

# FENÓLICOS SOLUBLES EN SUSTRATOS DE PAJA DE TRIGO Y SU EFECTO EN PLÁNTULAS DE BRÓCOLI

## Soluble Phenolics in Substrates of Wheat Straw and its Effect on Broccoli Seedlings

Fidel René Díaz-Serrano<sup>1†</sup>, Prometeo Sánchez-García<sup>1</sup>, Manuel Sandoval-Villa<sup>1</sup>, Roberto Quinteño-Lizaola<sup>1</sup>, Marcos Soto-Hernández<sup>1</sup> y Ángel Martínez-Garza<sup>†</sup>

### RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto de las concentraciones de fenólicos solubles totales en sustratos de paja de trigo en la emergencia y el desarrollo de plántulas de brócoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) cv. Patriot, se evaluaron seis sustratos de paja de trigo con diferente granulometría y dos turbas comerciales como testigos, en un diseño de bloques completos al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones. Los sustratos de paja de trigo se remojaron en agua común por 24 h, para extraer los compuestos fenólicos solubles; el extracto se decantó, la paja se enjuagó una sola vez y se secó al sol. Los sustratos se colocaron en charolas de plástico con 200 cavidades. Para nutrir a las plántulas, se aplicó una solución nutritiva a 100% de concentración, preparada de acuerdo con los principios establecidos por Steiner, con 70% del nitrógeno en forma nítrica y 30% en forma amoniacal. Treinta días después de la siembra, las plántulas, en los sustratos de paja de trigo con granulometrías 80-20, 70-30 y 60-40, presentaron un desarrollo similar al de las plántulas en los dos sustratos comerciales utilizados como testigos, en las variables diámetro de tallo, y peso de materia fresca y seca de la parte aérea de las plántulas. Las concentraciones de fenólicos solubles totales en todos los sustratos de paja de trigo no inhibieron la emergencia de las plántulas. Las concentraciones de fenólicos solubles totales durante el experimento en los tres sustratos de paja de trigo mencionados, con las granulometrías especificadas, tampoco inhibieron significativamente la mayoría de

las variables de desarrollo de las plántulas de brócoli, evaluadas al final del experimento.

**Palabras clave:** *Brassica oleracea* var. *italica*, *alelopatía*, *turbas*, *desarrollo de pelos radiculares*.

### SUMMARY

To the effect of total soluble phenolic concentrations in substrates of wheat straw on emergence and development of broccoli (*Brassica oleracea* var. *italica*) seedlings cv. Patriot, six wheat straw substrates with different particle sizes and two commercial peat moss substrates as controls were evaluated in a completely randomized block design with eight treatments and four replications. The wheat straw materials were soaked with tap water for 24 h to extract the soluble phenolic compounds. The extract was decanted, the straw was washed once and dried under sunlight. The substrates were evaluated in plastic trays with 200 holes. For seedling nutrition, 100% solution was applied; the solution was prepared according to the principles established by Steiner, containing 70% nitrogen in nitrate form and 30% in ammonium form. Thirty days after sowing, seedlings grown in the wheat straw substrates with particle sizes of 80-20, 70-30, and 60-40 showed development similar to that of the seedlings grown in the two commercial peat moss substrates in the variables stem diameter, fresh and dry matter weight of shoots. The total soluble phenolic concentrations in all wheat straw substrates did not inhibit the emergence of seedlings. During the experiment, in the mentioned three wheat straw substrates with the specified particle sizes, the total soluble phenolic concentrations did not significantly inhibit most of the development variables of broccoli seedlings, evaluated at the end of the experiment.

**Index words:** *Brassica oleracea* var. *italica*, *allelopathy*, *peat moss*, *root hair development*.

<sup>1</sup> Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, 56230 Montecillo, estado de México.

<sup>†</sup> Autor responsable (dfidel@colpos.mx)

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, la producción de algunas hortalizas ha cambiado de una agricultura tradicional (siembra directa) a una agricultura desarrollada, basada en el trasplante de plántulas producidas en invernadero mediante el uso de charolas con alvéolos rellenos con turbas *Sphagnum* (peat moss) como sustrato (Muñoz, 2004). Este tipo de sustratos es caro, por ser de importación, y hace tecnológicamente dependientes del exterior a los productores de plántulas de hortalizas para trasplante. En México, uno de los cultivos hortícolas donde se utiliza el sistema de producción de plántulas en charolas para trasplante es el de brócoli. En el ámbito nacional, no existe información oficial disponible de los volúmenes de sustrato importado para la producción de plántulas de hortalizas y menos para la producción específica de plántulas de brócoli. A falta de esta información, puede realizarse un cálculo aproximado de dicho volumen y su costo, con base en la superficie de brócoli cultivado. En el estado de Guanajuato, en el ciclo 2000-2001 se cosecharon 12 197.46 ha de brócoli (INEGI, 2002). Con una densidad promedio de 70 000 plantas ha<sup>-1</sup>, se necesitaron aproximadamente 29 784 bultos de 3.8 pies cúbicos (107.54 L = 215 L cuando se descomprime) equivalente a 6 403 666.5 L de sustrato (6403.66 m<sup>3</sup>), tomando como base que se llenan con sustrato aproximadamente 7.5 mL de la cavidad de 8.5 mL de capacidad; el volumen restante se llena con vermiculita de tamaño mediano, para cubrir la semilla después de la siembra. Considerando un costo promedio de \$250 pesos por bulto, el precio por la importación de este volumen de sustrato asciende a \$7 446 000 pesos, equivalente a 647 478.26 dólares (tipo de cambio 11.5 pesos por dólar).

Con fundamento en lo anterior, debe contemplarse la necesidad de realizar investigación enfocada a la obtención de sustratos orgánicos alternativos nacionales, partiendo de materiales residuales regionales que proporcionen el medio adecuado para el desarrollo de las plántulas y sean económicos.

