

1

enero-junio de 2014

ISSN 2448-5225

e-CUCBA

CUCBA | UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA



FECHA EFECTIVA DE PUBLICACIÓN: 27 DE JUNIO DE 2014

Nota del editor

Con la intención de llegar a un público más extenso que hacen uso de las tecnologías actuales, se decidió publicar la revista Scientia-CUCBA exclusivamente en formato digital. En México, el Instituto Nacional de Derechos de Autor, establece que se reinicie la serie con un ISSN distinto y a partir del “número uno” para la versión electrónica. Por desgracia, el título para la versión electrónica no puede utilizarse porque “Scientia” es un vocablo ya ocupado con anterioridad por lo que tuvo que proponerse un nombre nuevo: **e-Cucba**. Esto no significa que se trate de otra revista, por ello no será necesario alterar los registros de la versión impresa que de ella se tengan en las bibliotecas.

Esta versión electrónica puede consultarse de manera libre en la dirección: <http://e-cucba.cucba.udg.mx> y está diseñada para imprimirse en papel tamaño carta (21.59 × 27.94 cm).

Serán bienvenidos todos los trabajos en las diferentes áreas de la Biología, Ciencias Agropecuarias y Forestales para su revisión y posible publicación; la “información para los autores” se encuentra en la dirección antes citada. Las propuestas deben dirigirse a: servando.carvajal1@gmail.com

Editor's note

With the intention to make it possible for more readers to have easy access to our publications we have decided to publish our bulletin Scientia-CUCBA exclusively in digital format. Unfortunately, the title to the electronic version can not be used because "Scientia" is a word already occupied previously, so we had to propose a new one: **e-CUCBA**. This does not imply that it is a new journal and therefore libraries should not designate a new title for e-Cucba. However, the Mexican Instituto Nacional de Derechos de Autor requires distinct ISSN number beginning with “number one” for the first electronic volume. Please note this difference in future citations.

The electronic version is available to anyone in: <http://e-cucba.cucba.udg.mx>. The page is designed to print on letter size paper (8.5 × 11 inches).

We welcome articles regarding any aspects of Biology and Agricultural and Animal Sciences and Forestry for review and possible publication. Information for contributors is available at the address cited above. Proposals should be sent to: servando.carvajal1@gmail.com



Argemone grandiflora Sweet (Papaveraceae),
Michoacan, México.
Fotografía de Servando Carvajal.

e-Cucba, Año 1, Número 1, enero-junio de 2014, es una publicación semestral, editada por la Universidad de Guadalajara, a través de la Coordinación de Investigación, del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. En La Venta del Astillero, Zapopan, Jalisco, Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez No. 2100, C.P. 45101, teléfono: (33) 3777-1155, <http://e-cucba.cucba.udg.mx>, scarvaja@cucba.udg.mx, editor responsable: Servando Carvajal Hernández. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo 04 – 2013 – 091314164100 – 203, ISSN: 2448-5225, otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la actualización de este número Angélica María Velázquez Flores de la Coordinación de Tecnologías para el Aprendizaje. Fecha de la última modificación 27 de junio de 2014, con un tiraje de un ejemplar.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización de la Universidad de Guadalajara.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

RECTORÍA GENERAL

Iztcoatl Tonatiuh Bravo Padilla
Rector

Miguel Ángel Navarro Navarro
Vicerrector Ejecutivo

José Alfredo Peña Ramos
Secretario General

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

Salvador Mena Munguía
Rector

Salvador González Luna
Secretario Académico

José Rizo Ayala
Secretario Administrativo

Coordinación de Investigación

Servando Carvajal
Coordinador de Investigación

Servando Carvajal
servando.carvajal1@gmail.com

María Luisa García Sahagún
Editores

Contenido

Alcohol consumption in male rats increases after sexual interaction Citar

Marisela Hernández-González, Mayra Elizabeth Franco-López, Leopoldo Eduardo Flores-Mancilla & Miguel Ángel Guevara **3**

Evaluación de biofertilizantes líquidos en la producción de elote y grano en maíz Citar

Gilberto Vázquez Gálvez, Rebeca Flores Magallón y Luis Fernando Ceja Torres **15**

Hábitos de alimentación, tabaquismo y consumo de alcohol en estudiantes del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias Citar

Zoila Gómez Cruz, Araceli Hernández Tinoco, José Pablo Torres Morán y Patricia Landeros Ramírez **21**

Utilización de vermicomposta en invernadero para producir tomate y controlar *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Citar

Luis Fernando Ceja Torres, Rebeca Flores Magallón y Gilberto Vázquez Gálvez **27**

Brief overview of microorganisms used against agricultural insect pests Citar

Hirótaka Kokubu **37**

Luz María Villarreal de Puga Citar

Servando carvajal **45**

Comite Editorial Internacional 2013-2016

Anatoli Borodanienko

Universidad de Guanajuato,
México.

Alejandro Castillo Ayala

Universidad de Texas A & M.
U.S.A.

Daniel G. Debouck

Centro Internacional de
Agricultura Tropical (CIAT),
Cali, Colombia.

Eric Esteve

Centro Mas Bove. Tarragona,
España.

René Funes Rodríguez

Centro Interdisciplinario de
Ciencias Marinas (CICIMAR-
IPN), Baja California,
México.

Steve Gliesman

Universidad de California,
Campus Santa Cruz. U.S.A.

Rafael Gómez Kasky

Universidad de Las Villas,
Cuba.

Eduardo González Izquierdo

Universidad de Pinar del Río,
Cuba.

David Hansen

Midamerican International
Agricultural Consortium,
Iowa State University. U.S.A.

Ángel Luque Escalona

Universidad de Las Palmas,
Gran Canaria, España.

Anderson Ferreira P.**Machado.**

Universidade Estadual de
Feira de Santana, BA. Brasil

Xavier Navarro Acebes

Departament de Biología
Cel•lular, de Fisiología i
d'immunologia, Bellaterra,
España.

Guillermo A. Navarro

Centro Agronómico Tropical
de Investigación y Enseñanza
(CATIE) - Turrialba, Costa
Rica.

Michael F. Notan

Collage of Agriculture,
Food & Natural Resources,
University of Missouri,
Columbia, U.S.A.

Oliver Pratseval Algels

Centro de Tecnología de la
Carne. Monells (Girona)
España.

Ruperto Quesada Monge

Instituto Tecnológico de
Costa Rica.

Joan Tibau

Centro de Control Porcino.
Monells (Girona) España.

Enrique Verdú Navarro

Departament de Biología
Cel•lular, de Fisiología i
d'immunologia, Bellaterra,
España.

Francisco Villalpando Ibarra

Organización Meteorológica
Mundial (OMM), Ginebra,
Suiza.



Es una publicación de la Universidad de Guadalajara, que tiene el propósito de difundir el conocimiento generado en Biología, ciencias Agropecuarias y Forestales, entendidas en sentido amplio, así como los resultados de los trabajos de investigación científica desarrollados en sus centros universitarios y en otras instituciones tanto nacionales como del extranjero. Se publican trabajos originales e inéditos en español, inglés, portugués y francés; cada artículo contiene un resumen en español y en inglés, además del propio de la lengua en que esté escrito. No hay límites en el número de páginas ni en la cantidad de fotografías a color.

Diseño y maquetación

ORGÁNICA EDITORES

Saulo Cortés | José Manuel Sánchez

🌐 www.organicaeditores.mx

Alcohol consumption in male rats increases after sexual interaction

Marisela Hernández-González¹, Mayra Elizabeth Franco-López¹, Leopoldo Eduardo Flores-Mancilla² & Miguel Ángel Guevara¹

¹Instituto de Neurociencias,

Universidad de Guadalajara,
Francisco de Quevedo 180, Colonia
Arcos Vallarta, Guadalajara 44130,
Jalisco, México.

²Unidad Académica de Medicina

de la Universidad Autónoma de
Zacatecas. Carretera Zacatecas-
Guadalajara Km 6, Ejido La
Escondida, Zacatecas 98160, Zac.,
México.

✉ mariselh@cencar.udg.mx

Citar

Abstract

It has been reported that sexual encounters influences not only the subsequent behavior of subjects but also certain physiological states. The purpose of this study was to examine alcohol consumption after different types of sexual interaction in male rats. Male Wistar rats were subjected to a process of induction to alcohol so that they would learn to consume a 10% ethanol solution. Afterwards, they were subjected to four different types of sexual interaction: (1) enforced interval copulation (EIC) to ejaculation (group EIC E); (2) enforced interval copulation up to 3 intromissions (group EIC 3I); (3) *ad libitum* copulation to ejaculation (group ADC E); and (4) *ad libitum* copulation up to 3 intromissions (group ADC 3I). Immediately after the sexual interaction, each rat was exposed to two bottles; one containing water, the other a 10% ethanol solution, for a period

of 8 minutes. Only the males that reached ejaculation and those that were allowed to copulate *ad libitum* up to 3 intromissions showed higher alcohol consumption. Considering that sexual behavior activates brain systems that are known to play a role in alcohol intake, such as the dopaminergic and opioidergic systems, it is probable that the activation of these systems brought on by sexual activity could have generated a state of higher motivation to consume alcohol or, alternatively, potentialized its reinforcing properties. These data suggest that alcohol consumption is sensitive to the type of sexual interaction and, hence, to the motivational/arousal state that the male rat experienced prior to exposure to alcohol.

Key words: sexual interaction, alcohol, copulation, rats, enforced interval.

Resumen

Se ha reportado que la conducta sexual no sólo influye en el comportamiento posterior de los sujetos, sino también en ciertos estados fisiológicos. El propósito de este estudio fue examinar el consumo de alcohol después de diferentes tipos de interacción sexual en ratas macho. Ratas Wistar fueron sometidas a un proceso de inducción al alcohol de tal forma que aprendieron a consumir una solución de etanol al 10%. Posteriormente, fueron sometidos a cuatro diferentes tipos de interacción sexual: (1)

Cópula de intervalo forzado hasta eyaculación (grupo CIF E), (2) Cópula de intervalo forzado hasta 3 intromisiones (grupo CIF 3I); (3) Cópula *ad libitum* hasta eyaculación (grupo CAD E); y (4) Cópula *ad libitum* hasta 3 intromisiones (grupo CAD 3I). Inmediatamente después de la interacción sexual, cada rata fue expuesta durante un período de 8 minutos, a dos bebederos, uno que contenía agua, y el otro una solución de etanol al 10%. Sólo los machos que llegaron a la eyaculación y a los que se les per-

mitió copular *ad libitum* hasta 3 intromisiones mostraron mayor consumo de alcohol. Ya que el comportamiento sexual activa los sistemas cerebrales que, se sabe, juegan un papel en la ingesta del alcohol, como son los sistemas dopaminérgico y opioidérgico. Es probable que la activación de estos sistemas, provocado por la actividad sexual, pudiera haber generado un estado de mayor motivación para consumir alcohol o, potencializar las propiedades reforzantes de este líquido. Estos datos muestran que el consumo de alcohol es sensible al tipo de interacción sexual y, por lo tanto, al estado de motivación / excitación experimentado por la rata macho antes de la exposición al alcohol.

Palabras clave: interacción sexual, alcohol, copulación, ratas, cópula de intervalo forzado.

Introduction

Sexual behavior includes a hedonic and rewarding component (Whalen 1961; Ågmo & Berenfeld 1990) and its performance influences the subsequent behavior of subjects, as well as certain physiological states. For example, it has been shown that copulatory activity leading to ejaculation in subjects induces a state of relaxation with reduced motor activity and higher aggression levels, compared to subjects that have had no sexual conduct, or that only experienced intromission (Meisel & Sachs 1994; Fernández-Guasti *et al.* 1989). In addition, interrupted copulation and the manipulation of sexual activity produce an aroused state, or alertness, in male rats such that the withdrawal of the female not only reduces the number of intromissions that precede ejaculation but also causes an aroused state that may be manifested in restlessness, motor-hyperactivity, excitement, and intermale aggression (Larsson 1956). There is also evidence indicating that different components of sexual activity can affect both motor activity and learning. In this vein, studies have shown that intromission without ejaculation stimulates motor activation that results in rats taking a shorter time to find their way through a T-maze (Kagan 1955); whereas mounting without intromission was not seen to have this reinforcing effect (Whalen 1961). Changes have also been reported in the quantity, latency and duration of

the different phases of sleep in rats immediately after sexual interaction (Boland & Dewsbury 1971; Meerlo & Turek 2001; Vázquez-Palacios *et al.* 2002; Jiménez-Anguiano *et al.* 2002).

Pursuant to their effects on subsequent behavior, the changes in cerebral functionality characteristic of each particular state of copulatory interaction have also been described. For example, it has been demonstrated that the electrical activity in different brain structures shows specific changes in relation to both the appetitive (attention, pursuit of the female, mounting responses), and consummatory (intromission, ejaculation, post-ejaculatory interval) components of sexual interaction (Kurtz *et al.* 1973; Horio *et al.* 1986; Hernández-González *et al.* 1997; Hernández-González *et al.* 1998; Hernández González *et al.* 2007)

Also, many studies have shown that sexual behavior is associated with changes in the activation and levels of several systems of neurotransmitters (Szechman *et al.* 1981; Ågmo & Paredes 1988; Damsma *et al.* 1992; Paredes & Ågmo 1992). Certain microdialysis studies have indicated that extracellular DA in the Accumbens nucleus (Acc) increases when male rats are exposed to inaccessible receptive females (Wenkstern *et al.* 1993), and rises even more during the intromission and ejaculation responses that constitute the consummatory components of male sexual behavior (Pfaus *et al.* 1990; Damsma *et al.* 1992; Hull *et al.* 1993). Increased activation of μ -opioid receptors in the medial preoptic area has also been described (Coolen *et al.* 2004), as have changes in the levels of other neurotransmitters, such as serotonin (Qureshi & Sodersten 1986; Ahlenius *et al.* 1987) and GABA, in several brain structures (Fernandez-Guasti *et al.* 1986; Paredes & Ågmo 1992).

Alcohol consumption is an artificial rewarding behavior that, like copulation and other rewarding behaviors, activates the dopaminergic mesolimbic system through the release of endogenous opioids, DA and other neurotransmitters involved in the functioning of this brain's dopaminergic system. Opioid peptides have been implicated in the reinforcing effects of alcohol and in ethanol-drinking behavior, and it has

been suggested that μ -opioid receptors play an important role in these processes (Koob 1992; Ulm *et al.* 1995; Mendez *et al.* 2001). This has also been shown with respect to DA. Biochemical and pharmacological evidence suggests that the dopamine mesolimbic system plays a key role in mediating the reinforcing properties of alcohol and other drugs of abuse (Kaczmarek & Kiefer 2000), so that clear increases of this neurotransmitter have been found in the Nucleus Accumbens (Acc), the ventral tegmental area (VTA) and the central nucleus of the amygdala, regardless of the route of alcohol administration (Yoshimoto *et al.* 1991; Yoshimoto *et al.* 1996; Di Chiara *et al.* 1998; Tizabi *et al.* 2002).

Thus, considering that the performance of sexual behavior influences the subsequent conduct of subjects, and that copulatory interaction activates cerebral systems that have been shown to play a role in alcohol intake, the scope of the present work was to investigate the effect of different types of sexual interaction on alcohol consumption in male rats.

Materials and methods

Subjects

Male Wistar rats (n=60) were obtained from a colony bred at the Institute of Neurosciences of the University of Guadalajara. All rats were housed individually in a room at 22–23 °C under a 12:12 h reversed light/dark cycle (lights on from 2000 to 0800 h) with food and water available *ad libitum*. Temperature, feeding and the light/dark cycle conditions were held constant throughout the course of the study. At 80 days of age, all animals were tested for sexual activity in at least three consecutive tests. Only sexually active males (*i.e.*, those with a latency to ejaculation below 15 min) were selected for the experiments. Animal care and all other procedures involving the rats were approved by our Institutional Animal Care and Use Committee, in accordance with NIH specifications.

Period of alcohol induction

For the purpose of familiarizing the rats with the taste of alcohol, all males were subjected to a process of induction to alcohol which con-

sisted in exposing them to water and a solution prepared with tap water and different concentrations of ethanol during a period of 31 days. Phase 1 of the alcohol induction period lasted 12 days. During this phase, the concentration was increased gradually from an initial 2% (99.8% Merck) v/v, by adding an additional 2% every 2 days up to a maximum of 10%. In phase 2, the 10% ethanol concentration was maintained for 10 days (during 24 h) until day 22, when it was clear that alcohol consumption had stabilized. In phase 3 (days 23 to 31 of the alcohol induction period), the male rats were subjected to a repeated process of liquid restriction that lasted for 15 h, from 20:00 h to 11:00 h on the following day, based on previous data that such withdrawal periods may help increase total liquid consumption by rats (Wolffgramm & Heyne 1995). At the end of each day's liquid restriction period, each rat was exposed to two bottles, one with water, the other with a 10% ethanol solution, for a period of 8 minutes. Immediately afterwards, alcohol and water consumption were measured, and a bottle with water was placed for each male rat from 11:30 to 20 h, when the process of liquid restriction began again. This process was maintained during the final 9 days of the period of alcohol induction (to day 31). After that, subjects were assigned to 4 groups (n=15): (1) enforced interval copulation (EIC) to ejaculation (group EIC E); (2) enforced interval copulation up to 3 intromissions (group EIC 3I); (3) *ad libitum* copulation to ejaculation (group ADC E); and, (4) *ad libitum* copulation up to 3 intromissions (group ADC 3I). The rats in each group were subjected to their corresponding sexual interaction tests every third day between 9:00 and 11:00 h (days 32, 35 and 38). At the end of the sexual interaction, the bottles with 10% ethanol and tap water, respectively, were placed such that each male was allowed access for 8 min. On the intervening days (33–34 (D1), 36–37 (D2), when the males had no sexual interaction, they were exposed only to the 8 min of 10% ethanol and tap water consumption at 10:00 h. after that, a bottle with water was placed for each male rat until the next day.

Sexual behavior tests

General: The *ad libitum* and enforced interval sexual behavior tests were conducted in test

cages. The male was allowed to adapt to the test cage for 5 min before the female was introduced. Female rats were given estradiol benzoate (50 µg/rat, SC) and progesterone (500 µg/rat, SC) 48 h and 4–6 h, respectively, prior to being used as stimuli in the tests of the male rats' sexual responses in all experiments.

Ad libitum condition: The *ad libitum* sexual test (free, constant access to the female). The parameters recorded were mount latency (ML) (time in seconds from the introduction of the female into the arena to the first mount); intromission latency (IL) (time in seconds from the introduction of the female into the arena to the first intromission); ejaculation latency (EL) (time in seconds from the first intromission to ejaculation); number of mounts and intromissions preceding ejaculation; and Hit Rate (HR) (number of intromissions divided by the total number of mounts and intromissions). Mounts (M), intromissions (I), and ejaculations (E) were identified on the basis of their particular behavioral characteristics.

EIC condition: Enforced interval copulation tests were performed as described previously by Larsen, 1956. The female was withdrawn for 1 min after the male achieved each intromission up to a total of 3 intromissions (EIC 3I), or until ejaculation (EIC E). Mount and intromission latency, as well as the number of mounts and intromissions preceding ejaculation were recorded.

Statistical analyses

Alcohol consumption after sexual interaction (at 32, 35 and 38 days) was compared with the mean alcohol consumption measured during the intervening days; *i.e.*, 33–34 (D1) and 36–37 (D2). ANOVA (sexual interaction × days) was used to compare water (ml) and alcohol consumption (g/kg). For the copulatory parameters, an ANOVA was applied to compare each type of sexual interaction on all recording days. The copulatory parameters for each sexual interaction at 32, 35 and 38 days were compared with those of the last sexual interaction task to which the male rats were exposed in order to make them sexually active (basal condition).

Results

Water consumption

A significant increase in water consumption was shown during the intervening days —33–34 (D1) and 36–37 (D2)— compared to the days on which the male rats were exposed to different types of sexual interaction [$F(4,224) = 163.51$, $p \leq 0.0001$] (Figures 1 A, B, C, D).

