchronized with two doses of a prostaglandin analog at an interval of 7 days. A group of females (Control; n=9) had no contact with any male during the assay. In the other group (G3; n=8) the introduction of the male was done at the beginning of the luteal phase (day 3 of the estrous cycle). The ovarian activity was monitored daily during a complete estrous cycle through transrectal ultrasonography. The number of follicular waves in all the females was registered, as well as the size and the position of the follicles bigger than 3 mm. In the control group, 11,1% (1/9) of the females registered 3 follicular waves, 77,8% (7/9) registered 4 waves and 11,1% (1/9) had 5 waves during an estrous cycle. In the G3 group, the 62,5% (5/8) registered 3 waves, and 37,5% (3/8) 4. The average duration of the follicular waves was longer in the females of the G3 than in the Control Group ($P < 0,05$). In the G3 group the follicles of wave 1 and 2 were bigger than those of the follicles 1 and 2 of the Control group ($P < 0,05$). It may be concluded that the introduction of the buck at the beginning of the luteal phase modifies the duration of the follicular waves, and the size of the follicles in the cyclical goats.

Key words: Goats, follicular development, estral cycle, follicle.

Resumen

Este estudio se realizó para determinar si la introducción de un macho al inicio de la fase luteal modifica las características de las oleadas foliculares en las cabras cíclicas. Para ello, durante la estación sexual, 17 hembras multíparas fueron sincronizadas con dos dosis de un análogo de prostaglandinas a intervalo de siete días. Un grupo de hembras (Control; n=9) no tuvo contacto con ningún macho durante el estudio. En el otro grupo (G3; n=8) la introducción del macho se realizó al inicio de la fase luteal (día 3 del ciclo estral). La actividad ovárica fue monitoreada diariamente durante un ciclo estral completo a través de ultrasonografía transrectal. Se registró el número de oleadas foliculares en todas las hembras, y el tamaño y la posición de los folículos mayores de 3 mm. En el grupo de Control, el 11,1 % (1/9) de las hembras registró tres oleadas foliculares, el 77,8 % (7/9) registró cuatro oleadas y el 11,1 % (1/9) tuvo cinco oleadas durante un ciclo estral. En el grupo G3, en el 62,5% (5/8) se registraron tres oleadas y en el 37,5 % (3/8) cuatro. La duración promedio de las oleadas foliculares fue mayor en las hembras del G3 que en el grupo de Control ($P < 0,05$). En el grupo G3 los folículos de la oleada 1 y 2 fueron mayores que los folículos de las oleadas 1 y 2 del Grupo de Control ($P < 0,05$). Se concluye que la introducción del macho al inicio de la fase luteal modifica la duración de las oleadas foliculares y el tamaño de los folículos en las cabras cíclicas.

Palabras Clave: Cabras, desarrollo folicular, ciclo estral, folículo.

Introducción

El ciclo estral es una secuencia de cambios endocrinos, anatómicos, y de comportamiento que suceden entre el inicio de un estro y el inicio del siguiente. En las cabras el

ciclo estral tiene una duración promedio de 21 días (Camp *et al.*, 1983) y en la oveja de 16 días (Evans *et al.*, 2000). Estos eventos están regulados por el hipotálamo, la hipófisis, el folículo ovárico, el cuerpo lúteo y el útero a través de

sus secreciones (Goodman, 1994). El uso de ultrasonografía transrectal ha permitido comprender más claramente el desarrollo folicular durante un ciclo estral (Ginther y Kot, 1994).

El crecimiento folicular ocurre en forma de oleadas de desarrollo (de Castro *et al.*, 1999) y esta caracterizado por el crecimiento de una cohorte de folículos, en donde uno o más de ellos continúa creciendo y se hace dominante, mientras que los demás sufren atresia (Evans, 2003). En las cabras, el número de oleadas foliculares que se presentan durante un ciclo estral de duración normal, varía de dos a cinco (Medan *et al.*, 2003), mientras que en ovejas este número varía de dos a cuatro (Evans, 2003). En cabras, la mayoría registran 4 oleadas foliculares (Medan *et al.*, 2003) y la emergencia de la primer oleada se registra en promedio al día - 0.6, mientras que las oleadas 2, 3 y 4 emergen a los 4.7, 9.4 y 13.4 días, respectivamente (Medan *et al.*, 2003).

En cabras y ovejas, las interacciones sociosexuales pueden modificar su fisiología reproductiva (Delgadillo *et al.*, 2006; Rosa y Bryant, 2002). Por ejemplo, la introducción de machos en un grupo de hembras anovulatorias logra inducir la actividad sexual de las mismas. Este fenómeno se conoce como efecto macho (Delgadillo *et al.*, 2004). La respuesta de las hembras expuestas a machos durante la el anestro esta bien documentada (Flores *et al.*, 2000; Rosa y Bryant, 2002; Ungefeld *et al.*, 2004), sin embargo, existen pocos estudios que describan la respuesta de las hembras a la introducción de un macho durante la estación reproductiva. Estudios en cabras (Chemineau, 1983) y ovejas cíclicas (Ngere y Dzakuma, 1975) indican una sincronización del estro en el 65 % de las hembras en los primeros tres días después de contacto y que esta sincronización es debido probablemente a un acortamiento del ciclo estral.

De igual modo, investigaciones recientes en antílopes, mostraron que la introducción de un macho durante la fase luteal del ciclo estral sincroniza la ovulación del 77.5 % de las hembras en el segundo ciclo estral (Skinner *et al.*, 2002).

Las anteriores investigaciones solo estuvieron basadas en perfiles hormonales de progesterona y conducta estral, y a la fecha, no existen estudios claros que indiquen cual es la respuesta de las cabras cíclicas expuestas a machos durante la estación sexual utilizando ultrasonografía para determinar el crecimiento folicular. Por ello, en este estudio, se investigó el efecto de la introducción del macho al inicio de la fase luteal (día 3) sobre las características de las oleadas foliculares de las cabras criollas cíclicas de la Comarca Lagunera.

Materiales y Métodos

Ubicación del estudio

Este estudio se realizó del 1 de septiembre al 4 de diciembre, periodo que corresponde a la estación sexual (Duarte, 2000; Delgadillo *et al.*, 2003) de 2005 en el Ejido Benito Juárez, sección 6, localizada en el kilómetro 3 de la carretera que entronca a la Cueva del Tabaco, del municipio de Matamoros, Coah., México. Dicha localidad esta enclavada en la Comarca Lagunera (26° N).

Animales experimentales

Se utilizaron un macho cabrío local de la Comarca Lagunera, de aproximadamente 4 años de edad, y 17 hembras multíparas cíclicas. Estas hembras se encontraban en un sistema de explotación extensivo, y consumían la flora nativa de los agostaderos de las 10:00 h a las 19:00 h. En la noche eran estabuladas en un corral abierto, y no recibían ningún complemento alimenticio. Las hembras se estabularon 10 días antes de iniciar el estudio (18 de septiembre), y a partir de ese momento fueron alimentadas con 1.5 kg de heno de alfalfa y 250 g de concentrado comercial (14 % de proteína cruda) por día y por animal. El agua y las sales minerales en bloque fueron proporcionadas a libre acceso.

La ciclicidad de los hembras se determinó mediante ultrasonografía transrectal utilizando para ello un Scanner modo-B (Aloka SSD 550, Tokio, Japón) equipado con un transductor lineal de 7.5 MHz. Se llevaron a cabo dos ecografías a intervalos de 8 días. El criterio para determinar si una hembra estaba cíclica, fue la presencia de al menos un cuerpo lúteo en los ovarios (de Castro *et al.*, 1999; Orita *et al.*, 2000; Simões *et al.*, 2005). Todas las hembras utilizadas en el estudio (n=17) fueron diagnosticadas como cíclicas. Las hembras se dividieron en dos grupos homogéneos, considerando la condición corporal y la producción láctea. Las hembras del grupo Control (n=9) tenían una condición corporal de 2.7 ± 0.07 (promedio \pm eem) y su producción láctea era de 789 ± 69.5 ml al inicio del estudio. El grupo expuesto al macho (G3; n=8) tenía una condición corporal de 2.7 ± 0.07 y una producción láctea promedio de 787 ± 92.1 ml.