La paja de trigo es un residuo lignocelulósico que se produce en grandes cantidades en algunas regiones de México. En el estado de Guanajuato, en el año 2001, se cosecharon 49 379 ha de trigo con una producción de grano de 246 191 Mg, con un promedio de 5 Mg ha<sup>-1</sup> (INEGI, 2003). Se estima que, en promedio, se producen 8 Mg de paja ha<sup>-1</sup> y que una alta proporción de estos residuos se manejan de forma inadecuada, a través de

la quema, problema que se ha tratado de solucionar mediante la creación de la Norma Técnica Ambiental NTA IEG 005/2000 en el Acuerdo No. 195, incluida en la Ley de Protección y Preservación del Ambiente del Estado de Guanajuato (Gobierno del Estado de Guanajuato, 2000), en la cual se estipula que queda estrictamente prohibida la quema de esquilmos. Dichos esquilmos podrían constituir la base para la elaboración de sustratos orgánicos que se usen para la producción de plántulas para trasplante de algunas especies hortícolas, entre las que se incluye el brócoli. Sin embargo, existen claras evidencias del efecto negativo sobre el crecimiento y el rendimiento del próximo cultivo (alelopatía), cuando la paja de trigo se incorpora o se deja sobre la superficie del suelo (Elliot *et al.*, 1978; Lodhi *et al.*, 1987; Narwal *et al.*, 1997; Opoku *et al.*, 1997). Mientras el pobre crecimiento del siguiente cultivo parece tener deficiencia de nitrógeno, ésta no se corrige con aplicaciones del mismo (Kimber, 1967; Davidson y Santlemann, 1973). Lo anterior da cabida a considerar que lo que en general se atribuye a la inmovilización de N por los microorganismos, puede ser causado por los compuestos fenólicos que se encuentran en la solución del suelo (al menos en las primeras semanas después de regado el cultivo) y que se derivan de los residuos dejados en el terreno, evitando la absorción de nutrimentos, entre los cuales el más importante es el N. Se ha encontrado que los ácidos ferúlico, *p*-cumárico, *p*-hidroxibenzoico, siringico y vainílico son los principales causantes de estos efectos (Guenzi y McCalla, 1966; Lodhi *et al.*, 1987; Vaughan y Ord, 1990; Levi-Minzi *et al.*, 1994). De lo anterior se desprende que los compuestos fenólicos, presentes en la paja de trigo, podrían ser un impedimento para que ésta se use sin degradar, como sustrato. Uno de los posibles mecanismos de inhibición de los ácidos fenólicos en el crecimiento de las raíces y el tallo de las plantas es por despolarización de las membranas celulares de los tejidos de la raíz, permitiendo un eflujo de nutrimentos al medio exterior e impidiendo la absorción de nutrimentos (Glass y Dunlop, 1974). Además, se reporta que los ácidos fenólicos son uniforme y significativamente inhibitorios sólo a concentraciones bajas de nutrimentos (Stowe y Osborn, 1980).

Las propiedades físicas más importantes que permiten evaluar la capacidad de un material como sustrato son: distribución del tamaño de partículas o granulometría, porosidad y su reparto entre las fases líquida y gaseosa. Además, se considera si proporciona nutrimentos (Ansorena, 1994).

La presente investigación se fundamentó en la posibilidad de extraer los compuestos alelopáticos de la paja de trigo a través del remojo y enjuague de la misma, con agua común y, posteriormente, usarla como sustrato en el desarrollo de plántulas de brócoli, utilizando una solución nutritiva. El objetivo del presente trabajo fue cuantificar el efecto de la concentración de fenólicos solubles totales de seis sustratos de paja de trigo en la emergencia y el desarrollo de plántulas de brócoli y comparar éstos con los obtenidos en plántulas de brócoli cultivadas en dos sustratos comerciales a base de turba como testigos.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en un invernadero en Montecillo, municipio de Texcoco, estado de México, del 27 de abril al 27 de mayo de 2003. Paja de trigo, variedad Saturno, sin degradación, se trituró en un molino de martillos y se tamizó con mallas de 2.0, 1.0 y 0.5 mm, seleccionando partículas menores de 2.0 y mayores de e iguales a 1 mm, y menores de 1.0 y mayores de e iguales a 0.5 mm. Con las partículas seleccionadas se elaboraron seis sustratos de paja de trigo (SPT) con las siguientes granulometrías, en porcentaje: 100-00, 90-10, 80-20, 70-30, 60-40 y 50-50; correspondiendo a porcentajes en volumen de partículas menores de 2 mm y mayores de e iguales a 1 mm, y menores de 1 mm y mayores de e iguales a 0.50 mm, respectivamente. Con la finalidad de extraer los compuestos fenólicos solubles presentes en la paja, los sustratos elaborados con las granulometrías especificadas se remojaron en agua común (relación 1:2; sustrato:agua v/v) en cubetas de plástico de 20 L por 24 h. El extracto, de color café oscuro se decantó, la paja se enjuagó una vez y se decantó nuevamente y, después, se secó, exponiéndola al sol. Como sustratos testigo (ST) se utilizaron dos turbas importadas de Canadá: Sogemix VT-M™ (Premier) y Sunshine (Sungro™).