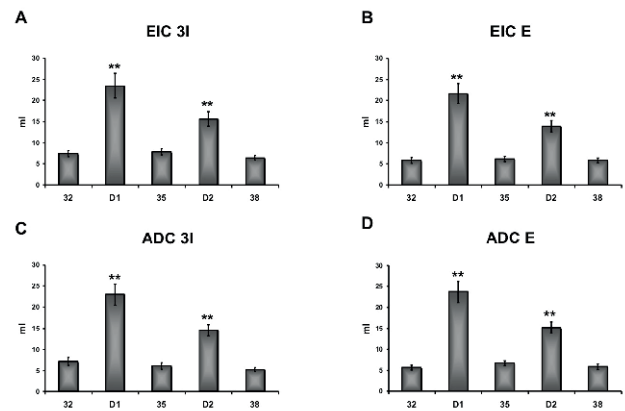


Figure 1. Water consumption (mean ± SE) shown by subjects in the different groups during the 8 min period without sexual interaction: 33–34 (D1), 36–37 (D2) and post-sexual interaction (days 32, 35 and 38). ** $p < 0.01$ compared to days 32, 35 and 38.

Ethanol consumption

No significant differences were found in alcohol consumption after EIC 3I (Figure 2A). Immediately after EIC E, subjects showed a significant increase in alcohol consumption on days 32 and 35 [$F(4,224) = 18.10$, $p \leq 0.0001$], compared to the mean for days 33–34 (D1) and 36–37 (D2), when no sexual interaction was allowed, and to day 38's post-sexual interaction (Figure 2B). A similar increase was observed after ADC 3I, when subjects showed elevated alcohol consumption levels during the 3 days when they were allowed sexual interaction (32, 35, 38), as compared to the mean for days 36–37 (D2) (Figure 2C). Subjects in ADC E also showed increased alcohol consumption post-sexual interaction on days 32, 35 and 38, compared to D1 and D2 [$F(4,224) = 18.10$, $p \leq 0.0001$] (Figure 2D).

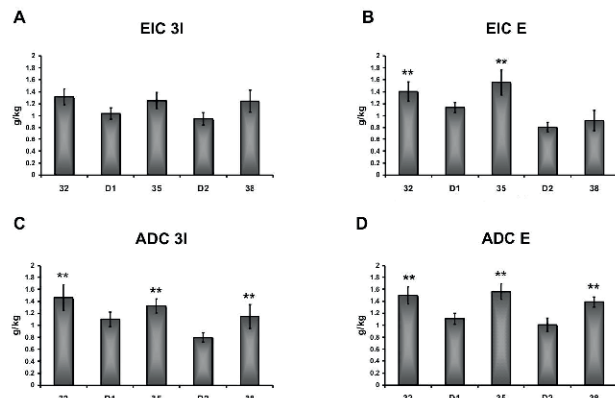


Figure 2. Alcohol consumption (mean \pm SE) shown by subjects in the different groups during the 8 min period without previous sexual interaction: 33-34 (D1), 36-37 (D2) and post-sexual interaction (days 32, 35 and 38). ** $p < 0.01$ compared to days D1 and D2.

Copulatory parameters

No significant differences were found in ML, IL, EL and HR with respect to the sexual interaction recorded for the basal condition and days 32, 35 and 38. As expected, the number of mounts shown by subjects during the basal sexual recording test was significantly higher than those shown on days 32, 35 and 38 by EIC 3I [$F(3,56) = 8.27$, $p \leq 0.0001$], EIC E [$F(3,56) = 4.64$, $p \leq 0.0057$] and ADC 3I [$F(3,56) = 8.67$, $p \leq 0.0001$] (Figures 3 A,B,C).

Subjects in the EIC E group showed a higher number of intromissions during the basal sexual interaction recording compared to days 32, 35 and 38 [$F(3,56) = 11.77$, $p \leq 0.0000$]; whereas subjects in ADC E showed no significant change

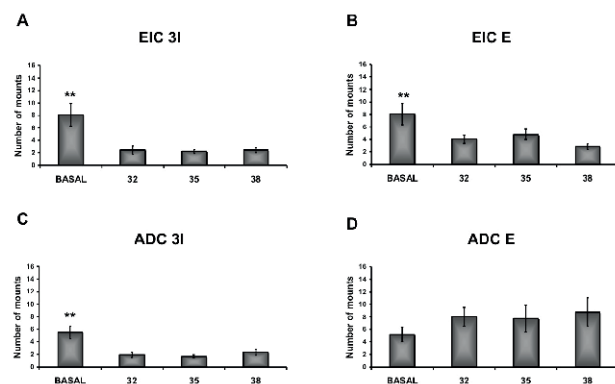


Figure 3. Number of mounts (mean \pm SE) shown by subjects in the different groups on the day of the basal ad libitum sexual activity test and on days 32, 35 and 38. ** $p < 0.01$ as compared to days 32, 35 and 38.

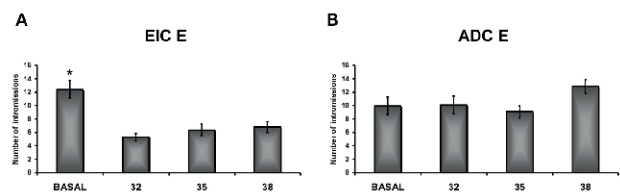


Figure 4. Number of intromissions (mean \pm SE) shown by subjects in groups EIC E and ADC E on the days of basal sexual interaction recording, and days 32, 35 and 38. * $p < 0.01$ as compared to days 32, 35 and 38.

es in this copulatory parameter compared to the later recording days (Figures 4 A, B).

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first study to evaluate the effect of different types of sexual interaction on alcohol consumption in male rats. The conditions of *ad libitum* copulation up to 3 intromissions and until ejaculation, and the enforced interval copulation with ejaculation, all produced clear increases in ethanol consumption compared to the condition of enforced interval copulation up to 3 intromissions.

Enforced interval copulation (EIC), as described and evaluated by Larsson in 1956, consists in repeated interruptions of copulation by establishing fixed intervals of time between each intromission that the male rat performs during its sexual interaction. This manipulation of male rats' sexual interaction results in a reduction in the number of intromissions required to reach ejaculation, and has been associated with restlessness, motor-hyperactivity, excitement, and inter-male aggression. The behavioral results of the present study agree with Larson's reports, as the males that were subjected to EIC needed a lower number of intromissions to reach ejaculation and, although motor-hyperactivity and excitement were not specifically measured in this work, all males that were subjected to EIC up to 3 intromissions or ejaculation manifested this aroused state during the periods in which the female was removed.

The male rats that were exposed to copula *ad libitum* up to 3 intromissions or to ejaculation were those that showed the largest increases in

alcohol consumption during the three recording days; whereas the subjects in the EIC-to-ejaculation group showed increased consumption only on recording days 32 and 35. Increases in alcohol intake were evident with respect to the intermediate days without sexual interaction, and it was possible to replicate those results over several days. On the intervening days, when the males were not subjected to sexual interaction, water intake increased; whereas on the days when the different types of sexual interaction were allowed, the males showed an increase in alcohol consumption.

No easy explanations are available for these results, though it may be that the neurochemical changes that occur in relation to copulatory behavior will help to elucidate them. One of the main hormonal changes associated with sexual behavior is activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (Mason 1972). In fact, it has been shown that the adrenal axis is activated in different copulatory conditions, such as when males are exposed to the mere presence of a receptive female even without physical contact, and when they are allowed to mate *ad libitum* (Bonilla-Jaime *et al.* 2006). An increase in corticosterone levels has been associated with sniffing (Morely & Levine 1982), exploratory behavior (Takahashi *et al.* 1989), attention, motivation (DeWied 1980), alerting (Vazquez-Palacios *et al.* 2001), and an intensification of the reinforcing properties of substances of abuse (Goeders 2002, for a review). There is also evidence that glucocorticoid secretion may exert positive hedonic effects. The reinforcing effects of corticosterone may be mediated by the dopaminergic mesocorticolimbic system, since these neurons contain corticosteroid receptors (Harfstrand *et al.* 1986) and are considered a substrate for the reinforcing effects of various substances of abuse (Goeders 2002; Fernandez-Espejo 2002). In turn, many positively-reinforced activities, including feeding and mating, are associated with elevated secretion of glucocorticoids (Dallman *et al.* 2004; Laugero 2001; Frye *et al.* 1996).

Coolen *et al.* 2004, showed that sexual behavior consisting of only one copulatory series leading to ejaculation induced activation of μ -opioid receptors in the medial preoptic area,

which tested the hypothesis that sexual behavior is a biological stimulus for the release of endogenous opioid peptides. Their data are supported by pharmacological manipulations in which the injection of μ -opioid agonists into the VTA increases male sexual behavior (Mitchell & Stewart 1990), while naloxone extends the post-ejaculatory interval (Szechtman *et al.* 1981; Van Furth *et al.* 1994; Van Furth & Van Ree 1996) and inhibits the resumption of mating in sexually-sated males after re-introduction of a female (Miller & Baum 1987). In addition, naloxone blocks the expression of ejaculation-induced place preference (Ágmo & Berenfeld 1990; Mehrara & Baum 1990), indicating that opioids also play a role in the reward-related aspects of sexual behavior. In addition, it has been found that opioid agonists can increase other rewarding behaviors, such as feeding. For example, injections of μ -opioid agonists into the VTA increase eating (Hamilton & Bozarth 1988), whereas naloxone has the opposite effect (Sanger *et al.* 1983; Yeomans & Gray 1997). Similar results have been obtained with water (Goodwin *et al.* 2001; Holter & Spanagel 1999; Carey *et al.* 1981) and alcohol intake behaviors (Juárez & Barrios de Tomasi 2007).

As mentioned previously, it is generally accepted that sexual behavior is rewarding (Whalen 1961), a circumstance that may be due to the liberation of opioid peptides during copulatory behavior. Thus, it is possible that in the present experiment, the rewarding properties of the opioids released during sexual interaction are responsible for the subsequent increases in alcohol intake that were seen immediately after the ejaculation (with or without EIC) and intromission responses in the *ad libitum* conditions.

Many lines of evidence indicate that the dopaminergic mesoaccumbens system is activated by both natural and artificial rewards, and causes an increase in dopamine (DA) levels in the Acc. It is also thought that this DA activity mediates appetitive or approach behaviors triggered by incentive stimuli associated with rewards (Ikemoto & Panksepp 1999; Berridge & Robinson 1998; Blackburn *et al.* 1992). Damsma *et al.* 1992, and various other authors (Pfaus *et al.* 1990; Pleim *et al.* 1990; Wenkstern *et al.* 1993; Hull *et al.* 1993; Fiorino *et al.* 1997, have shown that DA

levels increase in such structures as the Accumbens nucleus (Acc) and ventral tegmental area (VTA) in relation to pre-copulatory and copulatory behaviors. Moreover, certain microdialysis studies have indicated that extracellular DA in the Acc increases when male rats are exposed to inaccessible receptive females (Pfaus *et al.* 1990; Wenkstern *et al.* 1993), and rises even more during copulation (Pleim *et al.* 1990; Damsma *et al.* 1992; Wenkstern *et al.* 1993).

There is a close relationship between the opioid and DA systems. It is well known that the activation of μ -opioid receptors in the VTA leads to an increased release of DA in the accumbens (Spanagel *et al.* 1990; Devine *et al.* 1993). Furthermore, the repeated stimulation of μ -opioid receptors in the VTA leads to a progressive increase in DA-mediated behaviors (such as feeding and sexual activity) and in extracellular DA activity in the Accumbens (Kalivas & Stewart 1991). Intromission and ejaculation responses constitute the consummatory components of male sexual behavior, which induce a reward state that, it has been suggested, results from increased levels of dopamine (Pfaus *et al.* 1990; Spanagel *et al.* 1990; Wenkstern *et al.* 1993; Hull *et al.* 1993; Devine *et al.* 1993, and endogenous opioids in several brain structures (Szechtman *et al.* 1981; Ågmo & Berenfeld 1990). Thus, it is probable that the increased activation of the opioids and DA systems associated with the consummatory acts of sexual behavior could generate a physiological state that increases the motivation for alcohol consumption in male rats.

Another possible explanation is that as a result of the increases in opioid and DA transmission induced by sexual activity, the incentive salience of alcohol is greater and may potentialize the reinforcing properties of ethanol. Certain studies have demonstrated that events that increase extracellular levels of DA in the nucleus accumbens septi (NAS), such as shocking or pinching the tails of rats (Louilot *et al.* 1986; D'Angio *et al.* 1987; Abercrombie *et al.* 1989; Bertolucci-D'Angio *et al.* 1990), induce the performance of motivated behaviors such as feeding (Antelman & Szechtman, 1975; Antelman *et al.* 1975 b and sexual activity (Sachs & Barfield 1974; Antelman *et al.* 1975a; Wang & Hull 1980; Meisel *et*

al. 1980; Leyton & Stewart 1990. One interpretation of these observations is that shocking or pinching the tails of rats increases males' state of readiness to respond to incentive stimuli, such that in the presence of an estrous female, or food, this enhanced readiness results in heightened motivation, thus facilitating sexual or feeding behavior. Moreover, it has been shown that certain rewarding behaviors affect the subsequent performance of other natural or "artificial" rewarding behaviors (Antelman & Szechtman 1975; Antelman *et al.* 1975. In the present study, all animals were subjected to an induction process for voluntary alcohol consumption that allowed them to become familiarized with the taste and effects of ethanol, such that it became a reinforcing stimulus. In this sense, it is probable that consummatory sexual acts (mainly when performed without interruption), increase the state of readiness in males to respond to the incentive value of alcohol, thus increasing intake.

Other neurotransmitters have also been implicated in modulating the male rat's sexual behavior; for example, it is known that the concentration of GABA increases more than 1000% in the cerebrospinal fluid after ejaculation (Fernandez-Guasti *et al.* 1986; Paredes & Ågmo 1992). Similarly, an increase in serotonin synthesis in the neostriatum and nucleus accumbens has been found in relation to sexual behavior (Ahlenius *et al.* 1987). Thus, it is likely that the complex interaction among the different neurotransmitters that are released in relation to consummatory sexual acts could generate a major motivation for alcohol consumption by increasing its incentive value and/or the reward value from its consumption. The conditions of this experiment do not allow us to determine whether greater alcohol consumption was associated with increases in different brain neurotransmitters; however, this suggestion is plausible if we take into account the suggestion that various neurotransmitters seem to orchestrate the recompensing profile in relation to ethanol and, therefore, influence the search conduct for that drink (Porrino *et al.* 1998; Kiianmaa *et al.* 2003).

In conclusion, alcohol consumption was only affected by those types of sexual interaction characterized by reaching ejaculation or *ad libi-*

rum copulation up to 3 intromissions; *i.e.*, in the conditions in which the male rats reached the major rewarding state. Thus, these data suggest that alcohol consumption is sensitive to the type of sexual interaction and, hence, to the motivational/arousal state that the male rat experienced prior to exposure to alcohol.

Additional research is required, particularly concerning the pharmacological manipulation and simultaneous measures of the different brain neurotransmitters in order to discern whether the different types of sexual interaction are related to increased or decreased levels and if these, in turn, are related to changes in alcohol consumption; data that could help explain the neurochemical basis of these results. ❖

References

- ABERCROMBIE, E.D., K.A. KEEFE, D.S. DIFRISCHIA & M.J. ZIGMOND. 1989.** Differential effect of stress on in vivo dopamine release in striatum, nucleus accumbens, and medial frontal cortex. *Journal of Neurochemistry* **52**: 1655–1658.
- ÁGMO, A. & R. PAREDES. 1988.** Opioids and sexual behavior in the male rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* **30**: 1021–1034.
- ÁGMO, A. & R. BERENFELD. 1990.** Reinforcing properties of ejaculation in the male rat: role of opioids and dopamine. *Behavioral Neuroscience* **104**: 177–182.
- AHLENIUS, S., A. CARLSSON, V. HILLEGART, S. HJORTH & K. LARSSON. 1987.** Region-selective activation of brain monoamine synthesis by sexual activity in the male rat. *European Journal of Pharmacology* **144**: 77–82.
- ANELMAN, S.M. & H. SZECHTMAN. 1975.** Tail pinch induces eating in sated rats which appears to depend on nigrostriatal dopamine. *Science* **189**: 731–733.
- ANELMAN, S.M., J.R. HERNDON, A.R. CAGGIOLA & D.H. SHAW. 1975A.** Dopamine-receptor blockade: Prevention of shock-activated sexual behavior in naïve rats. *Psychopharmacology Bulletin* **11**: 45–46.
- ANELMAN, S.M., H. SZECHTMAN, P. CHIN & A.E. FISHER. 1975B.** Tail pinch-induced eating, gnawing and licking behavior in rats: Dependence on the nigrostriatal dopamine system. *Brain Research* **99**: 319–337.
- BERRIDGE, K. & T. ROBINSON. 1998.** What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning or incentive salience? *Brain Research Reviews* **28**: 309–369.
- BERTOLUCCI-D'ANGIO, M., A. SERRANO & B. SCATTON. 1990.** Mesocorticolimbic dopaminergic systems and emotional states. *Journal of Neuroscience Methods* **34**: 135–142.
- BLACKBURN, J., J. PFAUS & A. PHILLIPS. 1992.** Dopamine functions in appetitive and defensive behaviors. *Progress in Neurobiology* **39**: 247–279.
- BOLAND, B.D. & D.A. DEWSBURY. 1971.** Characteristics of sleep following sexual activity and wheel running in male rats. *Neuroscience Letters* **6**: 145–149.
- BONILLA-JAIME, H., G. VÁZQUEZ-PALACIOS, M. ARTEAGA-SILVA & S. RETANA-MÁRQUEZ. 2006.** Hormonal responses to different sexually related conditions in male rats. *Hormones and Behavior* **49**: 376–382.
- CAREY, M.P., J.A. ROSS & M.P. ENNS. 1981.** Naloxone suppresses feeding and drinking but no wheel running in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **14**: 569–571.
- COOLEN, L.M., M.E. FITZGERALD, L. YU & M.N. LEHMANN. 2004.** Activation of μ -opioid receptors in the medial preoptic area following copulation in male rats. *Neuroscience* **124**: 11–21.
- D'ANGIO, M., A. SERRANO, J.P. RIVY & B. SCATTON. 1987.** Tail-pinch stress increases extracellular DOPAC levels (as measured by *in vivo* voltammetry) in the rat nucleus accumbens but not frontal cortex: Antagonism by diazepam and zolpidem. *Brain Research* **409**: 169–174.
- DALLMAN, M.F., S.E. LA FLEUR, N.C. PECORARO, F. GOMEZ, H. HOUSHYAR & S.F. AKANA. 2004.** Minireview: Glucocorticoids-food intake, abdominal obesity, and wealthy nations in 2004. *Endocrinology* **145**: 2633–2638.
- DAMSMA, G., J. PFAUS, D. WENKTERN, A. PHILLIPS & H. FIBIGER. 1992.** Sexual behavior increases dopamine transmission in the nucleus accumbens and striatum of male rats: Comparison with novelty and locomotion. *Behavioral Neuroscience* **106**: 181–191.
- DEVINE, D.P., P. LEONE, D. POCOCK & R.A. WISE. 1993.** Differential involvement of ventral tegmental μ , δ and κ opioid receptors in modulation of basal mesolimbic dopamine release: in vivo microdialysis studies. *Journal of Pharmacology*