Sincronización de la actividad sexual de las hembras

El ciclo estral de todas las hembras se sincronizó mediante la aplicación de dos dosis de 75 mg de un análogo sintético de prostaglandinas (Pgf2a, Cloprostenol, Prosolvin C, Intervet International GmbH Unterschleißheim, Alemania), a intervalos de 7 días (Menchaca *et al.*, 2004).

Introducción del macho

El 29 de octubre a las 11:00 h, en el grupo G3 (n=8), un

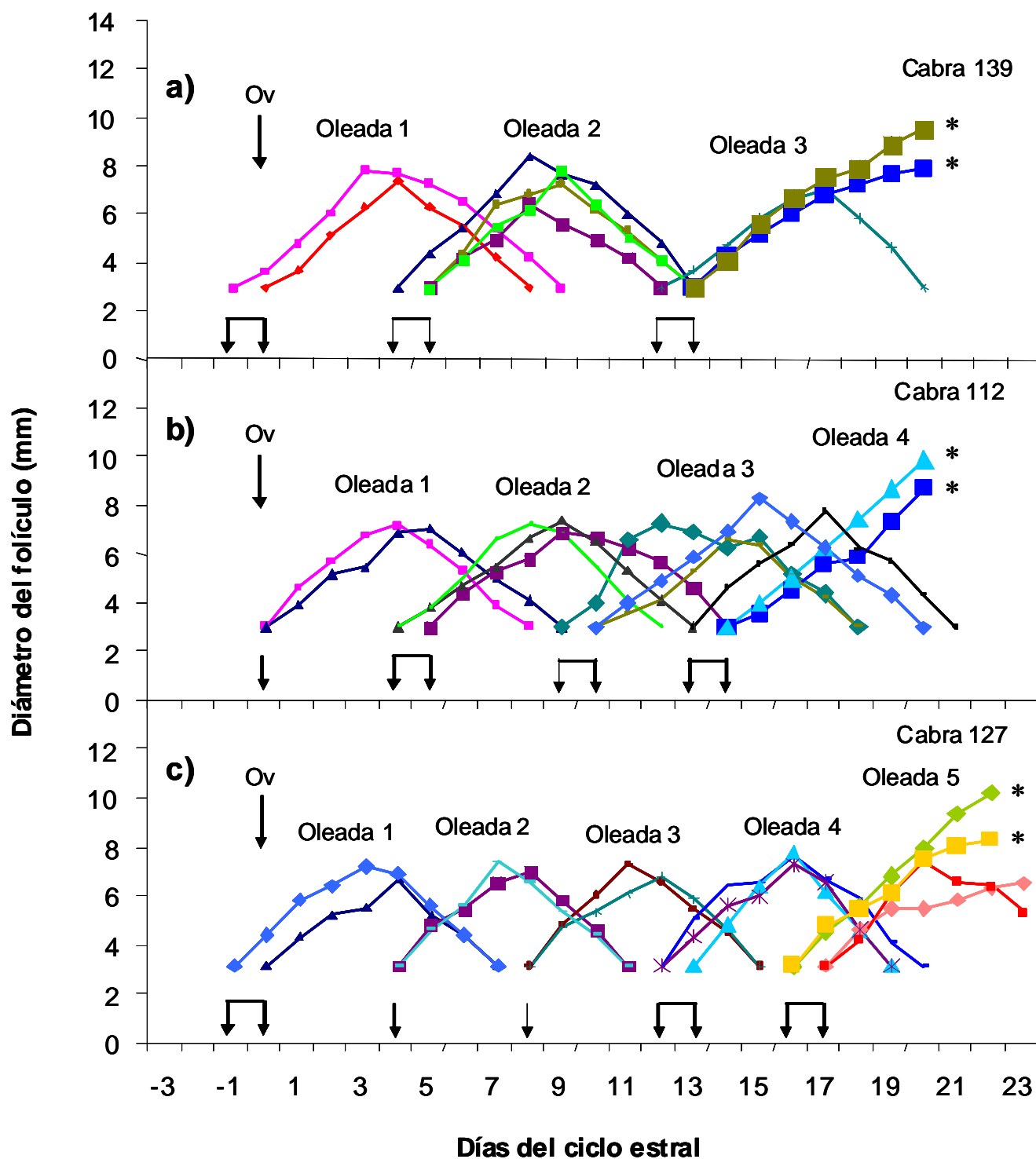


Figura 1. Patrón representativo de crecimiento y regresión de folículos durante un ciclo estral completo en 3 cabras del grupo de Control. Hembras con a) 3; b) 4; y c) 5 oleadas foliculares. Las flechas indican la emergencia de las oleadas, La flecha con Ov en la parte superior indica la ovulación. El asterisco indica folículo ovulatorio.

macho fue puesto en contacto con las hembras, previamente sincronizadas, para que se encontraran al inicio de la fase luteal (día 3), mientras que las hembras del grupo de Control (n=9) no tuvieron contacto con ningún macho durante el estudio

Variables determinadas y definición de términos
Duración del ciclo estral

Para la duración del ciclo estral, en los dos grupos, se consideraron los días desde la ovulación inducida por PgF2α; hasta la siguiente ovulación espontánea.

Desarrollo folicular

El desarrollo folicular se determinó mediante ultrasonografía transrectal, utilizando para ello un Scanner modo-B (Aloka SSD 550, Tokio, Japón) equipado con un transductor lineal de 7.5 MHz, según la técnica descrita por Ginther y Kot (1994) sin evacuar las heces. Para facilitar el manejo de las hembras, éstas se inmovilizaron mediante la utilización de una trampa de metal. Se registraron todos los folículos mayores de 3 mm y su ubicación dentro del ovario. En ambos grupos el registro de datos terminó un día después de la segunda ovulación.

Número de oleadas foliculares

Una oleada folicular se definió como el crecimiento de uno o más folículos antrales a partir de 3 y hasta 5 mm o más, antes de que ocurriera la regresión. Se consideró el número de oleadas por grupo.

Duración y día de emergencia de las oleadas

La duración de la oleada se consideró desde el día de la emergencia hasta su regresión a valores menores a 3 mm. El día de emergencia de una oleada folicular fue identificado como el primer día sobre el cual uno o más folículos fueron medidos con un diámetro de 3 mm.

Folículo de mayor tamaño de cada oleada

En esta variable se considero al folículo de mayor tamaño (> 5mm) de cada oleada y de cada hembra.

Análisis estadísticos

La duración promedio del ciclo estral fue sometido a una prueba *t* de Student para dos grupos independientes. Los valores promedio de las características de las oleadas foliculares, fueron analizados mediante una prueba *t* de Student independiente.

Resultados y Discusión

Duración del ciclo estral

En el grupo de Control, la duración del ciclo estral fue de 20.1 ± 0.4 días, mientras que en el G3 la duración fue de 20.0 ± 0.6 . No se encontró diferencia estadística significativa en la duración del ciclo estral entre los dos grupos ($P > 0.05$).

Desarrollo folicular

Número de oleadas foliculares

En las Figuras 1 y 2 se muestra el crecimiento folicular de los grupos Control y G3. En el grupo Control, el 11.1% (1/9) de las hembras se registraron 3 oleadas foliculares, la mayoría (77.8 %; 7/9) registraron 4 oleadas foliculares, y el 11.1 % (1/9) registró 5 oleadas. En el grupo G3, el 62 % (5/8) tuvieron 3 oleadas y el 37.5 % (3/5) tuvieron 4 oleadas.