Antes de la siembra, los sustratos se humedecieron ligeramente con agua destilada para tener un mejor manejo en el llenado de las charolas. Éstas fueron de plástico negro con 200 cavidades, con un volumen de 13.11 cm<sup>3</sup> por cavidad (TLC, Polyform Inc., S/F), las cuales se llenaron manualmente con sustrato y se presionaron ligeramente con la parte inferior de otra charola, dejando aproximadamente 1 cm entre la parte superior de la charola y la superficie del sustrato. Se sembraron dos semillas por cavidad y se taparon con

vermiculita de tamaño mediano. Los sustratos se evaluaron en brócoli (*Brassica oleracea var. italica*), híbrido cv. Patriot (Sakata Seeds) en un diseño de bloques al azar con ocho tratamientos y cuatro repeticiones, cada repetición con 50 cavidades. Los sustratos contenidos en las charolas se regaron con agua destilada y se dejaron reposar por 1 h. Los extractos para la cuantificación de los fenólicos solubles totales (CFST), en los sustratos al inicio del experimento, se obtuvieron mediante una adaptación del método de vertido utilizado para sustratos orgánicos en maceta (Wright, 1986) al sistema charola-sustrato. En cada una de cuatro cavidades con sustrato por repetición, se agregaron 5 mL de agua destilada, colectando la solución drenada en una pequeña bolsa de plástico. El extracto final por repetición fue la mezcla de las soluciones drenadas de las cuatro cavidades. La determinación de las CFST se hizo con un espectrofotómetro marca Milton Roy, modelo Spectronic 20<sup>+</sup>, utilizando la metodología para micro ensayo descrita por Swain y Hillis (1959).

Los sustratos se regaron con agua común y corriente hasta la emergencia de las plántulas [cinco días después de la siembra (DDS)]. Se dejó una plántula por cavidad a los tres días después de la emergencia. La emergencia se registró hasta 10 DDS. La solución nutritiva se preparó de acuerdo con la metodología establecida por Steiner (1961), modificando los porcentajes y las formas de nitrógeno. La solución aplicada tuvo 70% del nitrógeno en forma nítrica y 30% en forma de amonio. La solución se preparó a partir de soluciones madre, con reactivos grado analítico y se suministró a las plántulas a pH de 5.5.

Desde la emergencia hasta el penúltimo riego antes de la colecta de las plántulas, éstas se regaron con solución nutritiva en concentración de 100%, con uno, dos o tres riegos diarios, según las condiciones ambientales y el desarrollo de las plántulas. El último riego se realizó únicamente con agua acidulada con un pH de 5.5. Los riegos se proporcionaron con una aspersora manual hasta obtener un poco de drenaje por la parte inferior de las charolas.

Con el objetivo de cuantificar los cambios en las CFST en los sustratos durante el desarrollo de las plántulas, adicionalmente al extracto obtenido en los sustratos al inicio del experimento, se obtuvieron extractos de los mismos a 10, 13, 15, 23, 27 y 30 DDS, de la misma manera que se hizo en los sustratos al inicio del experimento.

Al final del experimento (30 DDS), se extrajeron 10 plántulas de la parte central de cada repetición en todos los sustratos y se cuantificaron las variables: longitud de plántula y diámetro de tallo, peso de materia fresca y seca de la parte aérea. La longitud de las plántulas se registró desde la superficie del sustrato hasta el borde de la hoja más alta, el diámetro de tallo se registró aproximadamente a 3 mm abajo de las hojas cotiledonales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Concentración de Fenólicos Solubles Totales en los Sustratos al Inicio del Experimento

Las concentraciones de fenólicos solubles totales (CFST) en los sustratos, al inicio del experimento, se presentan en el Cuadro 1. Existieron diferencias altamente significativas (DHS Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) en las CFST entre los sustratos de paja de trigo (SPT) al inicio del experimento, presentando la mayor CFST inicial el sustrato con granulometría 50-50 con  $43.15 \text{ mg L}^{-1}$ , y la menor los sustratos con granulometría 90-10 y 80-20 con  $38.76 \text{ mg L}^{-1}$ . Los ST presentaron las menores CFST, con  $25.24$  y  $16.45 \text{ mg L}^{-1}$ , para las turbas Sogemix VT-M y Sunshine, respectivamente, y fueron estadísticamente diferentes de las CFST en los SPT.

De antemano, se supuso que las CFST en los SPT, al inicio del experimento, serían menores que la CFST obtenida en la extracción de los fenólicos de la paja de trigo por medio del remojo. Aunque las CFST en el extracto del remojo y en los sustratos se cuantificaron con bases diferentes, puede hacerse una relación entre los mismos. La CFST en el extracto puro fue, en promedio, de  $417.69 \text{ mg L}^{-1}$  en una relación 1:2 sustrato:agua v/v; mientras que las CFST en los SPT, utilizando el método de vertido (Wright, 1986), variaron entre  $43.15 \text{ mg L}^{-1}$  y  $38.76 \text{ mg L}^{-1}$ . Esta disminución en la CFST en el extracto puro y en los SPT se ubica en el orden de 89.66% y 90.72%.

### Porcentaje de Plántulas Emergidas Diez Días Después de la Siembra

Para el porcentaje de plántulas emergidas registrado a 10 días después de la siembra (DDS) (Cuadro 1), el análisis de varianza no detectó diferencias significativas entre los sustratos; los porcentajes de plántulas emergidas en todos los sustratos fueron estadísticamente iguales.

El porcentaje de plántulas emergidas varió en los SPT entre 93.00, como valor más bajo en el sustrato 90-10, y 95.50, como valor más alto en el sustrato 50-50. Los sustratos Sogemix VT-M y Sunshine presentaron porcentajes de emergencia de 93.50 y 94.00, respectivamente. Tomando como base los porcentajes de plántulas emergidas en los sustratos, se concluye que, aunque hubo diferencias significativas en las CFST entre los sustratos al inicio del experimento (Cuadro 1), se considera que estas concentraciones o concentraciones ligeramente mayores que el intervalo entre 15 y  $22 \text{ mg L}^{-1}$  registrado en los SPT (Figura 1) a 10 DDS, no inhibieron la emergencia de las plántulas de brócoli y, por lógica, no inhibieron la germinación de las semillas.