- macology and Experimental Therapeutics* 266: 1236–1246.
- DEWIED, D. 1980.** Pituitary–adrenal system hormones and behavior. En: H. SELYE (Ed.). *Selye's Guide to Stress Research* 1: 252–279. New York: Van Nostrand Reinhold.
- DI CHIARA, G., E. ACQUAS & E. CARBONI. 1998.** Drug Motivation and abuse: A neurobiological perspective. En KALIVAS PW, SAMSON HH. (Eds.). *The Neurobiology of Drug and Alcohol Addiction*. Pp. 207–219. New York: New York Academy of Sciences.
- FERNANDEZ-ESPEJO, E. 2002.** Neurobiological basis of drug addiction. *Revista de Neurología* 34: 659–664.
- FERNANDEZ-GUASTI, A., K. LARSSON & C. BEYER. 1986.** GABAergic control of masculine sexual behavior. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 24: 1065–1070.
- FERNANDEZ-GUASTI, A., G. ROLDÁN-ROLDÁN & A. SALDÍVAR. 1989.** Reduction in anxiety after ejaculation in the rat. *Behavioral Brain Research* 32: 23–29.
- FIORINO, D.F., A. COURY & A.G. PHILLIPS. 1997.** Dynamic changes in nucleus accumbens dopamine efflux during the Coolidge effect in male rats. *Journal of Neuroscience* 17: 4849–4855.
- FRYE, C.A., C.M. MCCORMICK, C. COOPERSMITH & M.S. ERSKINE. 1996.** Effects of paced and non-paced mating stimulation on plasma progesterone: 3 Alphadiol and corticosterone. *Psychoneuroendocrinology* 21: 431–439.
- GOEDERS, N.E. 2002.** The HPA axis and cocaine reinforcement. *Psychoneuroendocrinology* 27: 13–33.
- GOODWIN, F.L., M. CAMPISI, I. BABINSKA & Z. AMIT. 2001.** Effects of naltrexone on the intake of ethanol and flavored solutions in rats. *Alcohol* 25: 9–19.
- HAMILTON, M.E. & M.A. BOZARTH. 1988.** Feeding elicited by dynorphin (1-13) microinjections into the ventral tegmental area. *Life Science* 43: 941–946.
- HARFSTRAND, A., K. FUXE, A. CINTRA, L.F. AGNATI, I. ZINI, A.C. WIKSTROM, S. OKRET, Z.Y. YU, M. GOLDSTEIN & H. STEINBUSCH. 1986.** Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 83: 9779–9783.
- HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., M.A. GUEVARA, G. MORALÍ & M. CERVANTES. 1997.** Subcortical multiple unit activity changes during rat male sexual behavior. *Physiology and Behavior* 61: 285–291.
- HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., M.A. GUEVARA, M. CERVANTES, G. MORALÍ & M. CORSI-CABRERA. 1998.** Characteristic frequency bands of the cortico-frontal EEG during the sexual interaction of the male rat as a result of factorial analysis. *Journal of Physiology-Paris* 92: 43–50.
- HERNÁNDEZ-GONZÁLEZ, M., C. PRIETO-BERACOECHA, M. ARTEAGA-SILVA & M.A. GUEVARA. 2007.** Different functionality of the medial and orbital prefrontal cortex during a sexually motivated task in rats. *Physiology and Behavior* 90: 450–458.
- HOLTER, S.M. & R. SPANAGEL. 1999.** Effects of opiate antagonists treatment on the alcohol deprivation effect in long-term ethanol-experienced rats. *Psychopharmacology* (Berlin) 145: 360–369.
- HORIO, T., T. SHIMURA, M. HANADA & M. SHIMOKOCHI. 1986.** Multiple unit activities recorded from the medial preoptic area during copulatory behavior in freely moving male rats. *Neuroscience Research* 3: 311–320.
- HULL, E.M., R.C. EATON, J. MOSES & D. LORRAIN. 1993.** Copulation increases dopamine activity in the medial preoptic area of male rats. *Life Science* 52: 935–940.
- IKEMOTO, S. & J. PANKSEPP. 1999.** The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Research Reviews* 31: 6–41.
- JIMÉNEZ-ANGUIANO, A., M. ARTEAGA-SILVA & J. VELÁSQUEZ-MOCTEZUMA. 2002.** Masculine sexual activity affects slow wave sleep in golden hamsters. *Brain Research Bulletin* 59: 429–432.
- JUÁREZ, J. & E. BARRIOS DE TOMASI. 2007.** Alcohol consumption is enhanced after naltrexone treatment. *Alcohol Clinical and Experimental Research* 31: 260–264.
- KACZMAREK, H.J. & S.W. KIEFER. 2000.** Microinjections of dopaminergic agents in the nucleus accumbens affect ethanol consumption but not palatability. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 66: 307–312.
- KAGAN, J. 1955.** Differential reward value of incomplete and complete sexual behavior. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 48: 59–64.

- KALIVAS, P.W. & J. STEWART. 1991.** Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Research Reviews* **16**: 223–244.
- KIIANMAA, K., P. HYYTIÄ, H.H. SAMSON, J.A. ENGEL, L. SVENSSON, B. SÖDERPALM, A. LARSSON, G. COLOMBO, G. VACCA, D.A. FINN, R.K. BACHTTELL & A.E. RYABININ. 2003.** New neuronal networks involved in ethanol reinforcement. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **27**(2): 209–219.
- KOOB, G.F. 1992.** Neural mechanisms of drug reinforcement. *Annals of the New York Academy of Science* **654**: 171–191.
- KURTZ, R. & N. ADLER. 1973.** Electrophysiological correlates of copulatory behavior in the male rat: Evidence for a sexual inhibitory process. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* **84**: 225–239.
- LARSSON, K. 1956.** *The effect of enforced intervals in the series of copulations.* Doctoral Thesis. Almqvist & Wiksell.
- LAUGERO, K.D. 2001.** A new perspective on glucocorticoid feedback: relation to stress, carbohydrate feeding and feeling better. *Journal of Neuroendocrinology* **13**: 827–835.
- LEYTON, M. & J. STEWART. 1990.** Blockade of tail pinch-induced sexual behavior by naloxone and pimozide in male rats. *Conference of Reproductive Behavior* **22**: 85 (Abstract).
- LOUILOT, A., M. LEMOAL & H. SIMON. 1986.** Differential reactivity of dopaminergic neurons in the nucleus accumbens in response to different behavioral situations. An in vivo voltammetry study in free moving rats. *Brain Research* **397**: 395–400.
- MASON, J.W. 1972.** Organization of psychoendocrine mechanisms. En GRENFIELD, N.S. & R.A. STERNBACH (Eds.). *Handbook of Psychophysiology* Pp. 3–91. New York: Holt Rinehart and Winston.
- MEERLO, P. & F.W. TUREK. 2001.** Effects of social stimuli on sleep in mice: non-rapid-eye movement (NREM) sleep is promoted by aggressive interaction but not by sexual interaction. *Brain Research* **907**: 84–92.
- MEHRARA, B.J. & M.J. BAUM. 1990.** Naloxone disrupts the expression but not the acquisition by male rats of a conditioned place preference response for an oestrous female. *Psychopharmacology (Berlin)* **101**: 118–125.
- MEISEL, R.L., A.R. LUMIA & B.D. SACHS. 1980.** Effects of olfactory bulb removal and flank shock on copulation in male rats. *Physiology and Behavior* **25**: 383–387.
- MEISEL, R.I. & B.D. SACHS. 1994.** The physiology of male sexual behavior. En: E.M. KNOBILL & J.D. NELLY (Comps.). *The physiology of reproduction* (2 ed.) Pp. 3–105. New York: Traven Press.
- MENDEZ, M., M. LERICHE & J.C. CALVA. 2001.** Acute ethanol administration differentially modulates μ opioid receptors in the rat meso-accumbens and mesocortical pathways. *Molecular Brain Research* **94**: 148–156.
- MILLER, R.L. & M.J. BAUM. 1987.** Naloxone inhibits mating and conditioned place preference for an estrous female in male rats soon after castration. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **26**: 781–789.
- MITCHELL, J.B. & J. STEWART. 1990.** Facilitation of sexual behaviors in the male rat associated with intra-VTA injections of opiates. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **35**: 643–650.
- MORELY, J.E. & A.S. LEVINE. 1982.** Corticotrophin-releasing factor, grooming and ingestive behavior. *Life Sciences* **31**: 1459–1464.
- PEREDES, R.L. & A. ÁGMO. 1992.** GABA and behavior: The role of receptor subtypes. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* **16**: 145–170.
- PFAUS, J., G. DAMSMA, G. NOMIKOS, D. WENKSTERN, C. BLAHA, A. PHILLIPS & H. FIBIGER. 1990.** Sexual behavior enhances central dopamine transmission in the male rat. *Brain Research* **530**: 345–348.
- PLEIM, E., J. MATOCHIK, R. BARFIELD & S. AUERBACH. 1990.** Correlation of dopamine release in the nucleus accumbens with masculine sexual behavior in rats. *Brain Research* **524**: 160–163.
- PORRINO, L.J., C.T. WHITLOW & H.H. SAMSON. 1998.** Effects of the self-administration of ethanol and ethanol/sucrose on rates of local cerebral glucose utilization in rats. *Brain Research* **791**: 18–26.
- QURESHI, G. A. & P. SODERSTEN. 1986.** Sexual activity alters the concentration of amino acids in the cerebrospinal fluid of male rats. *Neuroscience Letters* **70**: 374–378.
- SACHS, B.D. & R.J. BARFIELD. 1974.** Copulatory behavior of male rats given intermittent electric shocks: theoretical implications. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* **86**: 607–615.

- SANGER, D.J., P.S. MCCARTHY, J.A. LORD & C.F. SMITH. 1983.** The anorectic properties of opiate antagonists. *Drug Development Research* **3**: 137–142.
- SPANAGEL, R., A. HERTZ & T.S. SHIPPENBERG. 1990.** The effects of opioid peptides on dopamine release in the nucleus accumbens: An in vivo microdialysis study. *Journal of Neurochemistry* **55**: 1734–1740.
- SZECHTMAN, H., M. HERSHKOWITZ & R. SIMANTOV. 1981.** Sexual behaviour decreases pain sensitivity and stimulates endogenous opioids in male rats. *European Journal of Pharmacology* **70**: 279–285.
- TAKAHASHI, L.K., N.H. KALIN, J.A. VANDEN BURGST & J.E. SHERMAN. 1989.** Corticotropin-releasing factor modulates defensive-withdrawal and exploratory behavior in rats. *Behavioral Neuroscience* **103**: 648–654.
- TIZABI, Y., J.R. COPELAND, V.A. LOUIS & R.E. TAYLOR. 2002.** Effects of combined systemic alcohol and central nicotine administration into ventral tegmental area on dopamine release in the nucleus accumbens. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **26**: 304–399.
- ULM, R.R., J.R. VOLPICELLI & L.A. VOLPICELLI. 1995.** Opiates and alcohol self-administration in animals. *Journal of Clinical Psychiatry* **56**: 5–14.
- VAN FURTH, W.R. & J.M. VAN REE. 1996.** Sexual motivation: Involvement of endogenous opioids in the ventral tegmental area. *Brain Research* **729**: 20–28.
- VAN FURTH, W.R., I.G. WOLTERINK-DONSELAAR & J.M. VAN REE. 1994.** Endogenous opioids are differentially involved in appetitive and consummatory aspects of sexual behavior of male rats. *American Journal of Physiology* **266**: R606–613.
- VÁZQUEZ-PALACIOS, G., H. BONILLA-JAIME, S. RETANA-MÁRQUEZ & J. VELÁZQUEZ-MOCTEZUMA. 2002.** Copulatory activity increases slow-wave sleep in the male rat. *Journal of Sleep Research* **11**: 237–245.
- VÁZQUEZ-PALACIOS, G., S. RETANA-MÁRQUEZ, H. BONILLA-JAIME & J. VELÁZQUEZ-MOCTEZUMA. 2001.** Further definition of the effect of corticosterone on the sleep–wake pattern in the male rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **70**: 305–310.
- WANG, L. & E.M. HULL. 1980.** Tail pinch induces sexual behavior in olfactory bulbectomized male rats. *Physiology and Behavior* **24**: 211–215.
- WENKSTERN, D., J., PFAUS & H. FIBIGER. 1993.** Dopamine transmission increases in the nucleus accumbens of male rats during their first exposure to sexually receptive female rats. *Brain Research* **618**: 41–46.
- WHALEN, R.E. 1961.** Effects of mounting without intromission and intromission without ejaculation on sexual behavior and maze learning. *Journal of Comparative & Physiological Psychology* **54**: 409–415.
- WOLFFGRAMM, J. & A. HEYNE. 1995.** From controlled drug intake to loss of control: the irreversible development of drug addiction in the rat. *Behavioral Brain Research* **70**: 77–94.
- YEOMANS, M.R. & R.W. GRAY. 1997.** Effects of naltrexone on food intake and changes in subjective appetite during eating: evidence for opioid involvement in the appetizer effect. *Physiology and Behavior* **62**: 15–21.
- YOSHIMOTO, K., W.J. MCBRIDE, L. LUMENG, T.K. LI. 1991.** Alcohol stimulates the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens. *Alcohol* **9**: 17–22.
- YOSHIMOTO, K., K. YAYAMA, M. OGATA, A. NISHIMURA, T. YOSHIDA, S. UEDA & S. KOMURA. 1996.** Possibility of 5-HT₃ receptor involvement in alcohol dependence: a microdialysis study of nucleus accumbens dopamine and serotonin release in rats with chronic alcohol consumption. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* **20**: 311A–319A.

Evaluación de biofertilizantes líquidos en la producción de elote y grano en maíz

Gilberto Vázquez Gálvez[✉], Rebeca Flores Magallón y Luis Fernando Ceja Torres

Instituto Politécnico Nacional.

CIIDIR-Unidad Michoacán. Justo Sierra No 28. C.P. 59510. Jiquilpan, Michoacán.

✉ givazquez@ipn.mx

Citar

Resumen

Con el propósito de evaluar el efecto de fertilizantes químicos y un biofertilizante a base de guano de murciélago (Aboguano) y otro derivado de la fermentación anaeróbica de materia orgánica (Supermagro) sobre el rendimiento de elote y grano en el cultivo del maíz, se llevó a cabo una investigación en la localidad de La Sauceda, municipio de Zamora, Michoacán. Se utilizó un diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Se encontró que ninguno de los biofertilizantes y su mezcla aplicados al suelo o al follaje, superó en rendimiento de elote y grano al fertilizante químico. En todos los tratamientos en los que se utilizó éste produjeron numérica y estadísticamente en promedio 5.7 veces más elote (20 374 contra 3 520 ton ha⁻¹) y 4.7 veces más grano (5 503 contra 1 150 ton ha⁻¹) en comparación de los tratamientos donde se emplearon vía foliar y al suelo los biofertilizantes Aboguano y Supermagro solos o combinados. Ello se asoció a una reducción significativa ($p \leq 0.5$), de la altura de planta, tamaño de elote y de mazorca y a deficiencias nutricionales, que por su diagnóstico visual, se atribuyen a la escasez o falta de nitrógeno.

Palabras clave: *Zea mays*, biofertilizantes, aboguano, supermagro, fertilizante químico.

Abstract

This study was conducted in order to evaluate and compare the effect of chemical fertilizers, a biofertilizer based on bat guano (*Aboguano*), and another derived from the anaerobic fermentation of organic matter (*Supermagro*), on cob and kernel yields in corn cultivation. The study site was La Sauceda, municipality of Zamora, Michoacán, and the experiment used a completely randomized block design with four replications. None of the biofertilizers or mixtures applied to the soil or foliage out-yielded corn production compared to the chemical fertilizer. All treatments in which the chemical fertilizer was used produced, both numerically and statistically, an average of 5.7 times more cobs (20,374 vs. 3,520 tons/ha⁻¹) and 4.7 times more kernels (5,503 vs. 1,150 tons/ha⁻¹) than the treatments in which the biofertilizers, *Aboguano* and *Supermagro* –alone or in combination– were applied to the foliage and soil. Moreover, the latter treatments were associated with significant reductions ($p \leq 0.5$) in plant height, the size of the ears, and nutritional qualities. Visual diagnosis suggests that these results are attributable to a lack of nitrogen.

Keywords: *Zea mays*, biofertilizers, Aboguano, Supermagro, chemical fertilizers.

Introducción

En los pasados 50 años la producción global de cereales se duplicó a causa de la utilización de fertilizantes químicos, agua, pesticidas y nuevas variedades. Sin embargo, se sabe que estos insumos agrícolas afectan de manera negativa la fertilidad del suelo a través de la pérdida de nutrientes y materia orgánica, erosión, salinidad, y contaminación del ambiente (Tilman *et al.* 2002, Gregory *et al.* 2002; Stoate *et al.* 2009).

Se conoce además, que la mayoría de los fertilizantes químicos que se usan en nuestro país son importados y debido a la disparidad entre el actual tipo de cambio del peso frente al dólar y al aumento sostenido del precio del petróleo, estos fertilizantes tienden a aumentar su costo y por ello, son cada vez menos accesibles para los productores.

Ante el deterioro de los recursos naturales que se aprovechan para la producción agrícola convencional, y por la razón del alto costo de los fertilizantes, es necesario identificar y valorar alternativas de nutrición vegetal que mejoren y conserven los recursos naturales, los ingresos y las condiciones de vida de los productores agrícolas, y utilizar de manera racional los fertilizantes químicos y promover el uso de fuentes orgánicas a fin de incrementar los rendimientos de los cultivos (Masclaux-Daubresse *et al.* 2008; Fageria *et al.* 2011).

Hoy día se están desarrollando nuevas alternativas de manejo dentro de la agricultura, entre ellas está la utilización de productos orgánicos llamados biofertilizantes líquidos que se aplican tanto al follaje como a la parte radicular de la planta. Ellos son productos que resultan de la fermentación anaeróbica de materia orgánica de origen animal y vegetal, y su mayor importancia como fertilizante radica, más que en las cantidades de nutrimentos, en la diversidad de su composición mineral. Sin embargo, existe mucha inconsistencia del efecto de estos materiales sobre la producción de cultivos (Marini & Marinho 2011; Junior *et al.* 2008). Al parecer, no satisfacen las necesidades nutricionales de la planta, sobre todo de nitrógeno (Rodrigues *et al.* 2009) porque no contienen las cantidades que las plan-

tas necesitan para su óptimo desarrollo. No obstante, es importante valorar la eficacia de estos productos, que pueden ser un complemento de los fertilizantes químicos para la producción de los cultivos agrícolas. Por esto, el propósito de esta investigación fue evaluar el efecto de biofertilizantes foliares y radiculares y sus mezclas en el rendimiento de elote y grano en maíz.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en la localidad de La Saucedita del municipio de Zamora, Michoacán a una elevación de alrededor de 1450 m, situada a 19°30' y 20°15' N y 101°55' y 102°50' O. Según el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI 1988) el suelo que se localiza en el área es un vertisol que se caracteriza por una gran proporción de arcillas (54%), una alta capacidad de intercambio catiónico (mayor de 40 meL⁻¹/100 g de suelo) y un contenido normal de materia orgánica (2.7%). La siembra se realizó de forma manual el 11 de junio del 2010, en suelo húmedo y cuando se estableció el temporal de lluvias. Se utilizó la variedad Asgrow A7573 para evaluar el efecto de los biofertilizantes en la producción de elote, y la variedad Pioneer 30 P16 para evaluar la producción de grano. Los tratamientos probados se derivaron de la combinación de dos biofertilizantes denominados Abogvano y Supermagro, los cuales se compararon con fertilizantes químicos (Cuadro 1). El abogvano registró un pH de 4.74 y conductividad eléctrica de 19.7 mS cm⁻¹, 0.14% de Nitrógeno (N), 0.18% de Fósforo (P), y 0.79% de Potasio (K), y 6.5 de Boro (B), 29 de Hierro (Fe) y 3.8 mgL⁻¹ de Cobre (Cu). El supermagro tuvo un pH de 3.54, conductividad eléc-

Cuadro 1. Tratamientos evaluados.

Nº	Tratamiento
1	Abogvano
2	Supermagro
3	Abogvano + 50% fertilizante
4	Supermagro + 50% fertiizante
5	Abogvano + supermagro
6	100% Fertilizante
7	50% Fertilizante
8	Sin fertilizante

trica de 15.91 mS cm⁻¹, 0.27% de N, 0.42% de P y 0.59% de K, y 5.8 de B, 64.1 de Fe y 6.5 de Cu.

Se empleó diseño experimental de bloques completos al azar con cuatro repeticiones. Cada unidad experimental estuvo formada por 3 surcos de 6 metros de largo con separación de 80 cm entre sí, y se tomó como parcela útil al surco central, el cual contenía 30 plantas, de manera que la densidad de población fue de alrededor de 62 500 plantas por hectárea. Se utilizó el tratamiento de fertilización 180-60-00, y se hizo una aplicación a los 30 días después de la siembra (DDS) en la etapa juvenil en la que se suministró la mitad del nitrógeno y todo el fósforo, la otra mitad del nitrógeno se aplicó a los 60 DDS en la etapa de embuche. El tratamiento con 50% de fertilizante nitrogenado también se aplicó fraccionado en las etapas indicadas. El Aboguano se asperjó en el follaje y al suelo a una dosis de 3 litros/100 l de agua, y se hicieron dos aplicaciones, a los 37 y 66 DDS en las etapas juvenil y de embuche. Se utilizó un aspersor de mochila con boquilla para la aplicación con una cobertura total al follaje, y sin ella para el suelo. El Supermagro también se proporcionó al follaje y al suelo a los 37 y 66 DDS en las etapas juvenil y de embuche a una dosis de 5 l/100 l de agua. En la mezcla Aboguano y Supermagro (1:1 volumen:volumen), se hicieron dos aplicaciones foliares y al suelo en las etapas en que se hizo para el aboguano y el supermagro. Tanto en el experimento de producción de elote como de grano, se registraron las siguientes variables: longitud de elote o mazorca, la cual co-

rrespondió a la longitud medida en cm de cinco mazorcas o elotes tomados al azar. El diámetro de elote o mazorca igual al diámetro basal de cinco elotes o mazorcas. Rendimiento de elote, el cual resultó del peso de elotes producidos por hectárea. Peso medio de elote, igual al rendimiento de elotes dividido entre el número de ellos. El rendimiento de grano correspondió al peso de grano al 14% de humedad registrado en cada unidad experimental. Los análisis estadísticos, como son los análisis de varianza y las pruebas de medias (Tukey), se realizaron en el programa Statistical Analysis System (SAS 1992).