Duración de las oleadas foliculares

La duración promedio (\pm EEM) de las oleadas del grupo de Control se muestra en el Cuadro 1. En las hembras que registraron cuatro oleadas, la duración promedio de dichas oleadas foliculares fue diferente ($P < 0.05$), siendo la oleada tres la más larga. En las hembras que registraron 3 oleadas no existió diferencia ($P > 0.05$) en la duración entre las oleadas, ni en la comparación con las de 4 oleadas ($P > 0.05$). Por otra parte, en las hembras con 5 oleadas, la duración de éstas es menor en relación con las de 3 y 4 ($P < 0.05$).

Cuadro 1. Duración y día de emergencia de las oleadas foliculares en cabras criollas cíclicas de la Comarca Lagunera de los grupos: a) grupo de Control; b) grupo G3.

	Oleada Folicular	
	Emergencia (día)	Duración en días
a) Grupo de Control		
Cabra con 3 oleadas		
Oleada 1	1.0 ± 0.5	10.0 ± 0.1^b
Oleada 2	4.8 ± 0.3	9.0 ± 0.4^a
Oleada 3	12.7 ± 0.3	
Cabra con 4 oleadas		
Oleada 1	0 ± 0.2	8.8 ± 0.5^a
Oleada 2	3.3 ± 0.2	9.6 ± 0.4^b
Oleada 3	8.4 ± 0.2	10.1 ± 0.3^b
Oleada 4	12.4 ± 0.3	
Cabra con 5 oleadas		
Oleada 1	-1.0 ± 0.5	8.5 ± 0.5^a
Oleada 2	4.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0^a
Oleada 3	8.0 ± 0.0	8.0 ± 0.0^a
Oleada 4	12.3 ± 0.3	8.0 ± 0.0^a
Oleada 5	16.5 ± 0.3	
b) Grupo G3		
Cabra con 3 oleadas		
Oleada 1	0.0 ± 0.4	13.1 ± 0.5^d
Oleada 2	6.9 ± 0.4	10.1 ± 0.5^b
Oleada 3	12.5 ± 0.3	
Cabra con 4 oleadas		
Oleada 1	-0.6 ± 0.4	12.3 ± 0.6^c
Oleada 2	4.1 ± 0.2	10.8 ± 0.5^b
Oleada 3	$9.3 \pm 0.$	9.6 ± 0.1^b
Oleada 4	14.2 ± 0.3	

En la comparación de las oleadas de los grupos Control y G3, el análisis reveló un efecto de la introducción del macho sobre la duración de la oleada ($P < 0.05$). La duración

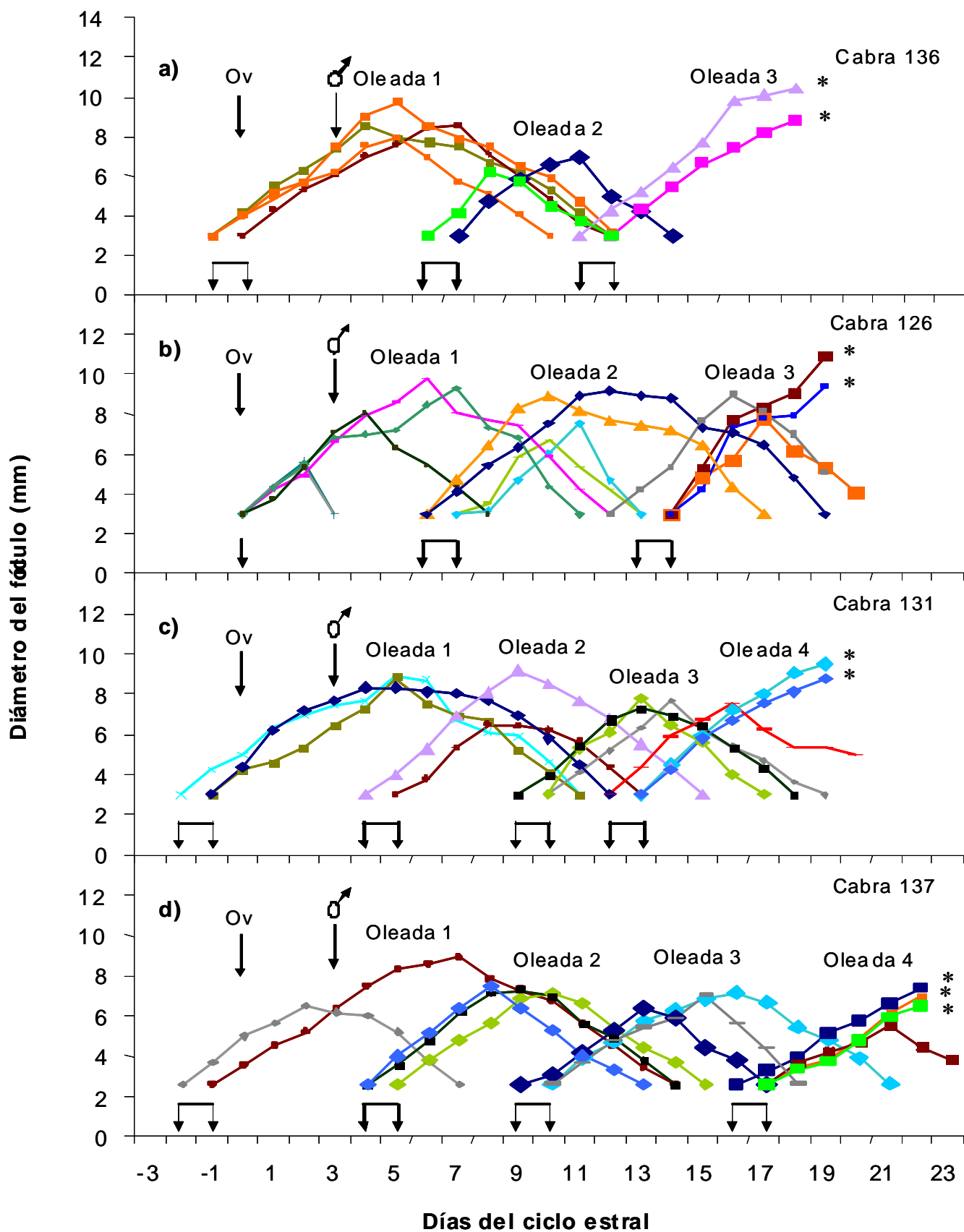


Figura 2. Patrón representativo de crecimiento y regresión de folículos en 4 cabras del grupo G3, durante un ciclo estral. Hembras con a) y b) 3; y c) y d) 4 oleadas foliculares. Las flechas indican la emergencia de las oleadas, La flecha con Ov en la parte superior indica la ovulación. El asterisco indica oleada ovulatoria.

de las oleadas fue diferente ($P < 0.05$), sin importar si presentaron 3 ó 4 oleadas siendo las oleadas 1 y 2 del grupo G3 las de mayor duración.

Folículo de mayor tamaño de cada oleada

En el grupo de Control el folículo de mayor tamaño correspondió al folículo ovulatorio, el cual registró un tamaño promedio de 8.2 ± 0.4 mm, y fue diferente ($P < 0.05$) al folículo de mayor tamaño de las oleadas precedentes. En el grupo G3 el folículo de mayor tamaño se presentó en la oleada 1, con un promedio de 8.9 ± 0.3 mm y, fue diferente ($P < 0.05$) al de las siguientes oleadas foliculares. En la comparación entre los dos grupos, el análisis estadístico reveló un efecto ($P < 0.05$) de la introducción del macho sobre el diámetro del folículo de mayor tamaño.