A pesar de que se conoce que los compuestos fenólicos en su estado natural en los tejidos de las plantas, en general, están unidos a un azúcar formando glucósidos por medio de enlaces éster (Harborne, 1984), la gran mayoría de las investigaciones reportadas sobre los efectos negativos o positivos de estos compuestos se han realizado con ácidos fenólicos libres (sin azúcares en su molécula) y en condiciones de laboratorio, por lo que se esperaría que el comportamiento químico de los primeros fuera distinto del de los segundos en su efecto inhibitorio en el crecimiento de las plantas.

Por otro lado, es importante señalar que la metodología para la cuantificación de fenólicos solubles totales (Swain y Hillis, 1959) detecta cualquier compuesto que tenga un anillo fenólico. Esto sugiere que, en las cuantificaciones de las CFST en este trabajo, los fenólicos en los sustratos tienen libre el grupo OH

**Cuadro 1. Concentraciones de fenólicos solubles totales (CFST) iniciales y finales (30 DDS) en los sustratos evaluados y porcentajes de plántulas emergidas, registrados 10 días después de la siembra.**

Sustrato	CFST inicial	CFST final	Plántulas emergidas
	- - - - $\text{mg L}^{-1}$ - - - -		%
100-00	39.10 c	6.00 ab	93.50 a
90-10	38.76 c	5.46 b	93.00 a
80-20	38.76 c	5.42 b	93.50 a
70-30	41.80 ab	5.56 b	94.00 a
60-40	40.11 bc	6.24 ab	95.00 a
50-50	43.15 a	5.96 ab	95.50 a
Sogemix VT-M	25.24 d	7.28 ab	93.50 a
Sunshine	16.45 e	8.13 a	94.00 a
Significancia	**	**	N. S.
DHS (Tukey, $\alpha = 0.05$ )	0.245	2.41	2.79

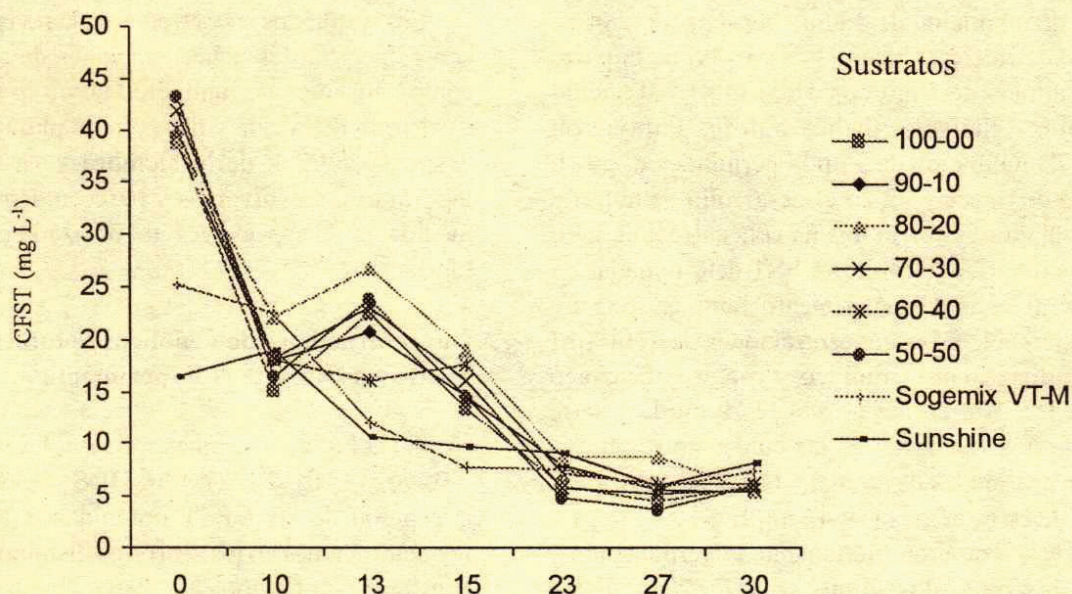


Figura 1. Variación de la concentración de fenólicos solubles totales (CFST) en los sustratos.

enlazado al anillo bencénico para reaccionar, debiendo tener su enlace con la molécula de azúcar en el extremo del grupo carboxilo de la misma, indicando también que esta molécula de azúcar se enlaza a través de uniones éster, y no éter (Scalbert *et al.*, 1985; Pan *et al.*, 1998). Los "compuestos fenólicos" en los cuales el azúcar se encuentra unido al oxígeno del grupo OH del anillo bencénico a través de uniones éter (Scalbert *et al.*, 1985; Pan *et al.*, 1998), si es que los hubo en la paja de trigo o en los SPT, no fueron cuantificados por la metodología propuesta por Swain y Hillis (1959); para ser cuantificados por esta metodología, es necesario hidrolizarlos.

Con la finalidad de conocer si existían ácidos fenólicos libres en los extractos acuosos iniciales de paja de trigo (extracción 1:2 sustrato:agua v/v), se hicieron estudios de cromatografía de capa fina (CCF) en estos extractos sin hidrolizar. No se encontraron ácidos fenólicos libres en los extractos sin hidrolizar, al correr conjuntamente muestras del extracto acuoso sin hidrolizar, hidrolizado y estándares de los ácidos *p*-cumárico, ferúlico, siríngico, vainílico y caféico (Guenzi y McCalla, 1966) en una misma placa, utilizando como eluyente una mezcla de cloroformo: ácido acético en relación 9:1 (Harborne, 1984). Lo anterior indica que, en los extractos acuosos de la paja de trigo, los compuestos fenólicos se encuentran en forma de glucósidos. Con CCF, en los extractos acuosos hidrolizados, se identificaron los ácidos *p*-cumárico, ferúlico, caféico, gentísico, vainílico, siríngico y

se detectaron otros dos que no se identificaron. Por otro lado, con cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se encontró que el ácido ferúlico, en primer lugar, y el *p*-cumárico, en segundo (derivado de los glucósidos), fueron los ácidos fenólicos más importantes en concentración, los restantes ácidos fenólicos identificados por CCF se encontraron en concentraciones de trazas. Los ácidos *p*-cumárico y ferúlico se han reportado como los ácidos fenólicos más importantes en concentración, en extractos hidrolizados de paja de trigo (Guenzi y McCalla, 1966; Agosin *et al.*, 1985; Scalbert *et al.*, 1985; Pan *et al.*, 1998).