Resultados y discusión

Rendimiento de elote y características agronómicas

El rendimiento de elote registrado a los 106 días después de la siembra indica que todos los tratamientos en los que se aplicó fertilizante químico produjeron numérica y estadísticamente más elote con un rendimiento promedio de 20 ton/ha (Cuadro 2). Todos estos tratamientos rindieron significativamente tres veces más elote en promedio que los tratamientos en los que no se aplicó fertilizante químico. El comportamiento de las demás características agronómicas fue similar al registrado en el rendimiento de elote, en donde se observó que los tratamientos que recibieron fertilización química registraron significativamente un mayor número, longitud y peso

Cuadro 2. Efecto de biofertilizantes líquidos y fertilizante químico en el rendimiento de elote y otras características agronómicas en maíz Asgrow A 7573.

Nº	Tratamiento	Peso de elote (kg/ha)	Número de elotes/ parcela	Longitud de elote (cm)	Peso promedio de elote (g)
1	Aboguano	5202 B*	19 BC	21 B	105.6 B
2	Supermagro	2843 B	19 BC	19 B	76.8 B
3	Aboguano + 50% fertilizante	20757 A	33 A	30 A	307.7 A
4	Supermagro + 50% fertilizante	19539 A	32 A	32 A	308.3 A
5	Aboguano + supermagro	2718 B	16 C	19 B	83.45 B
6	100% Fertilizante	19856 A	28 AB	32 A	324.9 A
7	50% Fertilizante	21346 A	28 AB	32 A	352.5 A
8	Sin fertilizante	3317 B	16 C	19 B	94.7 B
	CV	16	17.93	7	13.98
	DMS	7961	10.17	4	60.7

* Cifras seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey ≤ 0.05).

de elote en comparación con los tratamientos sin fertilización.

Rendimiento de grano y características agronómicas

El rendimiento de grano registrado a los 167 días después de la siembra, con un 14% de humedad, tuvo un comportamiento similar al rendimiento de elote, ya que como se observa en el Cuadro 3, el efecto de los tratamientos con fertilización química aumentó significativamente más de cuatro veces el rendimiento de grano en comparación con los tratamientos donde se aplicaron vía foliar y al suelo los biofertilizantes Abogvano y Supermagro solos o combinados.

El comportamiento de las demás características agronómicas fue similar al registrado en el rendimiento de elote, donde se observó que los tratamientos con fertilización química registraron significativamente una mayor longitud y diámetro de mazorca en comparación con los tratamientos sin fertilización.

De acuerdo a los resultados observados en este trabajo, los biofertilizantes líquidos Abogvano y Supermagro aplicados al follaje y a la raíz solos o mezclados, registraron rendimientos de elote y de grano muy por debajo de los obtenidos en los tratamientos donde se aplicó solo o combinado fertilizante químico, lo cual indica la poca eficacia que tuvieron en este trabajo los biofertilizantes sobre las variables de rendimiento y agronómicas. Una nula respuesta a la aplicación de supermagro en el cultivo de maracuyá fue re-

portada por Rodrigues *et al.* (2009), y por Marini & Marinho (2011) para el cultivo de mandarina, lo cual se atribuye a que estos biofertilizantes no aportan las cantidades nutricionales de la planta sobre todo de nitrógeno.

Las plantas de maíz tratadas con estos biofertilizantes presentaron durante todo el ciclo del cultivo una coloración amarilla, la cual se acentuó a partir de que las plantas empezaron a florecer. Esta fue más evidente en las hojas inferiores y se asocia a una deficiencia de nitrógeno (Havlin *et al.* 2005), elemento que al no estar presente en cantidades adecuadas en las proteínas relacionadas con la fotosíntesis afectó no solo la capacidad fotosintética de las plantas deficientes, sino también su remobilización a las partes demandantes, que durante el ciclo de crecimiento del cultivo de maíz primero son las hojas en formación y posteriormente el elote y el grano (Masclaux-Daubresse *et al.* 2008). Algunos autores como Gallais & Coque (2005), Gallais *et al.* (2006), Coque & Gallais (2007), Hirel *et al.* (2007) y Coque & Gallais (2008), destacan la importancia de un adecuado contenido de nitrógeno en el cultivo de maíz en la etapa de formación de grano pues la contribución del nitrógeno que se remueve de la hoja al grano varía de un 50 a 90% en función de la variedad. Por ello, indican Ciampitti & Vyn (2012) y Fageria *et al.* (2011) en el cultivo de maíz hay una relación directa del rendimiento de grano con la aplicación de nitrógeno. Nutrimiento al cual se le atribuye hasta un 60% de la variación en este rendimiento de grano (Stewart *et al.* 2005).

Cuadro 3. Efecto de biofertilizantes líquidos y fertilizante químico en el rendimiento de grano y otras características agronómicas en maíz Pioneer 30 P16.

Nº	Tratamiento	Rendimiento de grano kg/ha	Longitud de mazorca (cm)	Diámetro de mazorca (cm)
1	Abogvano	1226 B*	8.7 B	3.8 B
2	Supermagro	733 B	8.2 B	3.6 B
3	Abogvano + 50% fertilizante	5861 A	19.9 A	4.5 A
4	Supermagro + 50% fertilizante	6196 A	15.1 A	4.5 A
5	Abogvano + supermagro	1452 B	9.8 B	3.9 B
6	100% Fertilizante	4918 A	14.7 A	4.2 A
7	50% Fertilizante	5038 A	15.9 A	4.6 A
8	Sin fertilizante	1190 B	8.0 B	3.6 B
	CV	24.61	7.7	6.1
	DMS	1942	2.2	0.5

*Cifras seguidas por la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey ≤ 0.05).

Cuadro 4. Correlación del rendimiento de elote/ha con algunos de sus componentes.

Variable	AM	APL	LE	DE	NE	PME
r	0.78090	0.89894	0.94690	0.90934	0.94486	0.97329
Probabilidad	0.0004	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001

AM=Altura de mazorca, APL=Altura de planta, LE=Longitud de elote, DE=Diámetro de elote, NE=Número de elote, PME= Peso medio de elote.

Cuadro 5. Correlación del rendimiento de grano /ha con algunos de sus componentes.

Variable	AM	APL	LM	DM	NC	PG
r	0.92209	0.92636	0.92394	0.92394	0.73607	0.50053
Probabilidad	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0035	0.0001

AM=Altura de mazorca, APL=Altura de planta, LM=Longitud de mazorca, DM=Diámetro de mazorca, NC=Número de carreras, PG=Peso de grano.

El rendimiento de elote y de grano tuvo una correlación positiva y significativa ($P \leq 0.05$) con algunos de sus componentes (Cuadros 4 y 5). Los tratamientos más productivos de elote y grano tuvieron una mayor altura de planta y de mazorca, así como un mayor tamaño de mazorca, en comparación de los tratamientos en los que se aplicó biofertilizante. En apariencia, los biofertilizantes no suministraron las cantidades adecuadas de nitrógeno. Autores como Robertson & Vitousek (2009) hicieron referencia a que el maíz requiere cerca de 260 kg/ha para producir 10 ton/ha de grano, cantidad que debe aumentarse, si se considera que la eficiencia de la fertilización nitrogenada en maíz es de tan sólo el 33% (Raun & Johnson 1999). Por ello, es posible que si se aumentara el número de aplicaciones de estos biofertilizantes, se aporte una cantidad mayor de elementos esenciales como el nitrógeno que mejore el crecimiento de las plantas y en consecuencia el rendimiento de elote y grano en el cultivo de maíz, aunque se infiere que el costo de producción también se elevaría.

Conclusiones

Bajo las condiciones en que se desarrollaron los experimentos de este trabajo, se observó un mayor rendimiento significativo de elote y grano de maíz en los tratamientos en los que se aplicó fertilizante químico en comparación con los tratamientos en que se suministraron biofertilizantes líquidos al follaje y al suelo, solos o combinados, lo cual se asoció en estos últimos a deficiencias nutrimentales, principalmente de nitrógeno.

Aparentemente las cantidades de nutrimentos aportadas por los biofertilizantes, no fueron las adecuadas para un óptimo rendimiento de elote y de grano en el cultivo de maíz; empero, es posible que si se aumentara el número de aplicaciones de estos biofertilizantes haya una mayor aportación y disponibilidad de nutrimentos y se mejore la fertilidad del suelo que favorezca la producción sostenible de maíz y se promueva el uso de biofertilizantes.

Agradecimientos

A dos revisores por sus comentarios y sugerencias para mejora el documento y a Servando Carvajal por su apoyo en la corrección de estilo. ❖

Literatura citada

- CIAMPITTI, A.I. & J.T. VYN. 2012.** Physiological perspectives of changes over time in maize yield dependency on nitrogen uptake and associated nitrogen efficiencies: A review. *Field Crops Research* **133**: 48–67.
- COQUE, M. & A. GALLAIS. 2007.** Genetic variation for nitrogen remobilization and postsilking nitrogen uptake in maize recombinant inbred lines: Heritabilities and correlations among traits. *Crop Science* **47**: 1787–1796.
- COQUE, M. & A. GALLAIS. 2008.** Genetic variation for N-remobilization and postsilking N-uptake in a set of maize recombinant inbred lines. 2. With line *per se* evaluation, comparison with testcross performance. *Maydica* **53**: 29–38.

- FAGERIA, N.K., V.C. BALIGAR & CH.A. JONES. 2011.** *Growth and mineral nutrition of field crops*. 3rd ed. CRC Press Boca Raton. Fla.
- GALLAIS, A., & M. COQUE. 2005.** Genetic variation and selection for nitrogen use efficiency in maize: a synthesis. *Maydica* 50: 531–547.
- GALLAIS, A., M. COQUE, I. QUILLÉRÉ, J.L. PRIOUL & B. HIREL. 2006.** Modelling postsilking nitrogen fluxes in maize (*Zea mays*) using ¹⁵N-labelling field experiments. *New Phytologist* 172: 696–707.
- GREGORY, P.J., J.S.I. INGRAM, R. ANDERSSON, R.A. BETTS, V. BROVKIN, T.N. CHASE, P.R. GRACE, A.J. GRAY, N. HAMILTON, T.B. HARDY, S.M. HOWDEN, A. JENKINS, M. MEYBECK, M. OLSSON, I. ORTIZ-MONASTERIO, C.A. PALM, T.W. PAYN, M. RUMMUKAINEN, R.E. SCHULZE, M. THIEM, C. VALENTIN & M.J. WILKINSON. 2002.** A Environmental consequences of alternative practices for intensifying crop production Agriculture. *Ecosystems and Environment* 88: 279–290.
- HAVLIN, L.J., J.D. BEATON, S.L. TISDALE & W.L. NELSON. 2005.** *Soil fertility and fertilizers. An introduction to nutrient management*. 7th ed. Pearson Prentice Hall. USA
- HIREL, B., J. LE GOUIS, B. NEY & A. GALLAIS. 2007.** The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. *Journal of Experimental Botany* 58: 2369–2387.
- INEGI (INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA Y GEOGRAFÍA). 1988.** *Atlas nacional del medio físico*. México.
- JUNIOR, F.R., L. FERREIRA CAVALCANTE & E. DE SOUSA BURITI. 2008.** Crescimento e produção do maracujazeiro-amarelo em solo com biofertilizantes e adubação mineral com NPK. *Revista Caatinga* 21(5): 134–145.
- MARINI, F.S. & C.S. MARINHO. 2011.** Adubação complementar para a mexeriqueira ‘Rio’ em sistema de cultivo orgânico. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 15(6): 562–568.
- MASCLAUX-DAUBRESSE, C., M. REISDORF-CREN & M. ORSEL. 2008.** Leaf nitrogen remobilization for plant development and grain filling. *Plant Biology* 10: 23–36.
- RAUN, W. & G.V. JOHNSON. 1999.** Improving nitrogen use efficiency for cereal production. *Agronomy Journal* 91: 357–363.
- ROBERTSON, G.P. & P. M. VITOUSEK. 2009.** Nitrogen in Agriculture: Balancing the Cost of an Essential Resource. *Annual Review of Environment and Resources* 34: 97–125.
- RODRIGUES, A.C., L.F. CAVALCANTE, A.P. DE OLIVEIRA, J.T. DE SOUSA & F.O. MESQUITA. 2009.** Produção e nutrição mineral do maracujazeiro-amarelo em solo com biofertilizante supermagro e potássio. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 13(2): 117–124.
- SAS (STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM). 1992.** Proprietary Software Release 6.04. Licenced to Colegio de Postgraduados, site 1339 6001. SAS Institute Inc. U.S.A.
- STEWART, W.M., D.W. DIBB, A.E. JOHNSTON & T.J. SMYTH. 2005.** The contribution of commercial fertilizer nutrients to food production. *Agronomy Journal* 97: 1–6.
- STOATE, C., A. BALDI, P. BEJA, N.D. BOATMAN, I. HERZON, A. VAN DOORN, G.R. DE SNOO, L. RAKOSYI & C. RAMWELLE. 2009.** Ecological impacts of early 21st century agricultural change in Europe. A review. *Journal of Environmental Management* 91: 22–46.
- TILMAN, D., K.G. CASSMAN, P.A. MATSON, R. NAYLOR & S. POLASKY. 2002.** Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418: 671–677.

Hábitos de alimentación, tabaquismo y consumo de alcohol en estudiantes del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias

Zoila Gómez Cruz¹, Araceli Hernández Tinoco¹, José Pablo Torres Morán² y Patricia Landeros Ramírez¹

¹Departamento de Salud Pública;
²Departamento de Desarrollo Rural Sustentable.

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez N°. 2100, La Venta del Astillero, Zapopan 45110, Jalisco, México.

✉ zoilagomezacruz@hotmail.com

Citar

Resumen

Se evaluaron hábitos de alimentación, consumo de alcohol y tabaco en 145 estudiantes elegidos al azar, de las carreras de Ingeniero Agrónomo y Medicina Veterinaria y Zootecnia del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, durante 2012. Se aplicó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, además se registraron edad, sexo, consumo de alcohol y tabaco. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante Tablas de contingencia y Prueba de X^2 . De los encuestados, 63 % (92) fueron hombres y 37 % (53) mujeres, con edades de 21 a 25 años \pm 3. Los resultados mostraron un alto consumo de proteínas a base de lácteos (95 %) y carnes (70 %) además de una baja ingesta de frutas (30 %) y verduras (44 %)

($p < 0.05$). Respecto a los hábitos de tabaquismo, 27 % son fumadores, de éstos 20 % fuma de manera habitual y 7 % ocasional. En relación al consumo de alcohol se encontró que 76 % de los encuestados, ingiere diferentes bebidas alcohólicas. Los resultados sobre los hábitos nutricionales ponen de manifiesto que existen desequilibrios en la alimentación de la población estudiada, por lo que es necesario que los estudiantes se concienticen sobre la importancia de una comida balanceada; por otra parte la ingesta de alcohol y tabaco evidencia la necesidad de implementar estrategias para disminuir su consumo.

Palabras clave: hábitos de alimentación, tabaquismo, alcohol, estudiantes.

Abstract

Food, alcohol and tobacco consumption habits were evaluated in a sample of 145 randomly-selected students from the Agronomy, Veterinary Medicine and Zootechnology programs at the University Center for Biological and Agricultural Sciences in 2012. A questionnaire on food, alcohol and tobacco consumption frequency was applied, and the age and sex of all participants were recorded. The results were analyzed statistically using contingency tables and an X^2 test ($p < 0.05$). Of the 145 respondents, 63% (n=92) were ma-

les and 37% (n=53) females, with ages ranging from 21-to-25 years. Findings showed a high intake of dairy-based proteins (95%) and meats (70%), but a low intake of fruits (30%) and vegetables (44%) ($p < 0.05$). With regards to smoking habits, 27% were smokers: 20% regular smokers, and 7% occasional smokers. In relation to alcohol consumption, the survey found that 76% of respondents ingest different alcoholic beverages. The nutritional habits observed show that food consumption in the study population is not balanced.

Therefore, it is necessary to make students aware of the importance of a balanced diet. On the other hand, the alcohol and tobacco consumption detected clearly show the need to implement strategies to reduce intake of these substances.

Keywords: eating habits, smoking, alcohol, students.

Introducción

En la actualidad los hábitos de alimentación, aunados al consumo de alcohol y tabaco se comportan como factores de riesgo asociados con enfermedades crónicas (Martínez *et al.* 2005; Fagestrom 2002; Corrao *et al.* 1999). El estado nutricional de un individuo se determina por el consumo de alimentos y por factores que influyen como disponibilidad, decisión de compra y por aspectos relacionados con el aprovechamiento biológico, entre otros (Rivera 2006).

Los hábitos de alimentación que se adquieren en la infancia pueden ocasionar ciertas enfermedades relacionadas con una malnutrición en la edad adulta como: obesidad, diabetes, hiperlipidemias y enfermedades cardiovasculares (Busdiecker *et al.* 2000) así como trastornos de conducta alimentaria y osteoporosis (Irazusta *et al.* 2007). La transición a la universidad es un periodo crítico para los jóvenes, que a menudo se enfrentan a tomar sus propias decisiones sobre el consumo de alimentos, lo que podría tener un impacto negativo en su salud. Numerosos estudios señalan que los estudiantes suelen tener malos hábitos nutricionales, consumir menor cantidad de frutas y verduras, así como una alta ingesta de grasas y calorías (Deshpande *et al.* 2009).

El consumo de tabaco representa un riesgo muy importante para la salud, y es causa de muerte prematura. El tabaquismo es responsable de 30 % de las muertes por cáncer en los países desarrollados (Fagestrom 2002; Vineis *et al.* 2004). El humo del tabaco contiene más de 4 500 sustancias que en su mayoría son tóxicas, incluyendo monóxido de carbono, amonio y sustancias cancerígenas como nitrosaminas e hidrocarburos aromáticos policíclicos, además de la nicotina que es altamente adictiva (Fagerstrom 2002; Pfeffer *et al.* 2008).

El tabaquismo se relaciona con el desarrollo de enfermedades respiratorias, cardiovasculares y gastrointestinales, así como osteoporosis, el aumento de riesgo perinatal y las neoplasias malignas en diversos órganos (pulmón, cavidad bucal, esófago, páncreas e hígado). Las personas que tienen el hábito de fumar, presentan un Índice de Masa Corporal (IMC) menor que los no fumadores, no obstante ingieran los mismos alimentos, y también tienden a consumir menor cantidad de frutas y verduras, lo cual los coloca en desventaja para enfrentar el estrés oxidativo y suelen consumir mayor cantidad de grasas saturadas, por lo que presentan concentraciones más altas de colesterol. Los fumadores pueden presentar elevaciones transitorias de glucosa e impedir la sensibilidad a la insulina, lo que incrementa el riesgo de diabetes (Pfeffer *et al.* 2008).

Por su parte, el alcohol es una sustancia adictiva que se ingiere con frecuencia por adultos jóvenes, en especial entre aquellos que acuden a la universidad (Díaz-Martínez *et al.* 2008). El consumo excesivo de alcohol se considera un grave problema de salud pública, y se asocia con los principales indicadores de morbilidad y mortalidad como: riesgo mayor de presentar úlceras gastrointestinales, pancreatitis, cirrosis y otras enfermedades hepáticas y cerebro-vasculares, hipertensión y cáncer, además de accidentes automovilísticos (León 2001). De acuerdo con los resultados de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, el 1.9 % de los adultos abusa diariamente del alcohol, 6.7 % lo hace de manera semanal, 13.0 % mensual y 21.1 % ocasional.

Con el propósito de conocer los hábitos de alimentación, consumo de tabaco y alcohol, se evaluaron alumnos del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) de la Universidad de Guadalajara (UdeG).

Materiales y métodos

El presente estudio se llevó a cabo en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, participaron alumnos de las carreras de Ingeniero Agrónomo (Agronomía) y de Medicina Veterinaria y Zootecnia (Veterinaria) durante 2012. El estudio se realizó en 145 estudiantes

elegidos al azar, de ambas carreras del turno matutino. A cada participante se le explicó el propósito del estudio, y se obtuvo el consentimiento informado.