Los resultados del estudio demuestran que la introducción del macho, al inicio de la fase luteal, no tiene efecto sobre la duración del ciclo estral, sin embargo, modifica las características de las oleadas foliculares. En efecto, la duración del ciclo estral de las hembras de este estudio fue similar a la reportada para esta especie en otras latitudes (Camp *et al.*, 1983; Llewelyn *et al.*, 1993; Orita *et al.*, 2000; Medan *et al.*, 2003; Simões *et al.*, 2006), y varía de 21 a 23 días. Sin embargo, los resultados obtenidos en el estudio contrastan con lo reportado por Chemineau (1983), quien observó que, en las cabras criollas de la Isla de Guadalupe en el Caribe, el 65 % de las hembras cíclicas manifestaron actividad sexual en los 3 días siguientes después de la introducción de los machos. De igual modo, los resultados obtenidos contrastan con lo reportado por Skinner *et al.* (2002) en antílopes, en los cuales la introducción de un macho durante la fase luteal del ciclo estral provocó una sincronización en el 77.7 % (7/9) de las hembras, después de dos ciclos estrales consecutivos. Sin embargo, en el trabajo de Chemineau (1983) no se investigó el efecto del macho en las cabras de manera individual, ni tampoco se verificó el estado folicular de los ovarios de esas hembras en el periodo que precedió a la introducción de los machos. Es probable que, en ese estudio, la sincronización de las cabras se diera antes de la introducción de los machos. De igual modo, en el trabajo de Skinner *et al.* (2002), las observaciones se basaron únicamente en perfiles hormonales, y no realizaron un registro del crecimiento folicular que mostraron las hembras antes y después de la introducción del macho. Por el contrario, en este estudio, el ciclo estral de las hembras fue sincronizado mediante la aplicación de dos dosis de prostaglandinas, y se investigó a las hembras, individual y diariamente, a través de una ecografía transrectal, por lo cual se conocía el estado folicular de los ovarios antes y después de la introducción del macho. De esta manera, se pudo constatar que, al menos durante

un ciclo estral completo, la introducción del macho no modificó la duración del ciclo estral. Lo anterior se debió probablemente a tres factores no excluyentes entre sí; Primero, es probable que el efecto de la introducción de un macho en un grupo de hembras cíclicas se registre a largo plazo, es decir después de 2 o 3 ciclos estrales como lo sugiere Skinner *et al.* 2000. En efecto, en este estudio las observaciones se realizaron únicamente durante un ciclo estral y cuando las hembras manifestaron estro nuevamente fueron servidas y quedaron gestantes. Segundo, que el estímulo otorgado por un macho en cabras cíclicas no sea tan fuerte para provocar un efecto en la fisiología reproductiva de las hembras como el que se registra en las hembras anovulatorias durante el periodo del anestro, cuando está demostrado que la introducción de un macho estimula el crecimiento folicular y la ovulación a los pocos días después del contacto (Flores *et al.*, 2000; Delgadillo *et al.*, 2006). Tercero, el hecho de que la actividad sexual de las hembras, en los dos grupos, fue sincronizada con prostaglandinas pudo influir en su respuesta, es probable que si dichas cabras estuvieran en diferentes fases del ciclo estral dentro de un mismo grupo al momento de la introducción del macho, se hubiese registrado un efecto más evidente.

Por otro lado, en nuestro estudio la introducción del macho al día 3 del ciclo estral, indujo un crecimiento mayor de los folículos, y una mayor duración de la oleada presente al momento de la introducción. En efecto, el folículo de mayor tamaño correspondió al de la oleada en desarrollo al momento de la introducción del macho. Este resultado es contrario al obtenido en el grupo de Control del presente estudio, y al reportado en otras investigaciones, en las que el folículo ovulatorio es el de mayor tamaño (Ginter y Kot, 1994; De Castro *et al.*, 1999; Medan *et al.*, 2003; Simões *et al.*, 2006). Otra diferencia entre este estudio, y los mencionados anteriormente, es el intervalo entre oleadas, siendo mucho mayor en las cabras en contacto con el macho. Una posible explicación es que el incremento en los niveles de LH hallan facilitado la dominancia folicular y que esta dominancia haya retrasado el recambio de los folículos (Fortune *et al.*, 2001) y que a falta de las condiciones ideales (niveles de progesterona) no haya ovulado y que al final sufrieran de apoptosis (Yu *et al.*, 2005).

En lo relacionado al número de oleadas foliculares de los grupos de Control y G3, los resultados aquí obtenidos coinciden con lo reportado en cabras por otros autores (Ginther y Kot, 1994; de Castro *et al.*, 1999; Medan *et al.*, 2003; Simões *et al.*, 2006) en donde el número de oleadas foliculares durante un ciclo estral varía de 2 a 5. Sin embargo, en este estudio el 77.8 % de las hembras del grupo de Control presentaron 4 oleadas mientras que la

mayoría (62.5 %), de las hembras del G3 manifestaron 5. Esta diferencia en el número de las oleadas puede ser explicada por un mecanismo de dominancia folicular que se presenta en las cabras y que es más evidente en las oleadas 1 y 4 (Ginther y Kot, 1994). En efecto, en las hembras del grupo G3 la duración de la oleada 1 fue mayor a la registrada en el grupo de Control. Esta mayor duración podría ser atribuida a que la introducción del macho haya facilitado la dominancia folicular de uno o más folículos de esa oleada, y que ésta dominancia, aparentemente, retardó el desarrollo de nuevos folículos y, por ende, de la oleada siguiente (Ginther y Kot, 1994).

Conclusión

Estos resultados permiten concluir que, la introducción de un macho en un grupo de hembras cíclicas, al inicio de la fase luteal, modifica las características de las oleadas foliculares, sin embargo, no influye en la duración del ciclo estral.

Agradecimientos

Se agradece al Ing, Jesús E. Medina Cervantes por facilitar las hembras para el estudio, al Sr. Armando López Castruita por el cuidado de los animales, al CONACyT por la beca otorgada a J. C. López durante sus estudios de maestría, y a todos los miembros del CIRCA por su asistencia técnica.

Literatura Citada

Camp, J.C., Wildt, D.E., Howard, P.K., Stuart, L.D., Chakraborty, P.K. 1983. Ovarian activity during normal and abnormal length estrous cycles in the goat. *Biol. Reprod.* 28:673-681.

Chemineau, P. 1983. Effects on oestrus and ovulation of exposing Creole goats to the male at three times of the year. *J. Reprod. Fertil.* 67:65-72.

De Castro, T., Rubianes, E., Menchaca, A., Rivero, A. 1999. Ovarian dynamics, serum estradiol and progesterone concentrations during the interovulatory interval in goats. *Theriogenol.* 52:399-411.

Delgadillo, J.A., Flores, J.A., Veliz, F.G., Duarte, G., Vielma, J., Poindron, P., Malpoux, B. 2003. Control de la reproducción de los caprinos del subtrópico mexicano utilizando tratamientos fotoperiódicos y efecto macho. *Vet. Mex.* 34:69-79.

Delgadillo, J.A., Fitz-Rodríguez, G., Duarte, G., Veliz, F.G., Carrillo, E., Flores, J.A., Vielma, J., Hernández, H.F., Malpoux, B. 2004. Management of photoperiod to control caprine reproduction in the subtropics. *Reprod. Fertil. Dev.* 16:1-8.

Delgadillo, J.A., Flores, J.A., Veliz, G., Duarte, G., Vielma, J., Hernández, H., Fernández, I.G. 2006. Importance

of the signals provided by the buck for the success of the male effect in goats. *Reprod. Nutri. Dev.*

Duarte, G. 2000. Estacionalidad reproductiva y efecto del fotoperiodo sobre la actividad ovulatoria de las hembras caprinas de la Comarca Lagunera (tesis de Doctorado). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM. México DF. pp 35.

Evans, A.C.O., Duffy, P., Hynes, N., Boland, M.P. 2000. Waves of follicle development during the estrous cycle in sheep. *Theriogenology.* 53:699-715.

Evans, A.C.O. 2003. Characteristic of ovarian follicle development in domestic animals. *Reprod. Dom. Anim.* 38:240-246.