En relación con el efecto de compuestos fenólicos sobre la inhibición del crecimiento de plantas, los extractos acuosos obtenidos de paja de trigo de nueve variedades [(no se cuantificaron las CFST), de una relación 10 g de paja y 150 mL de agua (relación 1:15 p/v)] y evaluados en semillas de trigo, inhibieron la germinación entre 1 y 11%, observándose casos de estimulación; entre 9 y 21% de inhibición en el desarrollo de la raíz y entre 11 y 36% de inhibición en el desarrollo de la parte aérea, después de 72 h (Guenzi *et al.*, 1967).

La longitud del coleóptilo en plántulas de maíz cv. Pioneer 3905 se inhibió cuando la concentración de compuestos fenólicos excedió 10 mg L<sup>-1</sup> (Opoku *et al.*, 1997). Esta concentración es muy baja, con respecto a las CFST cuantificadas en los sustratos iniciales. Las CFST iniciales cuantificadas en los sustratos evaluados fueron muy inferiores a las reportadas por Guenzi y McCalla (1966), quienes determinaron, en cajas de Petri,

porcentajes de inhibición de 4 en la germinación, 84 en el desarrollo de raíces y 56 en el desarrollo de la parte aérea en plántulas de trigo con 5000 mg L<sup>-1</sup> de ácido ferúlico libre. Asimismo, dichos autores obtuvieron porcentajes de inhibición de 2 en la germinación, 59 en el desarrollo de raíces y 42 en el desarrollo de la parte aérea de las plántulas con la misma concentración, pero con ácido *p*-cumárico libre. Las CFST determinadas en los sustratos, al inicio del experimento, también son muy bajas con referencia a las concentraciones de 1000 μM de ácido ferúlico, ácido vainílico y *p*-hidroxibenzoico (194.20 mg L<sup>-1</sup>, 168.10 mg L<sup>-1</sup> y 122.10 mg L<sup>-1</sup>) entre otros compuestos fenólicos, en las cuales no se obtuvo germinación de semillas de jitomate. Las concentraciones de 100 μM de estos ácidos (19.42 mg L<sup>-1</sup>, 16.81 mg L<sup>-1</sup> y 12.21 mg L<sup>-1</sup>) redujeron fuertemente la germinación y el peso de las plántulas (Jung *et al.*, 2001). Estas concentraciones son más bajas que las CFST encontradas en los sustratos al inicio del experimento; sin embargo, en el caso de Jung *et al.* (2001), sí redujeron la germinación y el peso fresco de las plántulas de jitomate. En concentraciones de 10 μM, sólo el ácido vainílico (1.681 mg L<sup>-1</sup>) inhibió el peso fresco de las plántulas.

En un experimento anterior y complementario a este trabajo, se evaluaron, en cajas de Petri, el extracto puro (relación 1: 2; paja : agua destilada), seis diluciones del extracto puro y el testigo, con agua destilada, en la germinación, longitud de la radícula y la longitud del tallo de plántulas de brócoli cv. Waltham. La CFST en el extracto puro fue de 417.69 mg L<sup>-1</sup> y en la última dilución fue de 6.52 mg L<sup>-1</sup>. Se adicionaron 6 mL del extracto puro y las diluciones a las cajas de Petri, y se colocaron 10 semillas por caja. La CFST en el extracto puro no inhibió significativamente el número de semillas germinadas, y fue estadísticamente igual a la germinación presentada en las CFST menores y en el agua destilada; sin embargo, sí inhibió significativamente la longitud de la radícula, en 41.87%, y la longitud del tallo, en 52.95%, con respecto al testigo con agua destilada, 72 h después de la siembra. Todas las CFST más bajas que la del extracto puro no mostraron efecto significativo de inhibición en estas variables. De acuerdo con estos resultados, se consideró con antelación que las CFST en los SPT iniciales no deberían de inhibir, al menos, la germinación y la emergencia de las plántulas de brócoli. Los resultados obtenidos en los porcentajes de plántulas de brócoli emergidas en los SPT a 10 DDS confirmaron lo que con anterioridad se determinó en las cajas de Petri en condiciones de laboratorio (Cuadro 1).

Los resultados encontrados en la revisión de literatura con respecto a las concentraciones de ácidos fenólicos como causantes de inhibición sobre la germinación, el desarrollo de la raíz y del tallo de plántulas, en general después de 72 h de la siembra y en condiciones de laboratorio, son diversos y parecen depender, en buena medida, de la especie vegetal utilizada para realizar los bioensayos.

### Concentraciones de Fenólicos Solubles Totales en los Sustratos Durante el Experimento

En la Figura 1 se muestran las CFST en los sustratos a 0, 10, 13, 15, 23, 27 y 30 DDS. Se observa que, con excepción de las CFST obtenidas a 13 DDS, dichas concentraciones en los sustratos disminuyeron conforme transcurrió el tiempo.