Se utilizó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos, adaptado y validado. En él se recogió información sobre el número de raciones ingeridas de los grupos de alimentos: carnes, cereales, frutas, verduras, grasa, leche, leguminosas y azúcares; además del número de comidas realizadas al día y lugar donde acostumbran tomar el desayuno. Se registraron datos demográficos (edad y sexo) y de estilo de vida (hábitos de consumo de alcohol y tabaco). Para el análisis estadístico, se utilizaron Tablas de contingencia y Prueba de X^2 .

Resultados y discusión

La alimentación es uno de los factores que más condicionan la salud de los individuos, ejerciendo un papel primordial sobre el desarrollo físico e intelectual.

De los 145 alumnos encuestados, 63 % (92) correspondieron al sexo masculino y 37 % (53) al sexo femenino, con edades de 21 a 25 años \pm 3, sin presentar diferencia estadística ($p > 0.05$) por carrera.

El 70 % de los estudiantes, refirió comer 3 a 4 veces al día y el 30 % de 1 a 2 veces, de ellos 20 % correspondió a alumnos de Veterinaria y el resto (10 %) a Agronomía, estos resultados son similares a los reportados por diversos autores (López *et al.* 2003; López 1999) quienes señalaron que la población universitaria es un grupo vulnerable desde el punto de vista nutricional, ya que se caracteriza por saltarse comidas con frecuencia.

Se considera que la ración del desayuno es una comida importante, en especial a esta edad, por lo que se les preguntó si traían desayuno de casa, sólo el 25 % contestó que sí y 29 % mencionó que lo traía de manera ocasional. La ingesta de una comida balanceada en las primeras horas del día evita o disminuye el consumo de productos industrializados o comida rápida, que en muchas ocasiones a pesar de tener un costo bajo,

son alimentos inadecuados por el desequilibrio que presentan en cuanto a su valor nutritivo; es importante señalar que 30 % de los encuestados destina para este rubro sólo de 15 a 20 pesos diarios, lo que puede conducir al consumo de dichos alimentos.

La figura 1 muestra los lugares donde desayunan los estudiantes, y se observa que únicamente el 27 % toma sus alimentos en casa y el 62 % desayuna en la escuela.

La población estudiada presentó comportamientos muy diferentes en cuanto a sus hábitos de alimentación, predominando un alto consumo de proteínas a base de lácteos (95 %) y carnes (70 %), resultados similares a los observados por Oliveras *et al.* (2006). El 82 % de los estudiantes reportó consumir diario cereales y leguminosas. La baja ingesta de frutas (30 %) y verduras (44 %) estadísticamente significativa ($p < 0.05$) observada en este estudio, coincide con el déficit de consumo de estos alimentos reportado por Irazusta *et al.* (2007), quienes mencionan que la disminución en la ingesta de ambos grupos, es un componente importante en la etiología de ciertas patologías relacionadas al sistema cardiovascular, cánceres y alteraciones del sistema digestivo.

El 55 % de los estudiantes refirieron consumir grasas a diario; cabe señalar que aunque este resultado es bajo, pudo ser debido a que los alumnos no tienen un concepto claro sobre los diferentes tipos de grasas (de origen animal y vegetal) presentes en los alimentos.

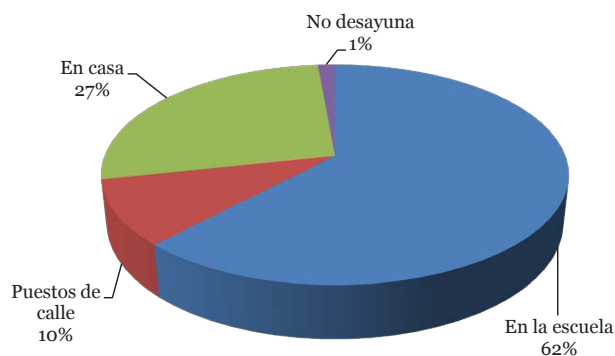


Figura 1. Lugares donde desayunan los estudiantes de las carreras de Ingeniero Agrónomo y de Medicina Veterinaria y Zootecnia del CUCBA.

Cuadro 1. Tipo de alcohol consumido entre los estudiantes de las Licenciaturas de Medicina Veterinaria y Zootecnia y de Ingeniero Agrónomo.

Licenciaturas	Consumo de alcohol	Tequila	Cerveza	Tequila-cerveza	Tequila, brandy, agua loca y alcohol	Tequila, cerveza y whisky	Tequila, cerveza y ron
Medicina Veterinaria (n= 74)	55	4	22	13	7	6	3
Ingeniero Agrónomo (n= 71)	55	3	6	30	10	6	0
Porcentaje (%)	76	5	19	30	12	8	2

Se encontró que en los estudiantes de Agromonomía, el estado de ánimo (feliz, angustiado o triste) influye de manera significativa ($p < 0.05$) en el consumo mayor de alimentos, mientras que en los alumnos de Veterinaria no se observa dicha situación.

En México, se estima que mueren 122 personas diario por circunstancias vinculadas con el tabaquismo, éste es causa probable de más de 25 enfermedades (Secretaría de Salud 2001) y algunos tipos de cáncer (mama, próstata, vejiga, colon y recto, pulmón y cavidad oral) (Lippman & Levin 2005), lo que conlleva a pérdidas económicas a sus familias y al sector salud.

Respecto a los hábitos de consumo de tabaco, esta investigación mostró que el 27 % de los alumnos son fumadores, de los cuales 20 % fuma de manera habitual y 7 % ocasional, estos datos coinciden con los publicados por Guillén *et al.* (2003) con una prevalencia de tabaquismo en universitarios de 21 %, a diferencia de Castaño *et al.* (2008), quienes encontraron que 41 % de su población estudiada presentaron este hábito.

Cuando se analizó la relación de tabaquismo y género, se observó que el 19 % de los hombres y 8 % de las mujeres tienen el hábito de fumar, datos que coinciden con Castaño *et al.* (2008) y Urquieta *et al.* (2006).

Las adicciones (alcohol y tabaco), son las principales causas de enfermedad y muerte que pueden prevenirse, sobre todo en jóvenes, por lo que es necesario plantear estrategias para disminuir su consumo.

Como se citó anteriormente, el abuso de bebidas alcohólicas, se asocia con padecimientos como cirrosis hepática, hígado graso (Bolet y So-

carrás 2003), lesiones por accidentes de vehículos a motor, dependencia y homicidios. Además los efectos del alcohol en jóvenes los hace más propensos a manifestar comportamientos de alto riesgo, como depresión, intento de suicidio y/o conductas violentas (Urquieta *et al.* 2006), de igual forma el consumo de alcohol disminuye notablemente el apetito, y se generan calorías vacías (que contienen muy poco o nada de nutrimentos), asimismo puede afectar la mucosa del sistema digestivo e impedir la absorción adecuada de los alimentos ingeridos, por lo cual se incrementa la necesidad de vitaminas en el organismo (Bolet & Socarrás 2003).

Llama la atención en este estudio el porcentaje (76 %) de estudiantes que consumen algún tipo de bebidas alcohólicas (cuadro 1), este dato difiere de lo reportado en la Encuesta Nacional de Adicciones (2011), donde la prevalencia en adultos de 12 a 65 años, fue de 51 %. En cuanto al tipo de alcohol, se observó que el 30 % tiene preferencia por el consumo de tequila y cerveza y 19 % por cerveza, no mostrando diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$), estos resultados coinciden con Beccaria & Guidonni (2002), quienes encontraron que los jóvenes italianos tienen preferencia por la cerveza.

Cuando se analizaron los resultados de la ingesta de alcohol por género, se observó que existe una mayor prevalencia en hombres (52 %) que en mujeres (24 %), datos que coinciden a los reportados por Urquieta *et al.* (2006).

Conclusiones

El elevado consumo de lácteos y carnes, así como la baja ingesta de frutas y verduras de algunos estudiantes del Centro Universitario de

Ciencias Biológicas y Agropecuarias, ponen de manifiesto una inadecuada alimentación, lo que en un futuro podría contribuir al desarrollo de ciertas enfermedades como desnutrición, sobrepeso u obesidad. Aunque no se encontró un alto porcentaje de estudiantes que consumen tabaco, es importante implementar estrategias dirigidas a la prevención de este hábito, así como establecer medidas que orienten a la población sobre los riesgos a la salud que el consumo de tabaco puede ocasionar. El porcentaje de alumnos encuestados que ingieren bebidas alcohólicas es preocupante, ya que los jóvenes en particular son una población vulnerable, además el inicio de consumo de alcohol a esta edad y el abuso del mismo, se asocian con un mayor riesgo de dependencia, por lo que es necesario implementar programas de educación para la salud. Se aclara que el tamaño de la muestra no representa a la totalidad de los alumnos del CU, por lo que se recomendaría ampliar el número de encuestados e incluir a los de las otras dos carreras. ❖

Bibliografía

- BECCARIA, F., & O. GUIDONNI. 2002.** Young people in a wet culture: Functions and patterns of drinking. *Contemporary Drug Problems* 29(2): 305–334.
- BOLET, M., & M. SOCARRÁS. 2003.** El alcoholismo, consecuencias y prevención. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 22(1): 25–31.
- BUSDIECKER, S., C. CASTILLO & I. SALAS. 2000.** Cambios en los hábitos de alimentación durante la infancia: una visión antropológica. *Revista chilena de pediatría* 71(1): 5–11.
- CASTAÑO-CASTRILLÓN, J., M. PÁEZ, J. PINZÓN, E. ROJO, G. SÁNCHEZ, R. TORRES, M. VALENCIA, C. GARCÍA & G. GALLEGU. 2008.** Estudio descriptivo sobre el tabaquismo en la comunidad estudiantil de la Universidad de Manizales 2007. *Revista de la Facultad de Medicina* 56: 302–317.
- CORRAO, G., V. BAGNARDI, A. ZAMBON & S. ARICO. 1999.** Exploring the dose-response relationship between alcohol consumption and the risk of several alcohol-related conditions a meta-analysis. *Addiction* 94: 1551–1573.
- DESHPANDE, S., M. BASIL & D. BASIL. 2009.** Factors influencing healthy eating habits among college students: an application of the health belief model. *Health marketing quarterly* 26: 145–164.
- DÍAZ-MARTÍNEZ, A., R. DÍAZ-MARTÍNEZ & C.A. HERNÁNDEZ-ÁVILA. 2008.** Prevalencia del consumo riesgoso y dañino de alcohol y factores de riesgo en estudiantes universitarios de primer ingreso. *Revista de Salud Mental* 31: 271–282.
- ENCUESTA NACIONAL DE ADICCIONES (ENA). 2011.** Reporte de Alcohol. Medina-Mora, M.E., J.A. Villatoro-Velázquez, C. Fleiz-Bautista, M.M. Téllez-Rojo, L.R. Mendoza-Alvarado, M. Romero-Martínez, J.P. Gutiérrez-Reyes, M. Castro-Tinoco, M. Hernández-Ávila, C. Tena-Tamayo, C. Alvear-Sevilla & V. Guisa-Cruz. México DF, México. Disponible en: www.inprf.gob.mx.
- ENCUESTA NACIONAL DE SALUD Y NUTRICIÓN (ENSANUT). 2012.** Resultados por entidad federativa, Morelos. Instituto Nacional de Salud Pública. Boletín de Práctica Médica Efectiva.
- FAGERSTROM, K. 2002.** The epidemiology of smoking. Health consequences and benefits of cessation. *Drugs* 62 Suppl. 2.
- GUILLÉN, D., I. NERÓN, A. MAS & A. CRUCELAEGUI. 2003.** Estudio de fiabilidad de una encuesta utilizada para valorar la prevalencia, los conocimientos y las actitudes sobre el tabaquismo en estudiantes de medicina. *Archivos de Bronconeumología* 39: 159–166.
- IRAZUSTA, A., E. DÍAZ, G. GOIKOURIA, G. OROZKO & S. HOYOS. 2007.** Alimentación de estudiantes universitarios. *Cuadernos de Ciencias Médicas* 8: 7–18.
- LEÓN, D.A. 2001.** Alcohol - the changing face of perennial problem. *International Journal of Epidemiology* 30: 653–654.
- LIPPMAN, S. & B. LEVIN. 2005.** Cancer prevention: Strong Science and Real Medicine. *Journal of Clinical Oncology* 23: 249–253.
- LÓPEZ, I., A. SÁNCHEZ, I. JOHANSSON, J. PETKEVICIENE, R. PRATTALA & M. MARTÍNEZ. 2003.** Disparities in food habits in Europe: systematic review of educational and occupational differences in the intake of fat. *Journal of Human Nutrition and Dietetics* 16(5): 349–364.
- LÓPEZ, N. 1999.** Influencia de la estructura social y familiar en el desarrollo de los hábitos alimentarios. En: *Tratado de nutrición*. Editores: Hernández, M. & A. Sastre. Pp. 1355–1365.
- MARTÍNEZ, C., P. VEIGA, A. LÓPEZ DE ANDRÉS, J. COBO & A. CARBAJAL. 2005.** Evaluación del estado nutricional de un grupo de estudiantes universita-

- rios mediante parámetros dietéticos y de composición corporal. *Nutrición Hospitalaria* **20**(3): 197–203.
- OLIVERAS, M., P. NIETO, E. AGUDO, F. MARTÍNEZ, H. LÓPEZ & M. LÓPEZ. 2006.** Evaluación nutricional de una población universitaria. *Nutrición Hospitalaria* **21**(2): 179–183.
- PFEFFER, F., M. KAUFER-HORWITZ & S. BARQUERA. 2008.** Nutrición del adulto. En: Casanueva, E., M. Kaufe-Horwitz, A. Pérez-Lizaur & P. Arroyo *Nutriología Médica*. 141–171.
- RIVERA BARRAGÁN, MARÍA DEL R. 2006.** Hábitos alimentarios en estudiantes de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. *Revista Cubana de Salud Pública* [online]. **32**(3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662006000300005&lng=es&nrm=iso. ISSN 0864–3466. [Consultado el 23/sep/2013].
- SECRETARÍA DE SALUD. 2001.** *Programa de Acción: Adicciones y Tabaquismo*. México D.F. SSA.
- URQUIETA, J., M. HERNÁNDEZ-ÁVILA, B. HERNÁNDEZ. 2006.** El consumo de tabaco y alcohol en jóvenes de zonas urbanas marginadas de México. Un análisis de decisiones relacionadas. *Salud Pública de México* **48** Suppl. 1. 530–540.
- VINEIS, P., P. ALAVANJA, E. BUFFLER, E. FONTHAM, S. FRANCESCHI, Y.T. GAO. 2004.** Tobacco and cancer: recent epidemiological evidence. *Journal of the National Cancer Institute* **96**: 99–106.

Utilización de vermicomposta en invernadero para producir tomate y controlar *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Luis Fernando Ceja Torres[✉], Rebeca Flores Magallón y Gilberto Vázquez Gálvez

Instituto Politécnico Nacional.

CIIDIR-Unidad Michoacán. Justo Sierra No 28. C.P. 59510. Jiquilpan, Michoacán.

✉ lfceja@ipn.mx

Citar

Resumen

Se evaluaron dos vermicompostas, una obtenida a partir del contenido ruminal de bovino y la otra de gallinaza, así como un estiércol de ganado vacuno para producir tomate variedad Sun 7705 y determinar su efecto sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol). Los sustratos fueron mezclados individualmente con arena de tezontle en proporción 50/50 % y puestos en bolsas de plástico negro de 5 l de capacidad y un testigo absoluto con arena de tezontle al 100 %, con y sin inóculo del hongo; todos ellos conformaron ocho tratamientos que se estudiaron en un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones, cada unidad experimental constó de cuatro plantas por tratamiento. Las variables evaluadas

en el cultivo de tomate, mostraron diferencias significativas entre tratamientos ($p \leq 0.05$). La mejor producción se obtuvo con vermicomposta de gallinaza, superando 56 % a la de rumen y 64 % al estiércol de ganado vacuno ($p \leq 0.05$). La altura ($r=0.87$) y el peso seco de la planta ($r=0.82$) se correlacionaron con la mayor producción de tomate. En la vermicomposta de gallinaza disminuyó la densidad de inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* entre 62 a 95 %, con respecto a la arena.

Palabras clave: biofertilizante, control, fitopatógenos.

Abstract

Two vermicomposts were evaluated –one obtained from bovine rumen contents, another from chicken-manure, as well as a third, based on dairy cattle manure– to assess their effect on Sun 7705 variety tomato production, and on *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol). The substrates were individually mixed with tezontle sand at a ratio of 50/50 and then placed in 5-L, black plastic bags. Also, an absolute witness was made with tezontle sand at 100 %, with and without the inoculum of the fungus. Together they formed

8 treatments that were studied in a completely randomized experimental design with four replications. Each experimental unit consisted of four plants per treatment. The variables evaluated in tomato cultivation showed significant between-treatment differences ($p \leq 0.05$). The highest production was obtained with the chicken manure vermicompost, which exceeded the rumen by 56 %, and surpassed the dairy cattle manure by 64 % ($p \leq 0.05$). Both height ($r=0.87$) and dry plant weight ($r=0.82$) correlated with the in-

crease in tomato production. In the chicken manure vermicompost, the density of the inoculum of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* decreased by 62-to-95 % with respect to the tezontle sand witness.

Keywords: biofertilizer, control, plant pathogens.

Introducción

El tomate (*Solanum lycopersicum* L. (= *Lycopersicon esculentum* Mill.)) es una de las hortalizas importantes en México; en 2009 la superficie sembrada fue de 53 mil 500 ha, de las cuales 15 mil se establecieron en Sinaloa y 5 mil has en Michoacán y esa es la razón por la que se le considere como el segundo productor a escala nacional (SIAP 2010). En nuestro país, este cultivo es también el principal en invernadero (Steta 2004). Bajo este sistema de producción, se utiliza gran variedad de sustratos comerciales; sin embargo desde el punto de vista sustentable, se deben considerar aquellos que aportan macro y micro nutrimentos en cantidades suficientes para satisfacer las necesidades nutritivas del cultivo.

La vermicomposta se utiliza como sustrato orgánico para mejorar el crecimiento y desarrollo de los cultivos, pero se han realizado estudios que indican que tienen una doble función, la cual se asocia con el control de enfermedades. Los efectos más importantes se relacionan con la reducción de la incidencia y severidad de enfermedades radicales, a causa de que incrementan las poblaciones de los hiperparásitos y microorganismos antagonistas que producen enzimas y metabolitos tóxicos que impiden la proliferación de organismos patógenos, entre los que se encuentran los hongos y los nematodos. Esto redundará en las plantas, pues produce mejoras importantes en su aspecto, sanidad y rendimiento (Gajalakshmi *et al.* 2001; Zavaleta-Mejía *et al.* 2003; Villa-Briones *et al.* 2006). En México los problemas fitosanitarios constituyen la principal limitante del cultivo del tomate en las zonas productoras (Michel-Aceves *et al.* 2008), es por ello que en los últimos años, la superficie dedicada a este cultivo ha disminuido de manera gradual (Carrillo-Fasio *et al.* 2003). Por su importancia,

destacan las enfermedades fungosas y en especial la marchitez ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, el cual causa pudrición radical y lesiones necróticas en el cuello y base del tallo, pero también puede provocar secadera de plántulas en invernadero (Jarvis 1988).

Las vermicompostas obtenidas del proceso de biodegradación del contenido ruminal de bovino, gallinaza y el estiércol de ganado vacuno, se pueden aprovechar como abonos orgánicos y como sustratos para la producción y sanidad de hortalizas como el tomate. Por ello se plantearon los objetivos de valorar desde el punto de vista agronómico diferentes vermicompostas en el cultivo de tomate que se produce bajo invernadero y determinar su efecto en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Materiales y métodos

Biodegradación del contenido ruminal de bovino y gallinaza mediante la técnica de la lombricultura

En el campo experimental del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) IPN Unidad Michoacán, que se ubica en las coordenadas: 19° 59' 57.8" N, 102° 42' 24.14" O, en el municipio de Jiquilpan de Juárez, Michoacán, se construyeron dos camas de 9 m de largo por 1 m de ancho, con una profundidad de 30 cm, delimitadas con ladrillos y cubiertas con plástico, para evitar la migración de las lombrices y mantenerlas a temperatura adecuada.