Flores, J.A., Veliz, F.G., Pérez-Villanueva, J.A., Martínez de la Escalera, G., Chemineau, P., Poindron, P., Malpoux, B., Delgadillo, J.A. 2000. Male reproductive condition is the limiting factor of efficiency in the male effect during seasonal anestrus in female goats. *Biol. Reprod.* 62:1409-1414.

Fortune, J.E., Rivera, G.M., Evans, A.C.O., Turzillo, A.M. 2001. Differentiation of dominant versus subordinate follicles in cattle. *Biol. Reprod.* 65:648-654.

Ginther, O.J., Kot, K. 1994. Follicular dynamics during the ovulatory season in goats. *Theriogenol.* 42:987-1001.

Goodman, R.L. 1994. Neuroendocrine control of the ovine estrous cycle. En *Physiology of reproduction*. Knobil, E., Neil, J.D. (eds). Segunda edición. Raven Press, Ltd. New York, USA.

Llewellyn, C.A., Oгаа, J.S., Obwolo, M.J. 1993. Plasma progesterone profiles and variation in cyclic ovarian activity throughout the year in indigenous goats in Zimbabwe. *Anim. Reprod. Sci.* 30:301-311.

Medan, M.S., Watabe, B., Sasaki, K., Sharawy, S., Groome, N.P., Taya, K. 2003. Ovarian dynamics and their association with peripheral concentration of gonadotropins, ovarian steroids, and inhibin during the estrous cycle in goats. *Biol. Reprod.* 69:57-63.

Menchaca, A., Miller, V., Gil, J., Pinczak, A., Laca, M., Rubianes, E. 2004. Prostaglandin F2a treatment associated with timed artificial insemination in ewes. *Reprod. Dom. Anim.* 39:1-4.

Ngere, L.O., Dzakuma, J.M. 1975. The effect of sudden introduction of rams on oestrus pattern of tropical ewes. *J. Agric. Sci. Camb.* 84:263-264.

Orita, J., Tanaka, T., Kamomae, H., Kaneda, Y. 2000. Ultrasonographic observation of follicular and luteal dynamics during the estrous cycle in Shiba goats. *J. Reprod. Dev.* 46:31-37.

Rosa, H.J.D., Bryant, M. J. 2002. The "ram effect" as a way of modifying the reproductive activity in the ewe:

- a review. *Small. Rumin. Res.* 45:1-16.
- Simões, J., Almeida, J.C., Valentim, R., Baril., Azevedo, J., Fontes, P., Mascarenhas, R. 2006. Follicular dynamics in Serrana goats. *Anim. Reprod. Sci.* 95:16-26.
- Skinner, D.C. Cillier, S.D. Skinner, J.D. 2002. Effect of ram introduction on the oestrous cycle of springbok ewes (*Antidorcas marsupialis*). *Reproduction.* 124:509-513.
- Ungerfeld, R., Forsberg, M., Rubianes, E. 2004. Overview of the response of anoestrous ewes to the ram effect. *Reprod. Fertil. Dev.* 16:479-490.
- Yu, Y.S., Luo, M.J., Han, Z.B., Li, W., Sui, H.S., Tan, J.H. 2005. Serum and follicular fluid steroid levels as related to follicular development and granulosa cell apoptosis during the estrous cycle of goats. *Small. Rumin. Res.* 57:57-65.
-

Tasas de Concepción en Respuesta a Dosis Reducidas de Somatotropina en Vacas Holstein, Durante la Sincronización del Estro

Francisco García Sandoval³, Ramón Hernández Salgado¹, Joel Hernández Cerón², Carlos Elizondo Vázquez³, Ilda Graciela Fernández García^{3*}

¹Departamento de Producción Animal, Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas, Carretera Gómez Palacio-Cd. Juárez, Bermejillo, Durango. ²Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, AP 04510. Ciudad de México, D.F. ³Departamento de Ciencias Médico Veterinarias, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Laguna. Periférico Raúl López Sánchez y Carretera a Santa Fe, C.P. 27054, Torreón, Coahuila, México. Tel. y Fax: 871 7 29 76 10. E-mail: ilda_fernandez_garcia@yahoo.com.mx (*Autor responsable).

Abstract

The objective of this research was to determine the effect on the conception rates of Holstein cows, when served 2 reduced doses of recombinant bovine somatotropin (STbr) (250 mgs, each, sc) in day 56 postpartum, and at the artificial insemination time. The experiment took place in a stable of the Comarca Lagunera, Mexico, from August 2004 to April 2005. A group of multíparas cows (n=264) of first service were used with a number 3 corporal condition. All of them were put under a prostaglandin F2á (days 28 and 42 PP) and GnRH (day 56 PP) estro synchronization protocol. They were divided in two groups; Witness Group (GTES, n=156) with cows to which a placebo was administered; and STbr Group (GSTbr, n=108), with cows to which one first dose of 250 mgs of STbr in postpartal day 56 was injected. The second 250 mgs to STbr dose was applied at the artificial insemination time (67 ± 2 days postpartum). Blood samples in 10 cows of each group, were taken every two days, during 12 days. The concentrations of IGF-I by means of a inmunoradiométrico test were determined. The gestation diagnosis was performed by rectal palpation at 45 ± 3 days post-insemination. The conception rates between groups were compared by means of logistic concentration and regression analysis of IGF-I. A completely randomized experimental design with repeated measurements was applied. The conception rates in the group of cows under STbr treatment ($65,77 \pm 4,57\%$) were higher ($P<0.05$) that those in the witness group ($56,49 \pm 3,97\%$). The IGF-I concentrations were higher ($P<0.05$) in GSTbr than in GTES in 58 and 66 days postpartum. The results of this study allow to conclude that with the administration of 2 reduced doses of STbr, in postpartal day 56, and at the time of the artificial insemination, the rates of conception of Holstein cows of first service were increased.

Key words: STbr, conception rates, Holstein cows, fertility, IGF-I, oestrus synchronization.

Resumen

El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto sobre las tasas de concepción en vacas Holstein, al administrarles 2 dosis reducidas de somatotropina bovina recombinante (STbr) (250 mg, cada una, sc) en el día 56 posparto, y al momento de la inseminación artificial. El experimento se realizó en un establo de la Comarca Lagunera, México, de agosto de 2004 a abril de 2005. Se utilizaron vacas multíparas de primer servicio (n=264), con condición corporal de 3. Todas fueron sometidas al protocolo de sincronización del estro con prostaglandina F2á (días 28 y 42 PP) y GnRH (día 56 PP). Fueron divididas en dos grupos; Grupo Testigo (GTES, n=156) con vacas a las que se les administró un placebo; y Grupo STbr (GSTbr, n=108), con vacas a las que se les inyectó una primera dosis de 250 mg de STbr en el día 56 postparto. La segunda dosis de 250 mg a STbr se aplicó al momento de la inseminación artificial (67 ± 2 días postparto). Se tomaron muestras de sangre en 10 vacas de cada grupo, cada dos días, durante 12 días. Se determinaron las concentraciones de IGF-I mediante un ensayo inmunoradiométrico. El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal a los 45 ± 3 días postinseminación. Las tasas de concepción se compararon, entre grupos, mediante análisis de regresión logística y las concentraciones de IGF-I. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con mediciones repetidas.

Las tasas de concepción fueron más elevadas ($P < 0.05$) en el grupo de vacas tratadas con STbr (65.77 ± 4.57 %) que en las del grupo testigo (56.49 ± 3.97 %). Las concentraciones de IGF-I fueron más altas ($P < 0.05$) en GSTbr que en GTES en los días 58 y 66 postparto. Los resultados de este estudio permiten concluir que en la administración de 2 dosis reducidas de STbr, en el día 56 postparto, y al momento de la inseminación artificial, se incrementaron las tasas de concepción de vacas Holstein de primer servicio.