Todos los SPT siguieron la misma tendencia en esta disminución. Es importante hacer énfasis en la drástica disminución de la CFST en los SPT, entre el inicio del experimento y 10 DDS. Aunque los resultados en la Figura 1 indican que la drástica disminución de la CFST se presenta a 10 DDS, es probable que esta disminución se haya dado paulatinamente en los primeros días después del inicio del experimento, debido a los riegos que se realizaron para la germinación y la emergencia de las plántulas. La disminución en las CFST en los sustratos durante el experimento puede atribuirse a la lixiviación por los riegos suministrados (lixiviados que variaron de color, desde café oscuro, en los primeros extractos, hasta amarillo muy claro, casi transparentes en los últimos).

### Variables Evaluadas a 30 Días Después de la Siembra

En el Cuadro 1 se presentan las CFST en los sustratos a 30 DDS. Existió diferencia altamente significativa en las CFST entre los sustratos a 30 DDS. El sustrato Sunshine presentó una CFST de 8.13 mg L<sup>-1</sup> y el Sogenix VT-M, 7.28 mg L<sup>-1</sup>. Los SPT mostraron CFST que variaron entre 6.24 mg L<sup>-1</sup> en el sustrato 60-40 y 5.42 mg L<sup>-1</sup> en el sustrato 80-20. Tomando como base las CFST en los SPT al inicio y al final del experimento, los porcentajes de disminución variaron entre 84.45 en el sustrato 60-40 y 86.70 en el sustrato 70-30. Los porcentajes de disminución de CFST en los ST fueron de 71.16, en el sustrato Sogemix VT-M, y 50.58, en el sustrato Sunshine.

Con la finalidad de establecer una concentración o un intervalo de CFST en el cual el desarrollo de las raíces

de las plántulas de brócoli no se viera afectado, durante el experimento se hicieron observaciones en las raíces de las plántulas, extrayendo momentáneamente dos o tres cepellones de sus cavidades y valorando su aspecto a simple vista. La primera observación en las raíces fue a 15 DDS. En los SPT, las raíces principales tuvieron buen desarrollo, con un color blanco, pero no tenían pelos radicales; en los sustratos de turba sí. Las raíces, a 23 DDS, mostraron síntomas leves de inhibición; las raíces principales presentaron menor densidad de pelos radicales que los ST. A 27 DDS, las raíces tuvieron una densidad de pelos radicales abundante, pero ligeramente menor que la de los ST y, a 30 DDS, la densidad de pelos radiculares en las raíces fue igual a o mayor que la de los ST. Es probable que, en las condiciones en que se llevó a cabo este experimento, una CFST menor de  $7 \text{ mg L}^{-1}$  (Figura 1) no afecte el desarrollo de los pelos radicales de las raíces de las plántulas de brócoli en los SPT. Los ST mostraron síntomas ligeros de quemaduras de color café (efecto de fenólicos) sólo en la parte terminal de las raíces que se encontraban cercanas al orificio de drenaje de las charolas. Los compuestos fenólicos en los ST representan sustancias húmicas polifenólicas (Morita, 1980, 1981; Kuiters y Denneman, 1987). La razón por la cual estos compuestos fenólicos presentes en las turbas no inhiben el desarrollo de las plántulas que crecieron en ellos puede explicarse en función del tamaño de sus moléculas y su relación con el tamaño de los poros de las paredes celulares de las células de la raíz. Se ha estimado que el tamaño de los poros de la pared celular de los pelos radicales de la raíz de rábano puede variar, en promedio, entre 3.5 nm y 3.8 nm, con un máximo de 5 nm (Carpita *et al.*, 1979). El tamaño de una molécula de un compuesto fenólico simple, en especial si se encuentra unida a un azúcar (p. ej. ácido clorogénico), puede tener un tamaño similar a 1.0 nm, valor reportado para la sucrosa (Marschner, 1995), lo cual sugiere que estos compuestos fenólicos simples pueden penetrar a través de la red de la pared celular e interactuar con la membrana celular, despolarizándola (Glass, 1973; Glass y Dunlop, 1974). En contraste con los nutrimentos minerales y solutos orgánicos de bajo peso molecular, los solutos de alto peso molecular (metales quelatados, ácidos fúlvicos y toxinas) o virus y otros patógenos son severamente restringidos por el diámetro de los poros de la pared celular, para entrar en el espacio libre de las células de la raíz (Marschner, 1995).

En el Cuadro 2 se muestra:: los resultados de las variables de desarrollo de la parte aérea de las plántulas

de brócoli. En longitud de plántula, las plántulas que se desarrollaron en el Sogemix VT-M presentaron la mayor longitud y fueron diferentes estadísticamente de los demás sustratos. Los otros sustratos fueron iguales entre sí. Aunque las plántulas que se desarrollaron en el Sogemix VT-M tuvieron la mayor longitud, el peso de materia fresca y seca de la parte aérea de varios de los SPT resultó igual al obtenido en los ST, lo cual indica que las plántulas de estos sustratos tuvieron mayor vigor en el tallo (arriba de las hojas cotiledonales). En diámetro de tallo, existió diferencia significativa entre sustratos. Con excepción del sustrato 50-50, que fue el de menor diámetro de tallo, todos los demás sustratos fueron iguales estadísticamente en esta variable. En peso de materia fresca de la parte aérea, los mayores valores se obtuvieron en los sustratos Sogemix VT-M, Sunshine y los SPT, con granulometrías de 80-20, 70-30 y 60-40, los cuales fueron estadísticamente iguales entre sí. En peso de materia seca de parte aérea, con excepción de los sustratos con granulometrías 100-00 y 50-50, los demás SPT fueron estadísticamente iguales a los sustratos testigo. Las diferencias presentadas en las variables peso de materia fresca y seca de la parte aérea en los SPT con granulometrías 100-00 y 50-50 con respecto a los restantes SPT pudieron haber sido consecuencia de diferencias en sus propiedades físicas.