Se recolectó contenido ruminal del rastro municipal de Sahuayo, Michoacán (20° 03' 40.7" N, 102° 41' 47.17" O); la gallinaza fue tomada de una granja avícola establecida en la localidad de San José de las Moras, municipio de La Barca, Jalisco (20° 19' 39.96" N, 102° 35' 20.70" O). Una vez recolectados los sustratos se depositaron en las camas y se mantuvieron por un lapso de 15 días, humedecidos y aireados con la finalidad de estabilizar la temperatura. Luego se hizo una prueba de sobrevivencia y se inocularon las lombrices (*Eisenia foetida*), las cuales se encargaron de llevar a cabo el proceso de biodegradación; en el caso del contenido ruminal de bovino fue de

45 días, previamente precompostado, más un período de reposo o maduración de un mes. El proceso de biodegradación fue más tardado en el caso de la gallinaza, ya que duró alrededor de 60 días, independientemente del precompostado y del período de maduración. Las vermicompostas estabilizadas mostraron una coloración marrón oscura, con un característico olor a bosque húmedo, su textura fue granulosa y/o esponjosa recién obtenidas (Salazar *et al.* 2003).

Caracterización física y química de las vermicompostas y el estiércol vacuno

El pH se determinó por la inmersión directa del electrodo de un potenciómetro (Conductronic) calibrado previamente con buffer de pH 4.0 y buffer pH 7.0. La conductividad eléctrica (CE) se hizo mediante el método potenciométrico. La materia orgánica (MO) se determinó mediante el método Walkley & Black. En el caso de macro y microelementos se utilizó absorción atómica, digestión de $\text{HCNO}_3/\text{HCNO}_3$ y el método Kjeldahl.

Las vermicompostas a partir del contenido ruminal y la gallinaza, además del estiércol de ganado vacuno, mostraron ciertas diferencias en cuanto a las características físicas y químicas; el pH fue de 7.0 en el contenido ruminal, 6.7 en el de gallinaza y de 7.4 en el estiércol vacuno (Cuadro 1); estos valores se encuentran ligeramente altos si se considera que el óptimo para el desarrollo de las plantas de tomate se encuentra entre 5.5 a 6.5; sin embargo, pudo haber modificaciones al mezclarlos con la arena de tezontle (no analizado). La conductividad eléctrica (CE) de los sustratos fue de 1.68 a 2.10, valores cercanos al rango óptimo (0.75-1.99 mS/cm) para un sustrato ideal (Abad *et al.* 2005). Las dos vermicompostas también presentan cantidades adecuadas de materia orgánica (28.3 a 30.6 %) y buen porcentaje de humedad (41.7 %), muy cercano al

óptimo de 40 %. Asimismo, el valor de nitrógeno total fue alto, incluso en el registrado en el estiércol de ganado vacuno (Cuadro 1). Las vermicompostas y el estiércol vacuno presentaron una relación C/N inferior a 20, teniendo valores de 8.2 y 9.3 en la vermicomposta de gallinaza y rumen, respectivamente (Cuadro 1). Todos estos parámetros se encuentran dentro de las especificaciones fisicoquímicas del humus de lombriz de la norma mexicana NMX-FF-109-SCFI-2007. No se hizo ningún análisis a la arena de tezontle, sin embargo el tamaño de partícula y su proporción puede influir sobre las propiedades físicas (Vargas-Tapia *et al.* 2008), por lo general presenta buena aireación y buen drenaje, baja capacidad de intercambio catiónico y muy poco aporte de nutrientes; un análisis químico de arena obtuvo 0.011 % de N, 0.0005 % P, 0.01 % K, 0.0016 % Mg, 0.004 % Ca, 2.1 mg kg⁻¹ Fe y 0.90 mg kg⁻¹ de Zn (Rodríguez *et al.* 2008).

Valoración agronómica de los sustratos en el cultivo de tomate var. Sun 7705 bajo invernadero y su efecto en el control de *Fol*

El experimento se desarrolló de agosto de 2008 a marzo de 2009 en un invernadero de 360 m² tipo capilla a dos aguas, con cubierta de plástico en la parte superior y malla antiáfida en los laterales, con piso de concreto. A partir de dos vermicompostas, estiércol vacuno y arena de tezontle, se conformaron los tratamientos siguientes: 1) vermicomposta del contenido ruminal de bovino+arena+*Fol*; 2) vermicomposta del contenido ruminal de bovino+arena; 3) vermicomposta de gallinaza+arena+*Fol*; 4) vermicomposta de gallinaza+arena; 5) estiércol de ganado vacuno+arena+*Fol*; 6) estiércol de ganado vacuno+arena; 7) arena+*Fol*; y 8) arena (testigo). En ninguno de los tratamientos se utilizó solución nutritiva. Los sustratos se colocaron en bolsas de 5 l de capacidad en proporción 50/50 %

Cuadro 1. Caracterización física y química de las vermicompostas (VC) y el estiércol de ganado vacuno.

Sustratos	pH	CE mS/cm ⁻¹	MO %	Humedad %	CO* %	C/N %	N %	P %	K %	Mg %	Ca %	Fe %	Zn mg/kg ⁻¹
VC de rumen	7.04	1.68	28.3	41.7	16.4	9.3	1.8	0.73	0.33	1.66	4.6	0.82	179.3
VC de gallinaza	6.69	2.10	30.6	41.7	17.7	8.2	2.1	0.71	0.56	1.66	5.4	1.26	145.9
Estiércol vacuno	7.39	2.07	27.2	26.5	15.8	11.2	1.4	0.77	0.11	0.55	17.6	0.82	562.4

*=carbono orgánico.

del volumen; asimismo, los tratamientos que incluyeron *Fol* después de haberlo aislado a partir de material vegetativo enfermo, purificarlo e incrementarlo, se inoculó en una suspensión de 1×10^6 conidios ml^{-1} /maceta al momento del transplante.

La valoración agronómica y el efecto de los sustratos sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se realizó en tomate tipo saladette de la variedad Sun 7705 de crecimiento indeterminado; las plantas fueron guiadas a un solo tallo por eliminación de los brotes axilares y tutoradas con rafia de color negro; la distancia entre plantas fue de 40 cm.

Las variables fueron las siguientes: la altura y el peso seco de la planta se midieron al final del ciclo de cultivo, la producción de fruto de octubre de 2008 a febrero de 2009, y la densidad de inóculo de *Fol* y hongos totales un mes después del transplante y al final del ciclo de cultivo; estos se cuantificaron en el laboratorio de microbiología del CIIDIR IPN Unidad Michoacán, para lo cual se pesaron 10 g del sustrato correspondiente y se transfirieron individualmente a 90 ml de diluyente de peptona; se agitó de manera constante durante cinco minutos y luego se transfirió 1 ml de esta suspensión a 9 ml de diluyente de peptona y así sucesivamente hasta la dilución 10^{-2} , después de agitar en un bortex-genie 2 (modelo G560), se dispersó con una varilla de triángulo 300 μL en cada placa de PDA+ST; enseguida se incubaron por 72 horas a 28 °C y se contabilizaron las colonias.

En el invernadero se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con 4 repeticiones, la unidad experimental fue de cuatro plantas de tomate. Las correlaciones entre variables en estudio, los análisis de varianza para el diseño utilizado y la comparación de promedios mediante la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$) se realizaron en computadora con el programa Statistic Analysis System (SAS Institute 1988).

Resultados y discusión

Valoración agronómica de las vermicompostas y del estiércol de ganado vacuno en el cultivo de tomate

Las dos vermicompostas indujeron buen crecimiento del cultivo de tomate, las plantas más altas fueron las que se desarrollaron en vermicomposta de gallinaza, con diferencias significativas ($p \leq 0.05$) respecto al estiércol de ganado vacuno y las plantas crecidas en arena (testigo), estas últimas registraron la menor altura, como se observa en la figura 1. El efecto de estos abonos orgánicos, pudo deberse a que mejoraron las propiedades físicas, químicas y biológicas del medio donde se desarrollaron las plantas de tomate, al aumentar la capacidad de retención de agua, la capacidad de intercambio iónico, mejorar la disponibilidad de nutrientes, regular el pH del medio, aumentar la actividad microbiana y favorecer la asimilación de los nutrientes por su lenta liberación (FAO 1983; Verdezoto 1988;

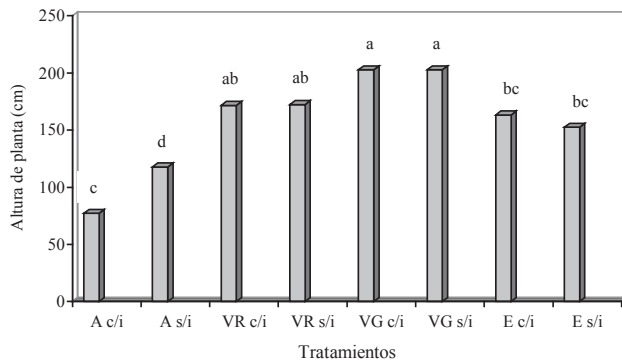


Figura 1. Altura promedio de plantas de tomate desarrolladas con vermicomposta de rumen (VR), vermicomposta de gallinaza (VG) estiércol de ganado vacuno (E) y arena de tezontle (A), con inóculo (c/i) y sin inóculo de *Fusarium oxysporum* (s/i). Medias con la misma letra sobre las columnas son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

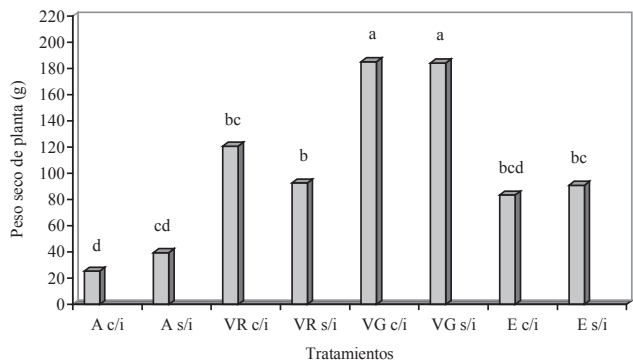


Figura 2. Peso seco de plantas de tomate desarrolladas con vermicompostas de rumen (VR), vermicomposta de gallinaza (VG) estiércol de ganado vacuno (E) y arena de tezontle (A), con inóculo (c/i) y sin inóculo de *Fusarium oxysporum* (s/i). Medias con misma letra sobre las columnas son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

Domínguez 1990). Además, las compostas y las vermicompostas favorecen el desarrollo de cultivos en invernadero por el hecho de que aportan casi todos los nutrimentos que las plantas necesitan para su desarrollo (Atiyeh *et al.* 2000b) no así la arena de tezontle por ser un sustrato inerte. En un trabajo realizado por Cobiella *et al.* (1995) con humus de lombriz a partir de estiércol en diferentes concentraciones, se apreció un efecto estimulante en la altura y ancho del follaje en variedades de tomate y pimiento bajo condiciones de campo, lo cual pudo deberse según este investigador, a la estimulación de los procesos fisiológicos de las plantas.

Con relación al peso seco de las plantas, se puede observar en la figura 2, un incremento de éste con la vermicomposta de gallinaza, siendo estadísticamente superior ($p \leq 0.05$) al resto de los tratamientos. Al respecto Velasco *et al.* (2001) infirieron que la disponibilidad de nutrimentos es determinante en la acumulación de la materia seca y señala que una vermicomposta puede aportar al suelo 1.49 % de N total, 6000 mg kg⁻¹ de P, 12 000 mg kg⁻¹ de K total y cantidades considerables de otros elementos. En este estudio, la vermicomposta de gallinaza mostró mayor cantidad de N, K, Mg y Fe, con respecto a la vermicomposta de rumen y el estiércol vacuno (Cuadro 1). Resultados similares a los encontrados en este trabajo fueron reportados por Atiyeh *et al.* (2000a), quienes indicaron que las vermicompostas han incrementado el crecimiento y desarrollo en diversos cultivos y por ende su peso seco, debido quizás a que las lombrices incrementan la maduración de los residuos orgánicos. Otros resultados reportados por Manjarrez-Martínez *et al.* (1999), indicaron un comportamiento equivalente en el peso seco del follaje, entre plantas de chile serrano tratadas con vermicomposta a partir de pulpa de café y suelo como testigo.

El mejor rendimiento de fruto tipo saladette variedad Sun 7705 se obtuvo con la vermicomposta de gallinaza ($p \leq 0.05$), que superó en 56 % al de rumen con inóculo y 64 % al estiércol de ganado vacuno inoculado con *Fol*. Como se puede ver en la figura 3, la producción de frutos con la vermicomposta de gallinaza fue mayor hasta un 98 % con respecto a la obtenida en arena de te-

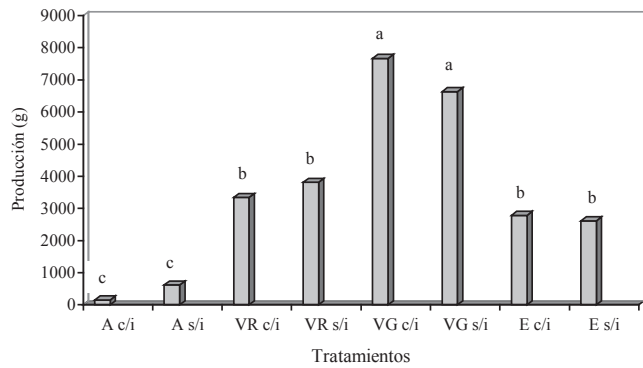


Figura 3. Producción total de tomate por parcela útil con vermicompostas de rumen (VR), vermicomposta de gallinaza (VG) estiércol de ganado vacuno (E) y arena de tezontle (A), con inóculo (c/i) y sin inóculo de *Fusarium oxysporum* (s/i). Medias con misma letra sobre las columnas son estadísticamente iguales (Tukey, 0.05).

zontle inoculado con el hongo y sin fertilización química; lo cual puede estar relacionado con el mayor aporte de nutrientes por parte de la gallinaza y el mayor contenido de materia orgánica (Cuadro 1). Los resultados obtenidos con este sustrato, pueden compararse con los rendimientos en el número de frutos de tomate que se obtuvieron con mezclas de arena en proporciones de 50/50 (porcentaje en peso) con vermicompostas preparadas a partir de estiércol de caballo, estiércol de caballo más estiércol de cabra con paja de alfalfa, estiércol de cabra con paja de alfalfa, y estiércol de cabra con paja de alfalfa+pasto y hojas de jardín (Moreno *et al.* 2005). Otro estudio en el cultivo de tomate var. Adela y André, hecho por Moreno *et al.* (2008), señalaron que la fertilización a través de la solución nutritiva, puede ser sustituida con la aplicación de un determinado tipo de vermicomposta mezclada con arena con proporción de 50/50 % en base peso, y que mejora también el diámetro ecuatorial (7.5 cm) y el peso del fruto (225 g). Moreno *et al.* (2012) también concluyeron que los sustratos que incluyen vermicomposta sin fertilizantes sintéticos, desarrollaron completamente el cultivo de tomate, sin mostrar síntomas aparentes de deficiencias y sin afectar la calidad del fruto.

La altura ($r=0.87$) y el peso seco de la planta ($r=0.82$) se correlacionaron con la mayor producción de tomate (Cuadro 2). Esto puede deberse a una mayor área foliar en plantas más desarrolladas y en consecuencia una mayor intersección de luz (Hernández-Santiago *et al.* 2005), aunado a lo anterior las plantas menos desarrolladas pu-

Cuadro 2. Matriz de correlación de Pearson y nivel de significancia de variables agronómicas.

	Altura de planta	Producción	Peso seco
Altura de planta	±.00000	0.87405 <0.0001	0.76654 0.0005
Producción		±.00000	0.82140 <0.0001
Peso seco			±.00000

dieron tener un mayor efecto de sombreado, ya que todos los tratamientos se colocaron a la misma distancia (40 cm entre plantas). Al respecto Manjarrez-Martínez *et al.* (1999), anotaron que en el cultivo de chile serrano la tasa fotosintética aumentó conforme la dosis de vermicomposta y que la producción de frutos de esta hortaliza fue favorecida.

Efecto de las vermicompostas en el control de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*

En la figura 4 se pueden observar diferencias significativas en la incidencia de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* ($p \leq 0.05$) en los diferentes tratamientos evaluados. En el primer muestreo (un mes después de la inoculación del hongo), la mayor incidencia de éste se presentó en la arena, siendo de 66 a 73 % superior a la densidad de inóculo encontrada en las vermicompostas de rumen y gallinaza respectivamente. Estos sustratos orgánicos tienen efectos importantes sobre el crecimiento y el rendimiento de las especies vegetales, debido en parte, a que han sido usadas de manera exitosa para suprimir fitopatógenos del suelo y a la gran capacidad que tienen para mantener las plantas sanas (Harry y Hoitink 1986). La mayor densidad de inóculo del hongo en arena pudo deberse a que este sustrato es inerte, por lo que *Fol* no tuvo competencia para establecerse con éxito.

Para el segundo muestreo (al final del ciclo de cultivo), la tendencia de los niveles de inóculo de *Fol* fueron a la alza. En el sustrato de arena se incrementó de 15.1 a 20.2 UFC $\times 10^2$, en la vermicomposta de rumen de 5.2 a 13.0 UFC $\times 10^2$, en el estiércol vacuno de 4.3 a 15.3 UFC $\times 10^2$, en la única que disminuyó fue en la vermicomposta de gallinaza de 4.1 a 1.8 UFC $\times 10^2$ (Figura 4). La disminución de la densidad de inóculo en éste

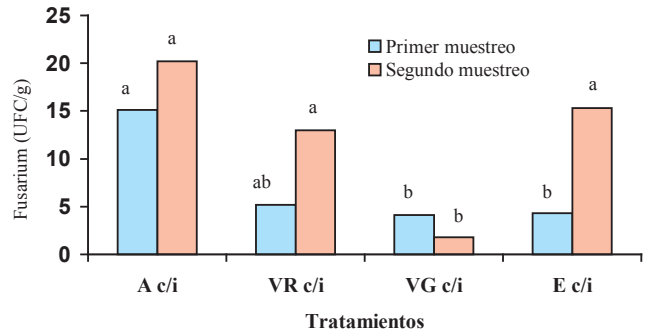


Figura 4. Densidad de inóculo (1×10^2) de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* en tomate. Letras iguales en cada muestreo, no son estadísticamente diferentes, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

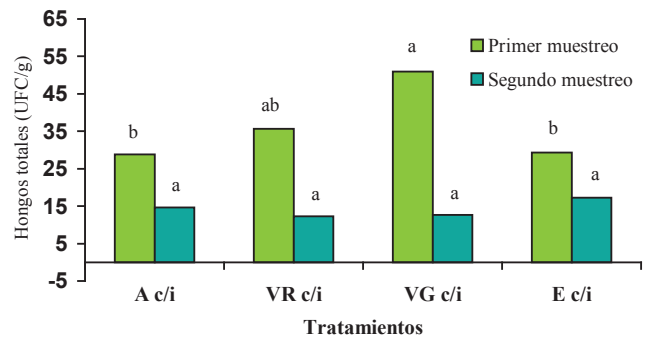


Figura 5. Densidad de inóculo (1×10^2) de hongos totales en tomate. Letras iguales en cada muestreo, no son estadísticamente diferentes, según la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

tratamiento, pudo ser resultado del incremento de microorganismos, debido a que las vermicompostas inducen el desarrollo de hongos y bacterias antagónicas a patógenos de la raíz (Jacobo *et al.* 1990), ya que si comparamos el patrón de comportamiento de hongos totales, según la figura 5, con el de *Fol* en la figura 4, se puede observar que en los tratamientos orgánicos existe menor cantidad de propágulos de este hongo y es precisamente donde hubo mayor cantidad de colonias de hongos totales.

En la figura 5 se ve que es mayor la cantidad de hongos totales en la vermicomposta de gallinaza, con diferencias significativas con respecto a los sustratos a base de estiércol de ganado vacuno y arena, los cuales presentaron valores similares en la cantidad de hongos totales. Las dos vermicompostas pudieron haber sido relevantes en la disminución del nivel de inóculo de *Fol*, ya que éstos pueden prevenir y controlar la presencia y severidad de las enfermedades del suelo, basando su acción en el incremento de la

capacidad biológica del sustrato para amortiguar los patógenos; en la reducción del número de patógenos por la competencia que se establece con los microorganismos no patógenos del sustrato; en el aumento del contenido de nitrógeno amoniacal en el proceso de mineralización del abono orgánico, y en el incremento de la capacidad de los hospedantes para provocar rechazo hacia los patógenos (Trinidad 1987). Sin embargo, para el segundo muestreo, la densidad de hongos totales disminuyó entre 66 a 76 % en las vermicompostas (Figura 5).