Palabras clave: STbr, tasas de concepción, vacas Holstein, fertilidad, IGF-I, sincronización de estros

Introducción

En las vacas lecheras una proporción elevada de los embriones mueren en los siguientes días después de la fertilización (Wilmot *et al.*, 1989). En las vacas repetidoras, la administración de somatotropina bovina recombinante (STbr), al momento de la inseminación, tiene un efecto favorable en las tasas de concepción (Morales-Roura *et al.*, 2001). Asimismo, en estudios con vacas bajo protocolos de sincronización de la ovulación, e inseminadas a tiempo fijo, la administración de STbr eleva las tasas de preñez (Moreira *et al.*, 2000; Moreira *et al.*, 2001).

La administración de STbr induce un incremento en las concentraciones séricas y uterinas del factor de crecimiento insulinosímil tipo I (IGF-I) y esta hormona favorece el desarrollo embrionario temprano (Palma *et al.*, 1997; Rieger *et al.*, 1998). Además, el IGF-I actúa como un factor de sobrevivencia embrionaria, ya que disminuye el daño provocado por factores embriotóxicos (Jousan y Hansen, 2004). Por otra parte, el IGF-I puede favorecer la sobrevivencia embrionaria a través del efecto que tiene en el desarrollo del folículo ovulatorio, y en la maduración del ovocito (Hernández y Díaz, 2003).

La dosis de STbr que se ha utilizado para incrementar la producción de leche es de 500 mg (Bauman *et al.*, 1999, Gulay *et al.*, 2003). Dado que el tratamiento con fines reproductivos no busca un incremento en la producción de leche, cabe la posibilidad de utilizar dosis menores, aplicadas en las fases fisiológicas más importantes, tales como la maduración del folículo ovulatorio, y en el desarrollo embrionario temprano. Además, un tratamiento con 500 mg de STbr alrededor del día 60 puede tener un efecto negativo sobre las tasas de concepción, ya que tiene un efecto rápido en la producción de leche, el cual se acompaña de un incremento lento en el consumo de materia seca (Kirby *et al.*, 1997; Bilby *et al.*, 1999); de esta forma la vaca puede caer en un balance energético negativo aún mayor.

En este estudio se planteó la hipótesis de que dos administraciones de 250 mg de STbr, la primera en el día

56 postparto, y la segunda al momento de la inseminación artificial (IA), incrementan las tasas de concepción en vacas Holstein. El objetivo de esta investigación fue determinar el efecto sobre las tasas de concepción al administrar dos dosis reducidas de STbr (250 mg, cada una, sc) en el día 56 posparto y al momento de la inseminación artificial en vacas Holstein.

Materiales y Métodos

Animales y condiciones de mantenimiento

El experimento se realizó en un establo de la Comarca Lagunera de Coahuila (26° LN) que cuenta con 3,986 vacas. El experimento se llevó a cabo de agosto de 2004 a abril de 2005. Se utilizaron vacas Holstein multíparas ($n = 264$) de primer servicio, con una condición corporal de 3 en la escala de 1 a 5 (1 emaciada a 5 obesa; Ferguson *et al.*, 1994). Las vacas estuvieron en régimen de dos ordeños, con un promedio de producción de leche de 32 litros/día y recibieron una dieta integral de acuerdo a los requerimientos del NRC.

Sincronización del estro

Todas las vacas fueron sometidas al protocolo de sincronización del estro recibiendo en el día 28 y 42 postparto una dosis de PGF 2α (Prosolvin C Intervet, 375 mg vía i.m.) y en el día 56 las vacas recibieron una dosis única de GnRH (Fertagyl, Intervet, 100 μ g por vía i.m.).

El grupo testigo (GTES $n = 156$), fue inyectado con 1.0 ml de solución salina fisiológica como placebo. El grupo STbr (GSTbr $n = 108$) recibió una primera dosis de 250 mg de STbr vía subcutánea en el día 56 posparto y la segunda dosis de 250 mg de STbr se aplicó al momento de la inseminación artificial (67 ± 2 días postparto).

Diagnóstico de gestación

El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal a los 45 ± 3 días postinseminación.

Muestras sanguíneas

Se recolectaron 170 muestras de sangre de 10 vacas de cada grupo, obtenidas cada 2 días, durante 12 d, utilizando tubos al vacío con EDTA. El plasma se obtuvo mediante centrifugación a 1500 g durante 30 min y se conservó a -20° C hasta su análisis. Se determinaron las concentraciones de IGF-I mediante un ensayo inmunoradiométrico (IRMA) descrita por Miles *et al.* (1974) con un coeficiente de variación intraensayo de 3.7 %.

Análisis estadístico

En este trabajo se definió la tasa de concepción como la proporción de hembras que quedaron gestantes de aquellas que mostraron signos de estro y que fueron

Cuadro 1. Tasas de concepción en vacas Holstein con dos dosis reducidas de STbr, GSTbr(*) en el día 56 postparto y al momento de la inseminación artificial, el GTES no recibió STbr(*).

Grupos	n	Gestantes/vacías	Tasas de concepción % (± Error estándar)
GTES	154	87/67	56.49 (± 3.97)*
GSTbr	108	71/37	65.77 (± 4.57)*

*P<0.05 (chi-cuadrada de Wald = 3.017)

inseminadas durante el periodo de sincronización (Patterson *et al.*, 2003), esas tasas se compararon entre los dos grupos mediante un análisis de regresión logística (PROC LOGISTIC de SAS, 1996) y las concentraciones de IGF-I se evaluaron con un diseño experimental completamente al azar con mediciones repetidas en el tiempo empleando el PROC GLM (SAS, 1996).

Resultados y Discusión

En este estudio se encontró que las tasas de concepción fueron más elevadas (P<0.05) en el grupo de las vacas tratadas con STbr (Cuadro 1).

Como se puede observar en la Figura 1 la administración de la primera dosis reducida de STbr se manifestó con elevación de las concentraciones de IGF-I en el día 58 postparto (P<0.01) también se encontraron diferencias

(P<0.05) en el día 62 postparto para GSTbr y las concentraciones se mantuvieron sin elevaciones en el GTES.

Se han reportado efectos negativos, relacionados con la dosis de la STbr, en vacas, con el tiempo de inicio del tratamiento, con el desempeño reproductivo, con factores nutricionales y con la producción de leche. Asimismo, se ha señalado que la STbr afecta la fertilidad de las vacas lactantes reduciendo la expresión del estro e incrementando la frecuencia de ovulaciones no detectadas (Kirby *et al.*, 1997). Otros autores han encontrado, también, que, con la administración de 500 mg de STbr, disminuyeron las tasas de preñez (Bilby *et al.*, 2004). Sin embargo, Izadyar *et al.* (1996) reportan que, con la adición de STbr a las células del *cumulus* en ovocitos cultivados *in vitro*, se acelera la maduración del núcleo y del citoplasma, que resulta en