Si tomamos conjuntamente en consideración el diámetro de tallo y el peso fresco y seco de la parte aérea de las plántulas como las variables de desarrollo más importantes (Cuadro 2), puede sugerirse que es posible obtener plántulas de brócoli en los SPT con

**Cuadro 2. Variables de desarrollo evaluadas en plántulas de brócoli, a 30 días después de la siembra.**

Sustrato	LP	DT	PMFPA	PMSPA
	cm	mm	g	
100-00	16.59 b	2.65 ab	27.14 d	2.83 c
90-10	16.77 b	2.68 ab	32.61 bc	3.36 abc
80-20	17.59 b	2.73 ab	36.82 abc	3.71 ab
70-30	16.89 b	2.76 ab	34.53 abc	3.46 ab
60-40	17.60 b	2.78 a	37.63 ab	3.70 ab
50-50	16.79 b	2.60 b	32.08 cd	3.19 bc
Sogemix VT-M	19.54 a	2.66 ab	38.57 a	3.82 a
Sunshine	17.36 b	2.68 ab	33.99 abc	3.41 abc
Significancia	**	*	**	**
DHS (Tukey, $\alpha = 0.05$ )	1.39	0.17	5.37	0.62

LP = longitud de plántula; DT = diámetro de tallo; PMFPA = peso de materia fresca de parte aérea; PMSPA = peso de materia seca de parte aérea.

granulometrías 90-10, 80-20, 70-30, y 60-40, con características de desarrollo de la parte aérea, similares a las que presentaron las plántulas que se desarrollaron en los ST.

Aunque en las observaciones realizadas durante el experimento, en los cepellones de los SPT, en las raíces de las plántulas de brócoli se detectó cierta inhibición en el desarrollo de los pelos radicales; los resultados obtenidos en las variables de desarrollo a 30 DDS muestran que su efecto inhibitorio no fue significativo en el desarrollo de la parte aérea. Por otro lado, también es conveniente indicar que probablemente los efectos de inhibición de los compuestos fenólicos presentes en los SPT en el desarrollo de las plántulas de brócoli en el transcurso del experimento fueron menores que los que pudieron presentarse si la concentración de la solución nutritiva hubiera sido menor, debido a la interacción que presentan los nutrientes con los compuestos fenólicos. Los ácidos fenólicos son uniforme y significativamente inhibitorios sólo a concentraciones bajas de nutrientes (Glass, 1973; Stowe y Osborn, 1980; Vaughan y Ord, 1990).

Como información adicional, los SPT no presentaron una pérdida significativa en su contenido de materia orgánica (MO), al comparar los porcentajes de MO inicial y final (entre 0.38% y 1.5%), mientras que la disminución en el contenido de MO en la turba Sogemix VT-M y Sunshine fue de 6.37% y 3.62%, respectivamente. Al respecto, se reporta que paja de trigo que se remojó en agua por 24 h y se ajustó a una relación C:N de 20:1 y, posteriormente, se sometió a compostaje, mostró únicamente 29% de pérdida de peso, en comparación con compostas de paja de trigo que no se sometieron a remojo por 24 h y mostraron 42.0, 48.0 y 50.0% de pérdida de peso para las relaciones C:N 20:1, 10:1, y 5:1, respectivamente, en un periodo de cuatro meses (Blanco y Almendros, 1995). La extracción de las sustancias lábiles de la paja disminuyeron los valores de C rápidamente mineralizable y la cantidad de biomasa microbiana (Saviozzi *et al.*, 1997). En el presente trabajo, la paja de trigo también se remojó por 24 h, se extrajo el C fácilmente mineralizable (extracto de compuestos solubles en agua) y quizás también las poblaciones de microorganismos disminuyeron, de tal manera que aunque había C en la paja de trigo y N suministrado a través de la solución nutritiva, no se dio la degradación por las causas señaladas.

## CONCLUSIONES

- Las concentraciones de fenólicos solubles totales (CFST) presentes en los sustratos de paja de trigo (SPT) (previamente lavados) al inicio del experimento (entre 38.76 mg L<sup>-1</sup> y 43.15 mg L<sup>-1</sup> o ligeramente menores debido a lixiviación), no inhibieron la germinación ni la emergencia de las plántulas de brócoli.
- Las CFST en todos los sustratos disminuyeron a través del tiempo del experimento, siendo más pronunciada la disminución en los SPT en los primeros 10 días. Dicha disminución se atribuye principalmente a la lixiviación de estos compuestos de los sustratos por efecto de los riegos.
- Los SPT con granulometrías 80-20, 70-30 y 60-40 fueron estadísticamente iguales a los sustratos testigo (ST) en las variables diámetro de tallo, peso de materia fresca y seca de la parte aérea de las plántulas de brócoli; esto indica que dichos SPT proporcionaron condiciones similares a las de los ST para el desarrollo de las plántulas, por lo que se vislumbra que la paja de trigo, si se le extraen altas CFST por medio de remojo en agua común, puede representar un sustrato alternativo a los sustratos de turba en la producción de plántulas de brócoli.
- Aunque se observaron efectos de inhibición debido a las CFST en la densidad de pelos radicales en las plántulas que se desarrollaron en los SPT, en relación con las densidades de pelos radicales que mostraron las plántulas que se desarrollaron en los ST en el transcurso del experimento, su efecto no fue significativo sobre las variables de desarrollo de las plántulas de brócoli evaluadas al final del experimento.
- Puede establecerse que, en las condiciones en las cuales se llevó a cabo el presente trabajo, las raíces y pelos radicales de las plántulas de brócoli se desarrollan sin problemas en SPT con CFST menores que o iguales a 7 mg L<sup>-1</sup>.