La incorporación de mejoradores orgánicos al suelo, permite incrementar la producción de los cultivos a causa de los cambios físicos, químicos y biológicos que ocurren en el suelo y que benefician el desarrollo de la planta. Dentro de ellos la vermicomposta se considera como el mejor abono orgánico que existe (Compagnoni 1983; Martínez y Gómez 1995), y su incorporación al suelo dio lugar a la reducción del impacto de varios fitopatógenos que infectan a través de las raíces (Szczecz et al. 1993; Pereira et al. 1996a, 1996b; Orlikowski & Skrzypczak 1997). Villa-Briones et al. (2006), en un estudio donde incorporaron vermicomposta para controlar *Nacobbus aberrans* en tomate bajo condiciones de invernadero, se redujo significativamente ($p \leq 0.05$) 50 % el índice de agallamiento radical en esta hortaliza; también se incrementó significativamente el peso seco del follaje 1.9 veces más.

Conclusiones

Las vermicompostas que se utilizaron en esta investigación, favorecieron el desarrollo vegetativo y productivo del tomate bajo condiciones de invernadero, lo que se atribuyó a sus contenidos nutritivos y a sus características físicas y químicas; obteniéndose una mayor altura y peso seco de las plantas, así como el mejor rendimiento, con la vermicomposta de gallinaza. En este sustrato disminuyó la densidad de inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. ❖

Literatura citada

- ABAD, E., K.MARTÍNEZ, C. PLANAS, J. PALACIOS, J. CAIXACH & J. RIVERA. 2005. Priority organic pollutant assessment of sludges for agricultural purposes. *Chemosphere* 61: 1358–1369.
- ATIYEH, R.M., J. DOMÍNGUEZ, S. SUBLER & C.A. EDWARDS. 2000A. Changes in biochemical properties of cow manure during processing by earthworms (*Eisenia andrei*, Bouché) and the effects on seedling growth. *Pedobiology* 44: 709–724.
- ATIYEH, R.M., N. ARANCON, C.A. EDWARDS & J.D. METZGER. 2000B. Influence of earthworm processed pig manure on the growth and yield of greenhouse tomatoes. *Bioresource Technology* 75: 175–180.
- CARRILLO-FASIO, J.A., T.J. MONTOYA-RODRÍGUEZ, R.S. GARCÍA-ESTRADA, J.E. CRUZ-ORTEGA, I. MÁRQUEZ-ZEQUERA & A.J. SAÑUDO-BARAJAS. 2003. Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder y Hansen, en Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el Valle de Culiacán Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21: 123–127.
- COBIELLA, R., P. DE LA ROSA & M. GOLACHEA. 1995. Aplicación de humus foliar como alternativa en la producción de hortalizas. Taller Nacional sobre Desertificación. CISS 27. Guantánamo, Cuba.
- COMPAGNONI, L. 1983. *Cría moderna de las lombrices. El abono más económico, rentable y eficaz*. Editorial de Vecchi, Barcelona, España. 127 pp.
- DOMÍNGUEZ, A. 1990. *El abonado de los cultivos*. Ediciones Mundi Prensa, España. 39 pp.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). 1983. Uso eficaz de fertilizantes en las zonas con precipitaciones de verano. *Boletín* 11: 39.
- GAJALAKSHMI, S., E.U. RAMASAMI & S.A. ABBASI. 2001. Potential of two epigeic and two anecic earthworm species in vermicomposting of water hyacinth. *Biores Technology* 76: 177–181.
- HARRY, A. & H.J. HOITINK. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with compost. *Annual Review of Phytopathology* 24: 93–114.
- HERNÁNDEZ-SANTIAGO, Q., F. SÁNCHEZ-DEL CASTILLO, A. PEÑA-LOMELÍ & D. MONTALVO-HERNÁNDEZ. 2005. Sustratos y frecuencias de riego para la producción de jitomate en hileras a diferente altura. *Terra Latinoamericana* 23: 341–349.
- JACOBO, C.J.L., O.D. TÉLIZ, E.R. GARCÍA, G.M.P. RODRÍGUEZ, Q.C. VÁZQUEZ & M.A. CASTILLO. 1990. Manejo de estiércol vacuno para reducir la inci-

- dencia de *P. cinnamomi* en árboles de aguacate. *Revista Mexicana de Fitopatología* 8: 126–131.
- JARVIS, W.R. 1988. *Fusarium* crown and root of tomatoes. *Phytoprotection* 69: 49–64.
- MANJARREZ-MARTÍNEZ, M.J., R. FERRERA-CERRATO & M.C. GONZÁLEZ-CHÁVEZ. 1999. Efecto de la vermicomposta y la micorriza arbuscular en el desarrollo y tasa fotosintética del chile serrano. *Terra Latinoamericana* 17(1): 9–15.
- MARTÍNEZ, S.D. & Z.J. GÓMEZ. 1995. Uso de lombricompuestos en la producción comercial del crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Acta Agronómica Colombiana* 45: 79–84.
- MICHEL-ACEVES, A.C., M.A. OTERO-SÁNCHEZ, R.D. MARTÍNEZ-ROJERO, R. ARIZA-FLORES, A. BARRIOS-AYALA & A. REBOLLEDO-MARTÍNEZ. 2008. Control biológico in vitro de enfermedades fungosas en tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. *Avances en Investigación Agropecuaria* 12(3): 55–68.
- MORENO, R.A., T. ZARATE & P.M.T. VALDÉS. 2005. Desarrollo de tomate en sustrato de vermicomposta/arena bajo condiciones de invernadero. *Agricultura Técnica* (Chile) 65: 27–34.
- MORENO, R.A., F.L. GÓMEZ, R.P. CANO, C.V. MARTÍNEZ, C.J.L. REYES, M.J.L. PUENTE & D.N. RODRÍGUEZ. 2008. Genotipos de tomate en mezclas de vermicompost : arena en invernadero. *Terra Latinoamericana* 26: 103–109.
- MORENO, R.A., A.F.J. LÓPEZ, V.U. FIGUEROA, D.N. RODRÍGUEZ, A.J. VÁSQUEZ, C.J.L. REYES, R.P. CANO & V.M.H. REYES. 2012. Tomato production in sand: vermicompost mixtures compared with sand and nutritive solution. *Journal of Agricultural Science and Review* 1(1): 19–26.
- ORLIKOWSKI, L.B. & C. SKRZYPCZAC. 1997. Calcium, antifug and keratin bark urea extract in the control of *Fusarium* wilt and *Phytophthora* rot on some plants. *Program Plant Protection* 37: 151–156.
- PEREIRA, J.C.R., G.M. CHAVES, L. ZAMBOLIM, K. MATSUOKA, A.R. SILVA & F.X.R. DO VALE. 1996A. Integrated control of *Sclerotinia sclerotiorum*. *Phytopathology* 21: 254–260.
- PEREIRA, J.C.R., G.M. CHAVES, L. ZAMBOLIM, K. MATSUOKA, A.R. SILVA & F.X.R. DO VALE. 1996B. Control of *Sclerotium cepivorum* by the use vermicompost, solarization, *Trichoderma harzarium* and *Bacillus subtilis*. *Phytopathology* 22: 228–234.
- RODRÍGUEZ, D.N., R.P. CANO, V.U. FIGUEROA, G.A. PALOMO, C.E. FAVELA, R.V.P. ÁLVAREZ, H.C. MÁRQUEZ & R.A. MORENO. 2008. Producción de tomate en invernadero con humus de lombriz como sustrato. *Revista de Fitotecnia Mexicana* 31(3): 265–272.
- SALAZAR, S.E., H.M. FORTIS, A.A. VÁZQUEZ & V.C. VÁZQUEZ. 2003. Abonos orgánicos y plasticultura. Facultad de Agricultura y Zootecnia de la UJED, Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, COCyTED. 233 pp.
- SAS INSTITUTE. 1988. *SAS User's Guide: Statistics. Release 6.03 Edition*. SAS Institute, Inc. Cary, N.C. U.S.A. 1028 pp.
- SERVICIO DE INFORMACIÓN AGROALIMENTARIA Y PESQUERA (SIAP) [INTERNET]. 2010 [citado 11 marzo 2010]; Disponible en: <http://reportes.siap.gob.mx/Agricola_siap/ResumenProducto.do>.
- STETA, M. 2004. Mexico as the new major player in the vegetable greenhouse industry. *Acta Horticulturae* 659: 31–36.
- SZCZECH, M.W., M.W. RODOMANSKI, U.S. BRZESK & J.F. KOTOWSKI. 1993. Suppressive effect of a commercial earthworm compost on some root infecting pathogens of cabbage and tomato. *Biological, Agriculture and horticulture* 10: 47–52.
- TRINIDAD, S.A. 1987. *El uso de abonos orgánicos en la producción agrícola*. Serie cuadernos de Edafología. Centro de Edafología, Colegio de Postgraduados, Chapingo, México. 102 pp.
- VARGAS-TAPIA, P., J.Z. CASTELLANOS-RAMOS, J.J. MUÑOZ-RAMOS, P. SÁNCHEZ-GARCÍA, L. TIJERINA-CHÁVEZ, R.M. LÓPEZ-ROMERO, C. MARTÍNEZ-SÁNCHEZ & J.L. OJODEAGUA-ARREDONDO. 2008. Efecto del tamaño de partícula sobre algunas propiedades físicas del tezontle de Guanajuato, México. *Agricultura Técnica en México* 34(3): 323–331.
- VELASCO, V.J., L. FERRERA-CERRATO & S.J.J. ALMARAZ. 2001. Vermicomposta, micorriza arbuscular y *Azospirillum brasilense* en tomate de cáscara. *Terra Latinoamericana* 19(3): 241–248.
- VERDEZOTO, V. 1988. *Caracterización de ocho tipos de abonos orgánicos y su eficiencia relativa a nivel de macetas*. Tesis de Licenciatura. ESPOCH – Riobamba. 67 pp.
- VILLA-BRIONES, A., E. ZAVALA-MEJÍA, M. VARGAS-HERNÁNDEZ, O. GÓMEZ-RODRÍGUEZ & S. RAMÍREZ-ALARCÓN. 2006. Incorporación de vermicomposta para el manejo de *Nacobbus aberrans* en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) *Revista Chapingo, Ser. Horticultura* 14(3): 249–255.

ZAVALETA-MEJÍA, E. 2003. *Incorporación de materia orgánica al suelo (modificadores orgánicos)*, pp. 26–37. En: E. Zavaleta-Mejía, M.R.I. Rojas & M.D.L. Ochoa (eds.). *Manejo ecológico de enfermedades*. Colegio de Postgraduados. Instituto de fitosanidad. Montecillo México.

Brief overview of microorganisms used against agricultural insect pests

Hirótaka Kokubu

**Laboratorio de Entomología
Agrícola, Departamento de
Ciencias Básicas**

Centro Universitario de la Ciénega,
Universidad de Guadalajara
km 8 Carretera La Barca-Jamay,
Jalisco, Mexico.
Tel: 392-925-9400

✉ hirotaka.kokubu@cuci.udg.mx
kokomx2008@gmail.com

Citar

Abstract

Entomopathogens used against insect pests as biological control agents include microorganisms such as fungi, bacteria, viruses, protozoan and nematodes. They cause diseases and eventual death in certain groups of insects. These organisms are also considered to be non-contaminants in agricultural environment as compared to conventional chemical pesticides. Basic descriptions of each representative entomopathogens are given, together with their availability and commercial use worldwide, to provide a broad overview on the current status of these organisms. As biological control entails ecologically sound and environmentally safe practice in agricultural production, continuous research and technological development will provide producers with better options as alternative pest control measures.

Keywords: baculovirus, *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae*, *Yersinia entomophaga*.

Resumen

Los entomopatógenos que se utilizan contra insectos plagas como agentes de control biológico incluyen microorganismos como hongos, bacterias, virus, protozoos y nematodos. Estos organismos causan enfermedades y muerte eventual en ciertos grupos de insectos. También se consideran no contaminantes en el ambiente agrícola en comparación con los pesticidas químicos convencionales. Se dan descripciones básicas de cada grupo representativo de entomopatógenos, junto con sus disponibilidades y usos comerciales en el mundo, para proporcionar una reseña amplia del estado contemporáneo de estos organismos. A causa de que el control biológico conlleva prácticas ecológicamente sanas y seguras en cuanto al medio ambiente para la producción agrícola, las investigaciones continuas y desarrollo tecnológicos proporcionarán a los productores las mejores opciones como medidas de control alternativos.

Palabras clave: baculovirus, *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*, *Metarhizium anisopliae*, *Yersinia entomophaga*.

Introduction

Entomopathogenic microorganisms are gaining ever-increasing importance in Integrated Pest Management (IPM) as ecologically sound and environmentally safe components in contemporary agricultural production.

Miller *et al.* (1983) put forward a future perspective and principal guidelines for research and development on entomopathogenic organisms. A premise of decreased dependence on chemical

control measures against insect pests was also within their scope.

Knowledge of ecology of pest species as well as their bio-rational controlling agents such as entomopathogens is fundamental for successfully implementing IPM (Fuxa 1987). Biotic and abiotic environmental factors must be taken into account along with other complex ecosystem characteristics (Lacey & Kaya 2007).

In a general statement, the U.S. Environmental Protection Agency (EPA) describes some characteristics of biopesticides which include entomopathogens. They state that 1) Biopesticides are by nature less toxic to people than conventional chemical pesticides, 2) they are generally effective only against specific target pest species, 3) when used as a principal component of IPM, they would significantly reduce the use of agrochemicals, and 4) they would rapidly reincorporate into the general environment thereby avoiding long-term ecological pollution (EPA 2010).

Hajek *et al.* (2005, 2007) reviewed and compiled information on pathogens and nematodes used as biological control agents against insects and mites. Fungi, bacteria, viruses, microsporidians and nematodes are included in the literature.

Commercially produced biological pesticides are now available worldwide. The contemporary commercial situation in world market, however, is in flux. It is a dynamic market. Continuous changes in availability and registration are the norm. Weinzierl *et al.* (2005) revised their 1995 list of microbial insecticides available in the US market with product names. They cited bacteria, fungi, protozoa, viruses and nematodes with basic biological characteristics and discussed the potential of each group with some comments on current market status (Weinzierl *et al.* 2005).

Kabaluk and Gazdik (2005) revised a directory of microbial pesticides registered among 30 member countries of the Organization of Economic Cooperation and Development (OECD), to which Mexico belongs as the only member state in Latin America. The aim of the document was to harmonize data requirements, test guidelines,

and hazard and risk assessment methods within OECD countries. Although they contend that the directory is not exhaustive, a large volume of resources are listed according to different categories such as insecticide, miticides and nematocides among others. The list can thus be taken as a general market trend in contemporary microbial pesticides in various countries.

The objective of the present note is to briefly examine current status and use of major microbial insecticides in agricultural settings and to put these beneficial microorganisms into perspective in terms of contemporary agricultural pest control measures. The article does not attempt to exhaustively review the subject. Fungi, bacteria, viruses and nematodes in sequence are mentioned in this overview.

Fungi

Fungi require humid environment to proliferate and entomopathogenic fungi are no exception. They need high humidity field conditions to be effective. They are often directed against soil-inhabiting insects, but unless moist soil is insured by rainfall or otherwise, such applications may be in vain. Aside from strictly following instructions for use written in product labels, environmental conditions as well as time of application have to be carefully considered in relation to corresponding crop cycle (EPA 2012).

The OECD directory lists 5 species of fungi available in the market. They are: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria brongniartii*, *Verticillium lecanii* and *Paecilomyces fumosoroseus*. The first two species, *B. bassiana* and *M. anisopliae*, constitute 39 % and 35 %, respectively, of the total fungi registered among member countries (Kabaluk & Gazdik 2005).

Meyling and Eilenberg (2007) suggested that *B. bassiana* are associated only with insect hosts above ground, while *M. anisopliae* is associated with hosts exclusively on or below the soil surface in temperate agroecosystems. Thungrabeab and Tongma (2007) reported that these two fungal species are generally not pathogenic to non-target species, including common natural ene-

mies such as Coccinellids and Chrysopids found in Thailand. They tested *B. bassiana* and *M. anisopliae* against 3 natural enemy species and a beneficial soil Collembora. *Coccinella septempunctata* (Coleoptera, Coccinellidae), *Chrysoperla carnea* (Neuroptera, Chrysopidae), *Dicyphus tamanii* (Hemiptera: Miridae) and *Heteromurus nitidus* (Collembola, Entomobryidae) were used in the study. While *M. anisopliae* showed some pathogenicity to *C. carnea* and *H. nitidus*, *B. bassiana* had no pathogenic effect on all 4 species tested (Thungrabeab & Tongma, 2007).

Beauveria bassiana causes “white muscardine disease” in the infected insect which becomes covered in white mycelia. This is a ubiquitous soil-inhabiting fungus. Its spores prepared as a commercial product can be put into water for spraying. Upon contact with insect’s external cuticle, spores germinate and invade the insect body with mortal effect (Grodén 1999). This fungus has a relatively wide range of insect hosts, such as whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae), aphids (Hemiptera: Aphididae), weevils and borers (Coleoptera), grasshoppers (Orthoptera) and diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae, *Plutella xylostella*). Care must be taken to avoid application near colonies of honeybees (*Apis mellifera*, Hymenoptera: Apidae) or within their foraging range, as there is a potential risk of infection (EPA 2012).

The common name of the fungal disease caused by *Metarhizium anisopliae* is green muscardine disease, as the spores of the fungus give the infected insect a greenish appearance. This is another ubiquitous soil-inhabiting fungus (Clayton 2010) for which preparation and application procedures as well as infective process are basically the same as for *B. bassiana*. However, the host range is more selective than *B. bassiana*, targeting principally against root weevils (Coleoptera), flies and gnats (Diptera), thrips (Thysanoptera) and various tick species (Arachnida: Ixodidae). Although slightly contradictory to studies reported by Thungrabeab and Tongma in 2007, EPA (2012) notes that many insects of human interest, such as honeybees and beneficial insects, namely, green lacewings (Neuroptera: Chrysopidae), lady beetles (Coleoptera: Cocci-

nellidae) and parasitic wasps (Hymenoptera), are not affected by this fungus.

Bacteria

Similar abiotic conditions (high humidity) are required for bacterial entomopathogens as for fungi. These microorganisms are susceptible to dry environmental conditions (Weinzierl *et al.* 2005). Unlike fungi mentioned earlier, bacterial entomopathogens are required to be ingested by target pest insects. *Bacillus thuringiensis* is the predominant species commercially produced throughout the world. Many distinct subspecies and strains of *B. thuringiensis* are known to produce toxins with insecticidal properties.

The OECD directory lists numerous bacterial insecticides registered among member states as of 2005. With a few exceptions, the species most available in the market is *B. thuringiensis*. Different strains of *B. thuringiensis* infect distinct insect groups, namely Lepidoptera, Coleoptera, and Diptera. More than 75 % of the products in the list are based on *B. thuringiensis* subspecies *kurstaki*, followed by other subspecies *israelensis* and *aizawai*. Subspecies *B. thuringiensis tenebriionis* is used against coleopteran pests such as the Colorado potato beetle, while *B. thuringiensis israelensis* is specifically targeted against Dipterans such as mosquitoes and fungus gnats. *B. thuringiensis kurstaki* and *B. thuringiensis aizawai* are used against lepidopteran pests (Kabaluk & Gazdik 2005). Products combining endotoxins from both of these two subspecies are also available. With the advent of genetic engineering, *B. thuringiensis* toxin producing genes have been incorporated into such crops as potato, maize, and cotton (Brookes & Barfoot 2006). Roh and others (2007) summarized present state of knowledge on this widely studied bacterium. Further elaboration on this aspect of *B. thuringiensis* is, however, outside the scope of present article.

Hurst and others (2010) described a new species of entomopathogenic bacterium and proposed the name *Yersinia entomophaga* with the type strain MH96. It was found infecting a grass grub, *Costelytra zealandica* (Coleoptera: Scarabaeidae)

in New Zealand. The bacterium effectively killed a number of Lepidoptera and Coleoptera species within 3 to 5 days upon infection. A patent application has been submitted, delineating the use of the bacterium and its derivatives as biopesticides (Glare & Hurst 2010).

Yersinia entomophaga is now highly touted as a promising and effective biological control agent against major groups of insect pests. Readers are reminded, however, that another species of *Yersinia*, *Y. pestis* is arguably the cause of the infamous Black Death in human history. In a recent report, Haensch and others (2010) confirmed that *Y. pestis* was indeed the cause of the pandemic, upon extensive forensic DNA studies on European medieval mass graves sites.