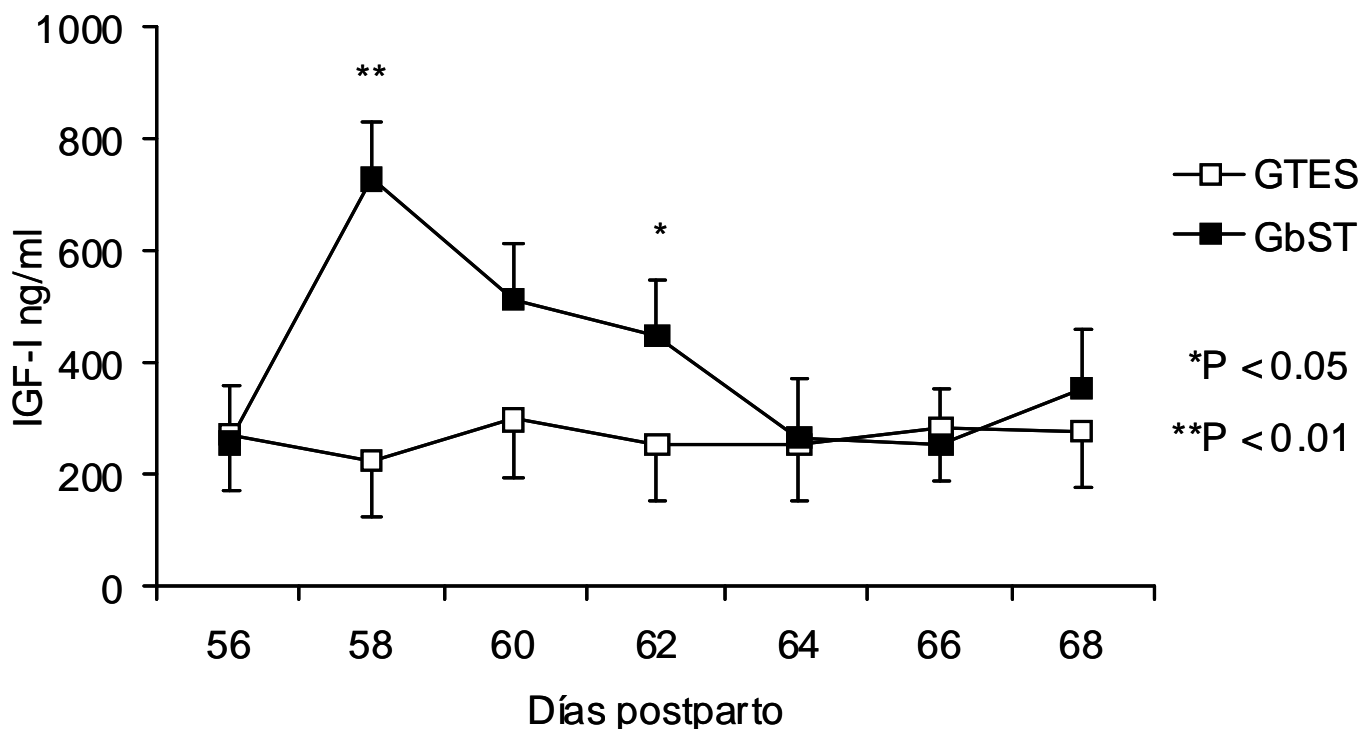


Figura 1. Niveles plasmáticos de IGF-I de las vacas que se muestrearon durante los días 56 al 68 postparto, GTES (□) y GSTbr (■).

aumentos subsecuentes en el desarrollo embrionario y que ese efecto pudiera ocurrir también *in vivo* debido a que las concentraciones de IGF-I en el líquido folicular se elevan después de la administración de STbr, por lo que sería válido suponer que la hormona del crecimiento puede afectar directamente al folículo preovulatorio, así como la maduración del ovocito y- de esa manera- mejorar la fertilidad. Otro argumento es que la STbr afecta localmente la producción de IGF-I, regulando mediante mecanismos autocrinos o paracinos las células de la granulosa, por lo que el IGF-I liberado del hígado después de la aplicación con STbr, estimula el funcionamiento ovárico (Peel y Bauman, 1987). En lo que se refiere a la dinámica folicular en respuesta a la STbr y a la lactación, así como su contribución en los cambios del comportamiento reproductivo asociados a un incremento en la producción de leche, algunos autores indican que se debe a que la STbr restaura la concentración de IGF-I, que previamente había sido reducida por el balance energético negativo y la lactación (Badinga *et al.*, 1992). El efecto de la STbr sobre la fertilidad en vacas lactantes se ha demostrado por la respuesta positiva de la hormona de crecimiento y el IGF-I sobre la fertilización y el desarrollo embrionario (Moreira *et al.*, 2002). En el ganado bovino de carne una deficiencia en los receptores de la hormona de crecimiento se ha manifestado con una reducción del nivel plasmático de IGF-I, afectando al folículo, y al desarrollo del cuerpo lúteo, y en consecuencia, las concentraciones plasmáticas de progesterona (Hull y Harvey, 2001).

Después de la fertilización, el desarrollo embrionario puede estar influido por la STbr y por el IGF-I, ya que se han sido identificados receptores para estas sustancias en diferentes etapas del desarrollo embrionario (Palma *et al.*, 1997). Es posible que, después de la administración de la STbr, el desarrollo embrionario sea modulado en el útero y en el oviducto, ya que se han encontrado sus receptores en esos epitelios. El IGF-I y otros factores de crecimiento han sido implicados en la secreción de la fosfolipasa A₂ y de la enzima ciclooxigenasa-2 que regulan la síntesis de PG (Berebaum *et al.*, 1994). Además la hormona de crecimiento en cultivos celulares del endometrio inhibe la expresión de ciclooxigenasa-2 y la secreción de PG (Badinga *et al.*, 2000), por lo que, la aplicación de STbr puede atenuar la producción de PG por el endometrio uterino, durante el reconocimiento materno incrementando la sobrevivencia del embrión (Moreira *et al.*, 2001).

Existen reportes que indican que las vacas lecheras a las que se les administró STbr en dosis reducidas presentaron tasas de concepción y de preñez más elevadas (Stanisiewski *et al.*, 1992). Por eso, en este trabajo, se pensó que, con dosis reducidas de STbr, se puede evitar

que esta hormona tenga un efecto rápido en la producción de leche que se acompaña de un incremento lento en el consumo de materia seca, por lo que la vaca puede caer en un balance energético negativo mayor al que se presenta normalmente durante los dos primeros meses de la lactación y, de esa manera, tener tasas de concepción más altas (Kirby *et al.*, 1997; Bilby *et al.*, 1999).

La hipótesis de este estudio fue que dos administraciones de 250 mg de STbr, la primera en el día 56 posparto, y la segunda al momento de la inseminación, pueden resultar en una elevación de las tasas de concepción en vacas Holstein. Efectivamente, en esta investigación las tasas de concepción en GSTbr fueron más elevadas, lo que está en concordancia con los reportes de Moreira *et al.* (2000, 2001); Hernández y Díaz (2003) y Santos *et al.* (2004), posiblemente porque la somatotropina a dosis reducidas incrementó las concentraciones plasmáticas de IGF-I, tal como indican Gulay *et al.* (2003), con lo que se pudo favorecer la selección y dominancia del folículo. Otros autores reportan que, con la aplicación de STbr a vacas sometidas a programas de inseminación a tiempo fijo, o a vacas detectadas en estro, se incrementan las tasas de preñez porque hay mayor desarrollo embrionario y sobrevivencia ya que la presencia del *conceptus* altera la expresión endometrial de genes y proteínas, así como de sustancias conocidas como nutracéuticas, que son ácidos grasos insaturados, especialmente los ácidos eicosapentaenoico y docosahexaenoico en lípidos de paso (Thatcher *et al.*, 2006).

En nuestro estudio (Figura 1) una posible explicación del incremento en las tasas de concepción, se debió muy probablemente a que se incrementó el desarrollo embrionario temprano postinseminación, dando como resultado que se desarrollaran más embriones y éstos tuvieron la capacidad de secretar más interferón-t (Mann y Lamming, 2001) bloqueando la cascada luteolítica (Binelli *et al.*, 2001). Es interesante que los resultados de este trabajo se debieron probablemente a la combinación en el programa de sincronización del estro, la GnRH y las PGF_{2α}, que culminaron con el aumento en las tasas de concepción. De igual manera los resultados concuerdan con Santos *et al.* (2004) quienes indican que las vacas inseminadas a estro detectado experimentan menos pérdidas embrionarias.

En lo que se refiere a las dosis de STbr, Kirby *et al.* (1997) argumentan que al aplicar 500 mg de STbr cada 14 d se reduce la observación visual del estro en las vacas lecheras lactantes, mientras que Morbeck *et al.* (1991) encontraron que al aplicar 16.5 mg de STbr/d iniciando en la quinta semana postparto, se extiende el intervalo del parto al primer estro observado postparto e inseminación.