## LITERATURA CITADA

- Agosin, E., B. Monties y E. Odier. 1985. Structural changes in wheat straw components during decay by lignin white-rot fungi in relation to improvement of digestibility for ruminants. *J. Sci. Food Agric.* 36: 925-935.
- Ansorena, M. J. 1994. Sustratos. Propiedades y caracterización. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Blanco, M. J. y G. Almendros. 1995. Forecasting agrobiological properties of wheat straw with different additives-multiple regression models including chemical parameters. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 26: 2473-2484.



- Carpita, N., D. Sabularsc, D. Montezinos y D. P. Delmer. 1979. Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. *Science* 205: 1144-1147.
- Davidson, J. M. y P. W. Santlemann. 1973. An evaluation of various tillage systems for wheat. Bulletin B-711. Agricultural Experiment Station, Oklahoma State University. Stillwater, OK, USA.
- Elliot, L. F., T. M. McCalla y A. Waiss. 1978. Phytotoxicity associated with residue management. pp. 131-146. *In: Crop residue management systems. Special publication 31. American Society of Agronomy. Madison, WI, USA.*
- Glass, A. D. M. 1973. Influence of phenolic acids on ion uptake. I. Inhibition of phosphate uptake. *Plant Physiol.* 51: 1037-1041.
- Glass, D. M. y J. Dunlop. 1974. Influence of phenolic acids on ion uptake. IV. Depolarisation of membrane potentials. *Plant Physiol.* 54: 855-858.
- Gobierno del Estado de Guanajuato. 2000. Ley de Protección y Preservación del Ambiente del Estado de Guanajuato. Guanajuato, Guanajuato, México.
- Guenzi, W. D. y T. M. McCalla. 1966. Phenolic acids in oats, wheat, sorghum and corn residues and their phytotoxicity. *Agron. J.* 58: 303-304.
- Guenzi, W. D., T. M. McCalla y F. A. Norstadt. 1967. Presence and persistence of phytotoxicity substances in wheat, oat, corn, and sorghum residues. *Agron. J.* 59: 163-165.
- Harborne, J. B. 1984. Phenolic compounds. pp. 37-99. *In: Phytochemical methods: a guide to modern techniques in plant analysis. 2nd ed. Chapman & Hall. London, UK.*
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2002. Anuario estadístico del estado de Guanajuato. Aguascalientes, Aguascalientes, México.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática). 2003. Anuario de estadísticas por entidad federativa. Aguascalientes, Aguascalientes, México.
- Jung, V., A. Waechter y P. Jensen. 2001. Effects of some plant and microbial metabolites on germination and emergence of tomato seedlings. *Acta Hort.* 548: 603-609.
- Kimber, R. W. L. 1967. Phytotoxicity from plant residues. I. The influence of rotted wheat straw on seedling growth. *Austr. J. Agric. Res.* 18: 361-374.
- Kuiters, A. T. y C. A. J. Denneman. 1987. Water soluble phenolic substances in soil under several coniferous and deciduous tree species. *Soil Biol. Biochem.* 19: 765-769.
- Levi-Minzi, R., A. Saviozzi y R. Riffaldi. 1994. Organic acids as seed germination inhibitors. *J. Environ. Sci. Health A* 29: 2203-2217.
- Lodhi, M. A. K., R. Bilal y K. A. Malik. 1987. Allelopathy in agroecosystems: wheat phytotoxicity and its possible roles in crop rotation. *J. Chem. Ecol.* 13: 1881-1891.
- Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. Academic Press. Cambridge, Great Britain.
- Morita, M. 1980. Total phenolic content in the pyrophosphate extracts of two peat soil profiles. *Can. J. Soil Sci.* 60: 291-297.
- Morita, H. 1981. Changes in phenolic composition of a peat soil due to cultivation. *Soil Sci.* 131: 30-33.
- Muñoz-Ramos, J. J. 2004. Producción de plántula. pp. 207-230. *In: Castellanos, J.Z. (ed.). Manual de producción hortícola en invernadero. 2da edición. Instituto para la Innovación Tecnológica en la Agricultura. Celaya, Guanajuato, México.*
- Narwal, S. S., M. K. Sarmah y D. P. S. Nandal. 1997. Allelopathic effects of wheat residues on growth and yield of fodder crops. *Allelopathy J.* 4: 111-120.
- Opoku, G., T. J. Vin y R. P. Voroney. 1997. Wheat straw placement effects on total phenolic compounds in soil and corn seedling growth. *Can. J. Plant Sci.* 77: 301-305.
- Pan, G. X., J. L. Bolton y G. J. Leary. 1998. Determination of ferulic and *p*-coumaric acids in wheat straw and the amounts released by acid and alkaline peroxide treatment. *J. Agric. Food Chem.* 46: 5283-5288.
- Saviozzi, A., R. Levi-Minzi, R. Riffaldi y G. Vanni. 1997. Role of chemical constituents of wheat straw and pig slurry on their decomposition in soil. *Biol. Fertil. Soils* 25: 401-406.
- Scalbert, A., B. Monties, J.Y. Lallemand, E. Guittet y C. Rolando. 1985. Ether linkage between phenolic acids and lignin fractions from wheat straw. *Phytochemistry* 24: 1359-1362.
- Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant Soil* XV-2: 134-154.
- Stowe, L. G. y A. Osborn. 1980. The influence of nitrogen and phosphorus levels on the phytotoxicity of phenolic compounds. *Can. J. Bot.* 58: 1149-1153.
- Swain, T. y W. E. Hillis. 1959. Phenolic constituents of *Prunus domestica*. I. The quantitative analysis of phenolic constituents. *J. Agric. Food Chem.* 10: 63-68.
- Vaughan, D. y B. Ord. 1990. Influence of phenolic acids on morphological changes in roots of *Pisum sativum*. *J. Sci. Food Agric.* 52: 289-299.
- Wright, R. D. 1986. The pour-through nutrient extraction procedure. *Hortscience* 21: 227-229.