Present author expresses a reserved opinion on *Y. entomophaga* as to its use in agricultural and general environment as well. The adaptive capacity of microorganisms in general is high as compared to more complex organisms, simply because their life cycle is short. Any mutant strain, which might not necessarily be beneficial to humans if not outright dangerous, can spread rapidly throughout the environment.

Virus

Viruses are obligatory parasites on living host cells. Viruses presently used in agriculture belong to two genera of the family Baculoviridae, namely, *Granulovirus* (GV) and *Nucleopolyhedrovirus* (NPV). To become infected, insect pests need to consume host plant with Baculovirus applied by a spray. Baculoviruses principally infect insects and other arthropods and do not affect vertebrates. Once infected, an insect larva may contain billions of replicated viruses within its body (Bonning & Nusawardani 2007).

As of 2005, OECD directory of microbial pesticides includes 14 registered Baculoviruses commercial products in various countries; 9 products under GV and 5 under NPV. Target pest insects are those of forestry, orchard, horticultural, ornamental, dried fruits and nuts, as well as grain crops including soybean (Kabaluk & Gazdik 2005).

Federici (1998) and D'Amico (2010) indicated a high cost of Baculovirus products, more than most chemical treatments, as being one of the main obstacles to adaptation of Baculovirus for pest control. The reason for the high price is the labor intensive nature of producing large quantity of Baculovirus for field use. However, a totally different panorama has noted in Brazil.

Anticarsia gemmatalis (Lepidoptera: Noctuidae), the velvet bean caterpillar, has a Neotropic distribution and is a voracious defoliator of soybean and other leguminous crops. Since 1980's, technical development and active use of Baculovirus against *A. gemmatalis* as the major pest of soybean crops in Brazil have been reported with prodigious positive results (Moscardi 1999, Correa-Ferreira *et al.* 2000). The virus in this case is denominated as *Anticarsia gemmatalis* Multiple Nucleopolyhedrovirus (AgMNPV). Initially, the practice was based on farmer-level monitoring in the fields, collection of infected larvae, on-site spray preparation and application using homogenate larval cadavers. Family members and relatives can be mobilized for such *in situ* activities. Labor situations and associated income are dissimilar in developing countries relative to industrialized nations. Kaolin, a type of clay, impregnated with the virus is now commercially available in Brazil at low cost. It is to be dissolved in water and the solution can be broadcasted using a simple backpack sprayer or large volume sprayers as well.

This elemental and low cost technology was transferred from Brazil to Paraguay in the early 1990's. Kokubu (1994) reported population dynamics of *A. gemmatalis* in soybean fields in eastern Paraguay in relation to the use of AgMNPV. Two salient findings were noted in the report: 1) virus applications effectively suppressed a resurgence of the pest population during the crop season, while typical chemical control measures continued to cause a second outbreak of the pest, 2) Insecticide cost was more than 700 % higher than that of viral insecticide (Kokubu 1994).

Probably on the ground of less expenditure on pest control, increase in soybean production in Paraguay has augmented exponentially, especially since 1995. The country now boasts as

being one of the world's topmost exporters of the commodity (FAOSTAT 2012). Surplus income and savings made at the producer level would encourage further expansion in area of planting, augmenting more production.

Nematodes

Nematodes are metazoan animals of microscopic sizes, classified under the phylum Nematoda. They are ubiquitous in general environment; free-living, predacious, or parasitic to plants and animals including humans. Entomopathogenic nematodes belong to two particular families: Steinernematidae and Heterorhabditidae. Two genera, *Steinernema* and *Heterorhabditis*, are the groups used in contemporary biological control. (Georgis & Gaugler 1991, Grewal *et al.* 2005a).

One characteristic feature of these nematodes is that they are intimately related with bacterial species inhabiting within their bodies. This nematode-bacterium complex of mutualism provides the reason and mechanism for the insect killing capacity in such nematodes. *Steinernema* species harbor *Xenorhabdus* bacteria in their gut and *Heterorhabditis* are associated with *Photorhabdus* bacteria. Nematodes actively seek out host insects (Shapiro-Ilan *et al.* 2009). They first attach to and make inroads to the host insect body, therein releasing the bacteria. The bacteria then cause a lethal septicemia in host insect, which is rapidly killed within 24 to 48 hours (Stock & Goodrich-Blair 2008). Moreover, life cycle of these nematodes is completed within 2 to 3 days, reproducing thousands of progenies within a host body (Griffin *et al.* 2005). Third stage juveniles break out of the host to seek new hosts.

Several species of entomopathogenic nematodes are commercially available. The OECD list shows 30 commercial products as of 2005 among member nations. More than one third is based on *Steinernema feltiae* used primarily to control fly larvae. Two other species, *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae*, are listed as the second most commonly used nematodes (Kabaluk & Gazdik 2005). Shapiro-Ilan and Gaugler (2010) listed 26 producers and suppliers of

entomopathogenic nematodes; 24 in the US and one each in Germany and Switzerland. For the entomopathogenic nematodes to be effective in the field, certain biotic as well as abiotic conditions need to be met (Shapiro-Ilan & Gaugler 2002, Shapiro-Ilan *et al.* 2006). High environmental humidity is one critical factor. These nematodes are basically soil inhabiting organisms and demand moist soil for survival. They are thus highly susceptible to desiccation (Grewal *et al.* 2005b).

Narrow temperature range is yet another decisive factor in their effectiveness. Optimum temperature generally rests between 20 and 30 degrees Celsius, although some species may withhold below 15 °C or even above 35 °C (Jagdale *et al.* 2005, Grewal *et al.* 2005b, Jagdale & Grewal 2007). Also care must be taken of high temperature and its duration in holding tanks before spraying application (Shapiro-Ilan & Gaugler 2010).

Perceived Impediments

A number of critical factors hindering wider acceptance of biological pesticides have been pointed out (Weinzierl *et al.* 2005). In this article, we focus on three anthropocentric aspects.

- 1) Specificity of biological pesticides is akin to a two-edged sword. On the one hand, entomopathogenic microorganisms are often selected for their specificity. This intrinsic attribute could, on the other hand, limit uses in managing many other pest insects that may be in need of attention. As their host range is limited, a multiple number of microbial products may be necessary to control different species of pests in a particular situation. This in turn would impose additional costs on producers willing to opt for biological pesticides. Use of these biological products might be taken as economic burden to agriculturalists whatever their production scale may be.
- 2) Slow action is yet another unfavorable characteristic of biological pesticides. With the availability of fast-action toxic chemical pesticides, growers are accustomed to see an im-

mediate response to agrochemical applications. This mindset has been reinforced for the last two to three generations worldwide.

- 3) Lack of information may be another factor affecting the acceptance of microbiological insecticides. Although technical reports abound indicating relative swiftness and effectiveness of the entomopathogenic microorganisms, such information may not be readily accessible to farmers and producers. Moscardi (1999) emphasized the importance of education and knowledge dissemination at the farmers' level when he summarized AgM-NPV use in Brazil. People in production fields are needed to be well-informed and convinced of the benefit and importance of the use of biological pesticides in terms of ecology and economy.

Disparity in many aspects of contemporary life among world's nations is evident. Social organizations and educational levels in the Americas, for instance, are not equally advanced. Latin American countries including Mexico may lack adequate socio-economic capacity to adopt such technologies as entomopathogens compared to Canada and the USA. To be accepted and adopted worldwide, innovative pest control methods or any technology for that matter has to be simple and at the same time economical. Formulation and application of entomopathogens are comparable to chemical pesticides. Equipment is fundamentally the same and precautions are less stringent (Burgess 1998). It is therefore imperative to make this technology economically accessible and simple to use for all producers, not only in industrialized nations but also in developing countries as well.

Environmentally conscious and ecologically sound pest control methods are central to contemporary agricultural production. Reduced dependence on non-renewable resources and more usage of locally available resources are the emerging axioms in sustainable agriculture. Under the concept and practice of IPM, systematic use of entomopathogens in agricultural pest control is a viable and economically competitive component. Contemporary research and development of entomopathogens should be directed

toward practical and feasible use of these organisms. Such development is vital to sustainable agricultural production. It is also an important role of scientific community to broadly communicate with the public by transmitting acquired knowledge.

Entomopathogenic microorganisms are here to stay. Their use will no doubt evolve as our needs in agriculture progress. Cautious and comprehensive ground work is, however, cardinal to safeguarding the well-being of a global ecosystem.

Acknowledgement

The author wishes to express gratitude to Dr. Philip A. Stansly of the University of Florida, IFAS, Immokalee, Florida, for kindly reviewing an earlier draft of the manuscript. ❖

References

- BONNING, B.C. & T. NUSAWARDANI. 2007.** Introduction to the use of Baculoviruses as biological insecticides. In: Baculovirus and insect cell expression protocols. *Methods in Molecular Biology* 388: 359–366. ISSN: 1064-3745
- BROOKES, G. & P. BARFOOT. 2006.** *GM Crops: The First Ten Years - Global Socio-Economic and Environmental Impacts*. ISAAA Briefs No. 36. ISBN: 1-892456-41-9 <<http://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/36/download/isaaa-brief-36-2006.pdf>> [Accessed July 25, 2012]
- BURGESS, H.D. (ED.). 1998.** *Formulation of microbial biopesticides, beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments*. Kluwer Academic, Dordrecht, 412 pp.
- CLOYD, R.A. 2010.** The Entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Midwest Biological Control News Online* 4(7). <<http://www.entomology.wisc.edu/mbcn/kyf607.html>> [Accessed July 27, 2012].
- CORREA-FERREIRA, B.S., L.A. DOMIT, L. MORALES & R.C. GUIMARAES. 2000.** Integrated soybean pest management in micro river basins in Brazil. *Integrated Pest Management Reviews* 5: 75–80.
- D'AMICO, V. 2010.** *Baculoviruses (Baculoviridae)*. *Biological Control: A guide to natural enemies in*

- North America. Cornell University, College of Agriculture and Life Sciences, Department of Entomology. <<http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/baculoviruses.html>> [Accessed July 26, 2012].
- EPA. 2012.** Environmental Protection Agency, EEUU. *What are Biopesticides?* <<http://www.epa.gov/oppbopd1/biopesticides/>> [Accessed July 25, 2012].
- FAOSTAT 2012.** Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Production-Crops Statistics, Paraguay/Year/Soybeans/Area harvested.* <<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>> [Accessed June 24, 2012].
- FEDERICI, B.A. 1998.** Naturally occurring Baculoviruses for insect pest control. *Methods in Biotechnology* **5**: 301–320.
- FUXA, J.R. 1987.** Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. *Annual Review of Entomology* **32**: 225–251.
- GEORGIS, R. & R. GAUGLER. 1991.** Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. *Journal of Economic Entomology* **84**: 713–20.
- GLARE, T.R. & M.R.H. HURST. 2010.** *Novel bacteria and uses thereof.* US Patent application number 20100150873.
- GREWAL, P.S., R.U. EHLERS & D.I. SHAPIRO-ILAN (EDS.). 2005A.** *Nematodes as biocontrol agents.* CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxfordshire, UK. 505 pp.
- GREWAL, P.S., R.U. EHLERS & D.I. SHAPIRO-ILAN 2005B.** Critical issues and research needs for expanding the use of nematodes in biocontrol. In: P. Grewal, Ehlers, RU and Shapiro-Ilan, D. (eds.) *Nematodes as Biological Control Agents.* CABI Publishing. pp. 479–489.
- GRIFFIN, C.T., N.E. BOEMARE & E.E. LEWIS. 2005.** Part II. Entomopathogenic nematodes, 2. Biology and behavior. In: Grewal, P.S., R.U. Ehlers & D.I. Shapiro-Ilan (eds.). *Nematodes as biocontrol agents.* CABI Publishing. pp. 47–64.
- GRODEN, E. 1999.** *Using Beauveria bassiana for insect management. Proceedings New England Vegetable and Berry Growers Conference and Trade Show, Sturbridge, MA.* pp. 313–315.
- HAENSCH, S., R. BIANUCCI, M. SIGNOLI, M. RAJERISON, M. SCHULTZ, S. KACKI, M. VERMUNT, D.A. WESTON, D. HURST, M. ACTMAN, E. CARNIEL & B. BRAMANTI. 2010.** Distinct clones of *Yersinia pestis* caused the Black Death. *Public Library Science, Pathogens* **6**(10): e1001134, doi: 10.1371/journal.ppat.1001134 (Oct. 7, 2010).
- HAJEK, A.E., M.L. MCMANUS & I. DELALIBERA, JR. 2005.** *Catalogue of introductions of pathogens and nematodes for classical biological control of insects and mites.* Forest Health Technology Enterprise Team (FHTET), USDA Forest Service. 59 pp. Accessed June 23, 2012 <<http://www.fs.fed.us/foresthealth/technology/pdfs/catalogue.pdf>>.
- HAJEK, A.E., M.L. MCMANUS & I. DELALIBERA, JR. 2007.** A review of introductions of pathogens and nematodes for classical biological control of insects and mites. *Biological Control* **41**: 1–13.
- HURST, M.R.H., S.A. BECHER, S.D. YOUNG, T.L. NELSON & T.R. GLARE. 2010.** *Yersinia entomophaga* sp. novo isolated from the New Zealand grass grub *Costelytra zealandica*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* May 21, 2010 (E-pub ahead of print).
- JAGDALE, G.B., P.S. GREWAL & S.O. SALMINEN. 2005.** Both heat-shock and cold-shock influence trehalose metabolism in entomopathogenic nematodes. *Journal of Parasitology* **91**: 151–157.
- JAGDALE, G.B. & P.S. GREWAL. 2007.** Storage temperature influences desiccation and ultra violet radiation tolerance of entomopathogenic nematodes. *Journal of Thermal Biology* **32**: 20–27.
- KABALUK, T. & K. GAZDIK. 2005.** Directory of microbial pesticides for agricultural crops in OECD countries. Agriculture and Agri-Food Canada. Accessed June 22, 2012 <http://dsp-psd.pwgsc.gc.ca/collection_2008/agr/A42-107-2005E.pdf>.
- KOKUBU, H. 1994.** *Entomología agrícola en Alto Paraná, Paraguay. I. Identificación de insectos, II. Dinámica poblacional de plagas de soja.* Centro Tecnológico Agropecuario en Paraguay (CETAPAR-JICA). PGC-JR, 94–01., 41 pp.
- LACEY, L.A. & H.K. KAYA (EDS.). 2007.** *Field manual of techniques in invertebrate pathology: Application and evaluation of pathogens for control of insects and other invertebrate pests.* Second edition. Springer. Dordrecht. 868 pp.
- MEYLING, N.V. & J. EILENBERG. 2007.** Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. *Biological Control* **43**: 145–155.
- MILLER, L.K., A.J. LINGG & L. BULLA. 1983.** Bacterial, Viral, and Fungal Insecticides. *Science* **219** (4585): 715–721.

- MOSCARDI, F. 1999.** Assessment of the application of Baculoviruses for control of Lepidoptera. *Annual Review of Entomology* **44**: 257–289.
- ROH, J.Y., J.Y. CHOI, M.S. LI, B.R. JIN & Y.H. JE. 2007.** *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *Journal of Microbiology & Biotechnology* **17**(4): 547–559.
- SHAPIRO-ILAN, D.I. & R. GAUGLER. 2002.** Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **28**: 137–146.
- SHAPIRO-ILAN, D.I., D.H. GOUGE, S.J. PIGGOTT & J. PATTERSON-FIFE. 2006.** Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. *Biological Control* **38**: 124–133.
- SHAPIRO-ILAN, D.I., G.N. MBATA, K.B. NGUYEN, S.M. PEAT, D. BLACKBURN & B.J. ADAMS. 2009.** Characterization of biocontrol traits in the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis georgiana* (Kesha strain), and phylogenetic analysis of the nematode's symbiotic bacteria. *Biological Control* **51**: 377–387.
- SHAPIRO-ILAN, D.I. & R. GAUGLER. 2010.** Nematodes (*Rhabditida: Steinernematidae & Heterorhabditidae*). *Biological Control: A guide to natural enemies in North America*. Cornell University, College of Agriculture and Life Sciences, Department of Entomology. Accessed June 21, 2012 <<http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/pathogens/nematodes.html>>.
- STOCK, S.P. & H. GOODRICH-BLAIR. 2008.** Entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts: the inside out of a mutualistic association. *Symbiosis* **46**: 65–76.
- THUNGRABEAB, M. & S. TONGMA. 2007.** Effect of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on non-target insects. *KMITL Science and Technology Journal* **7**(S1).
- WEINZIERL, R., T. HENN, P.G. KOEHLER & C.L. TUCKER. 2005.** Microbial Insecticides. EDIS University of Florida IFAS Extension. Accessed July 19, 2012 <<http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/in/in08100.pdf>>.

LUZ MARÍA VILLARREAL DE PUGA

(8 de marzo de 1913–11 de noviembre de 2013)

Citar

Pocas veces la brillantez intelectual lleva asociada tanta generosidad. Ni la admiración se consigue de modo tan unánime y espontáneo. Luz María Villarreal de Puga reunió en su vida larga, intensa y comprometida, estas dos circunstancias.

Su nombre es inherente al Herbario del Instituto de Botánica de esta universidad. Su obsesión por las plantas, aunque tardía, requirió de paciencia, concentración, tenacidad, meticulosidad, delicadeza, amor por la vida e interés por la forma en que funciona el entramado de la naturaleza. Gracias a eso, su habilidad como colectora de especímenes enriqueció la colección en sus albores. Su curiosidad innata le llevó siempre a estudiar y no sólo conocer, sino reconocer a una ingente cantidad de plantas. En su mente siempre hubo espacio para guardar cada nombre científico y particularidades de los vegetales; su memoria prodigiosa siempre sorprendía con los detalles más insólitos: fue una erudita.

Su carácter social la condujo a tener y mantener relaciones académicas con numerosos investigadores nacionales y del extranjero. Pero ese carácter se reflejó mejor con sus dotes como profesora. Fueron decenas de alumnos de la carrera de Agronomía los que transitaban por las aulas en las que ella impartió su cátedra de Botánica General y Sistemática. Transmitió no sólo su conocimiento sobre plantas, sino todo su entusiasmo y amor hacia esa Ciencia Amable, según la designaba Carlos Linneo. Varios alumnos de esos cursos descubrieron su vocación botánica y ahora son investigadores reconocidos, para gloria de ella.

De la maestra Puga siempre se obtenía la palabra de aliento oportuna, el consejo profesional, la colaboración en cualquier ámbito. Porque por encima de todo, fue una persona dispuesta a ayudar, sin esfuerzo, con la sonrisa permanente.

Ahora, en el momento de su adiós, me invade un sentimiento muy triste; me apena descubrir que la muerte no es simétrica ni pulcra. Pero también me siento afortunado por haber tenido el privilegio de contar con su confianza, de recibir sus enseñanzas y de gozar del favor de su amistad. Su ejemplaridad permanecerá siempre en nuestro recuerdo.

Servando Carvajal

e-Cucba es una revista internacional en línea, que publica artículos en cualquier aspecto de las Ciencias Naturales, Ciencias Aplicadas y Tecnología y que son sometidos a revisión por pares antes de su aceptación. Considera documentos sobre: Geociencias, Paleontología, Ciencias Biológicas, Botánica, Zoología, Tecnología y ciencias aplicadas, Ciencias médicas, Ingeniería y operaciones afines, Agricultura, Ganadería, Ciencias Florestales, Ciencia de los alimentos y tecnologías afines. Para los documentos que comprendan 60 páginas o más en la revista, se publicarán en un número especial y se le asignará además, un ISBN.

e-Cucba no tiene ningún costo por página y es una publicación de acceso libre. Todos los textos serán sometidos a revisión por dos o más árbitros anónimos antes de ser aceptados. **e-Cucba** pretende publicar cada documento en un plazo de seis meses después de la aceptación por parte de los editores. Para hacer esto posible, se aconseja en la preparación de su manuscrito leer con cuidado la información para los autores y consultar los números más recientes de **e-Cucba** en: <http://e-cucba.cucba.udg.mx>



Consejo Editorial del Cucba 2013-2016

Salvador Mena Munguía
Salvador González Luna
Servando Carvajal
Florencio Recendiz Hurtado
Daniel Ortuño Sahagún
Eduardo Ríos Jara
Rogelio Lépiz Ildefonso
Agustín Gallegos Rodríguez
Elisa Cabrera Díaz
Margarita Hernández Gallardo