En este estudio con las dos aplicaciones de 250 mg de STbr, se redujeron los días en la presentación de estro, por lo que probablemente la STbr afectó los centros de la conducta del cerebro que controlan la expresión del estro, lo que está en concordancia con Santos *et al.* (2004).

Conclusiones

Se encontró un efecto positivo de la STbr en el protocolo de sincronización del estro, ya que los resultados de este trabajo indican que la administración de dos dosis de 250 mg de STbr, en el día 56 y al momento de la IA, incrementa las tasas de concepción de vacas Holstein de primer servicio.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Ing. Carlos Valdés Berlanga, propietario del establo El Compás, por las facilidades otorgadas para llevar a cabo el experimento.

Literatura Citada

- Badinga, L, A Guzeloglu, M. Binelli y W. Thatcher. 2000. Bovine somatotropin attenuates phorbol ester-induced PGF_{2a} release in bovine endometrial cells. *Biol. Reprod.* 62: 150.
- Badinga, L., M. A. Driancourt, J. D. Savio, D. Wolfenson, M. Drost, R. L. De La Sota, y W.W.Thatcher. 1992. Endocrine and ovarian responses associated with the first-wave dominant follicle in cattle. *Biol. Reprod.* 47: 871.**
- Bauman, D.E. 1999. Bovine somatotropin and lactation: From basic science to commercial application. *Domest. Anim. Endocrinol.* 17 (2-3):101-116.
- Berebaum, F, G Thomas, S. Poiraudau, G. Bereziat, M. T. Corvol y J. Masliah. 1994. Insulin-like growth factors counteract the effect of interleukin 1 β on type II phospholipase A₂ expression and arachidonic acid release by rabbit articular chondrocytes. *FEBS Lett.* 340: 51-55.
- Bilby, C.R, J. F.Bader, B.E. Salfen, R. S. Youngquist, C. N. Murphy, H.A.Garverick, B.A. Crooker y M. C. Lucy. 1999. Plasma GH, IGF-I and conception rate in cattle treated with low doses of recombinant bovine GH. *Theriogenol.* 51:1285-1296.
- Bilby, T.R., A. Guzeloglu, S. Kamimura, S.M. Pancarci, F. Michel, H. H. Head y W.W. Thatcher. 2004. Pregnancy and bovine somatotropin in nonlactating dairy cows: I. Ovarian, conceptus, and insulin-like growth factor system responses. *J. Dairy Sci.* 87 (10):3256-3267.
- Binelli, M., P. Subramaniam, T. Diaz, G. A. Johnson, T. R. Hansen, L. Badinga, y W. W. Thatcher. 2001. Bovine interferon- τ stimulates the Janus kinase-signal transducer and activator of transcription pathway in bovine endometrial epithelial cells. *Biol. Reprod.* 64: 654.
- Ferguson, D.J., D. T. Galligan y N. Thomsen. 1994. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 77:2695-2703.
- Gulay, M.S., M.J. Hayen, L.C.Teixeira, C.J. Wilcox y H. H. Head. 2003. Responses of Holstein cows to a low dose of somatotropin (STbr) prepartum and postpartum. *J. Dairy Sci.* 86:3195-3205.
- Hernández, C. J. y B. R. Díaz. 2003. La somatotropina bovina como una herramienta para incrementar la fertilidad en la vaca lechera. pp:123-134. *In: II Simposio Nacional de infertilidad en la vaca lechera y III Congreso Internacional de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Bovinos de la Comarca Lagunera. Torreón Coah., México.*
- Hull, K. L. y S. Harvey. 2001. Growth hormone: roles in female reproduction. *J Endocrinol.* 168 (1):1-23.
- Izadyar, F. B. Colenbrander y M.M. Brevers.1996. In vitro maturation of bovine oocytes in the presence of growth hormone accelerates nuclear maturation and promotes subsequent embryonic development. *Mol. Reprod. Dev.* 45:372--377.
- Jousan, F.D. y P. J. Hansen. 2004. Insulin-like growth factor-1 as a survival factor for the bovine preimplantation embryo exposed to heat shock. *Biol. Reprod.* 71:1665-1670.
- Kirby, C. J., S. J. Wilson y M. C. Lucy. 1997. Response of dairy cows treated with bovine somatotropin to a luteolic dose of prostaglandin F₂. *J. Dairy Sci.* 80: 286-294.
- Miles, L., D. A. Lipschitz, C. P. Bieber, y J. D. Cook. 1974. Measurement of serum ferritin by a 2-site immunoradiometric assay. *Analyt. Biochem.* 61:209-224.
- Morales-Roura, J.S., L. Zarco, J. Hernández-Cerón y G. Rodríguez. 2001. Effect of short-term treatment with bovine somatotropin at estrus on conception rate and luteal function of repeat-breeding dairy cows. *Theriogenol.* 55:1831-1841.
- Morbeck, D. E., J. H. Britt, y B. T. McDaniel. 1991. Relationships among milk yield, metabolism, and reproductive performance of primiparous Holstein cows treated with somatotropin. *J. Dairy Sci.* 74: 2153 - 2164.
- Moreira, F., C. Orlandi, C. A. Risco, R. Mattos, F. Lopes y W. W. Thatcher. 2001. Effects of presynchronization and bovine somatotropin on pregnancy rates to a timed artificial insemination protocol in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 84:1646-1659.

- Moreira, F., C.A. Risco, M. F. Pires, J. D. Ambrose, M. Drost y W.W. Thatcher. 2000. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:1237-1247.
- Moreira, F., F. F. Paula-Lopes, P. J. Hansen, L. Badinga y W. W. Thatcher. 2002 Effects of growth hormone and insulin-like growth factor-1 on development of in vitro derived bovine embryos. *Theriogenol.* 57(2):895-907.
- Palma, G.A., M. Muller y G. Brem. 1997. Effect of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) at high concentrations on blastocyst development of bovine embryos produced in vitro. *J. Reprod. Fertil.* 110:347-353.
- Patterson, D.J., F. N. Kojima y M. F. Smith. 2003. A review of methods to synchronize estrus in replacement beef heifers and postpartum cows. *J. Anim. Sci.* 81(e. Suppl. 2):166-177.
- Peel, C. J. y D. E. Bauman. 1987 Somatotropin and lactation. *J. Dairy Sci.* 70(2):474-486.
- Rieger, D., A. M. Luciano, S. Modina, P. Pocar, A. Lauria y F. Gandolfi. 1998. The effects of epidermal growth factor and insulin-like growth factor-I on the metabolic activity, nuclear maturation and subsequent development of cattle oocytes in vitro. *J. Reprod. Fertil.* 112:123-130.
- Santos, J. E., S. O. Juchem, R. L. Cerri, K. N. Galvao, R. C. Chebel, W. W. Thatcher, C. S. Dei y R. Bilby R. 2004. Effect of STbr and reproductive management on reproductive performance of Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87 (4):868-881.
- Stanisiewski, E.P., L. F. Krabill y J. W. Lauderdale. 1992. Milk yield, health, and reproduction of dairy cows given somatotropin (Somavubove) beginning early postpartum. *J. Dairy Sci.* 75:2149-2164.
- Thatcher, W.W., T. R. Bilby, J. A. Bartolome, F. Silvestre, C. R. Staples y J. E. Santos. 2006. Strategies for improving fertility in the modern dairy cow. *Theriogenol.* 65 (1):30-44.
- Wilmut, I., D. I. Sales y C. J. Ashworth. 1986 Maternal and embryonic factors associated with prenatal loss in mammals. *J. Reprod. Fertil.* 76:851-864.
-

Colofón

Este ejemplar de la Revista Agraria –*Nueva Epoca*– se terminó de imprimir en formato digital (PDF) en la Dirección de Investigación de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, para su distribución en medios múltiples.

En Saltillo, Coah., México, el día 4 del mes de abril
del año 2011



UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

www.uaaan.mx - (844) 411-02-00; Fax (844) 411-02-00, Ext. 2041

e-mail: investigacion@uaaan.mx