BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTONÓMA DE PUEBLA

INSTITUTO DE CIENCIAS
CENTRO DE AGROECOLOGÍA
MAESTRÍA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

DAÑO GENÉTICO EN CÉLULAS DE *Allium sativum* EXPUESTAS A COMPOSTAS PRODUCIDAS CON AGUA RESIDUAL HIDROPÓNICA

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
MAESTRO EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

PRESENTA
IAM. Damián Lozada Campos

COMITÉ TUTORAL:

DIRECTOR
Dr. Luis Daniel Ortega Martínez

CO-DIRECTOR
Dr. José Antonio Rivera Tapia

ASESORES
Dr. Fernando Hernández Aldana
Dra. María del Rayo Santellán Olea

REVISOR
MC. Jessica Pérez Nava

Puebla, Pue., Enero2020

BUAP

La presente tesis, titulada: **"Daño genético en células de *Allium Sativum* expuestas a compostas producidas con agua residual hidropónica."**, realizada por el alumno **IAM. Damián Lozada Campos,** bajo la dirección del Comité Tutoral indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

COMITÉ TUTORAL:

DIRECTOR: _____
Dr. Luis Daniel Ortega Martínez

CO-DIRECTOR: _____
Dr. José Antonio Rivera Tapia

ASESOR: _____
Dr. Fernando Hernández Aldana

ASESOR EXTERNO: _____
Dra. María del Rayo Santellán Olea

REVISOR EXTERNO: _____
Mtra. Jessica Pérez Nava

Puebla, Pue., Enero de 2020.

Posgrado en Manejo Sostenible de Agroecosistemas
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Av. 14 sur 6301, Edificio IC4.
Ciudad Universitaria
Col. San Manuel, Puebla, Pue, C.P. 72570
01 (222) 2295500 Ext. 7063
masagro@correo.buap.mx

DEDICATORIA

A mi madre

Por ser luz, motor, guía, sostén y aliento

A mi hermano

Por ser el mejor compañero de vida

A mi padre

Por las enseñanzas perpetuas

AGRADECIMIENTOS

A la **Benemérita Universidad Autónoma De Puebla** por permitirme realizar el posgrado en esta casa de estudios.

Al **Consejo Nacional De Ciencia Y Tecnología** (CONACYT) por otorgarme la beca que financió la realización de este trabajo.

A mi director de tesis, Dr. Luis Daniel Ortega Martínez a quien admiro por su profesionalismo, calidad humana, dedicación y apoyo incondicional en todo momento.

Al Dr. José Antonio Rivera Tapia, Dra. María del Rayo Santellan Olea y Dr. Fernando Hernández Aldana por los comentarios y aportes en las revisiones de este trabajo.

A Jessica Pérez Nava, excelente amiga, colega y compañera que siempre mostró paciencia, disposición y habilidad para ayudarme de manera importante a la culminación de este trabajo.

A mis amigas, Erika, Sara, Carla, Cuquis y Anaí por compartir buenos y malos momentos, formar parte importante de mi vida y por las invaluables enseñanzas.

A mi gran amigo Jesús Alfredo por todo el apoyo que hizo posible que el trabajo se realizara con una sonrisa en la cara.

CONTENIDO

		Página
	CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	
1.1.	Introducción	1
1.2.	Justificación……..	2
1.3.	Planteamiento del problema…….……	3
1.4.	Objetivo general……...	4
1.4.1	Objetivos específicos……...	4
1.5	Hipótesis……...	4
	CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
2.1.	Agricultura protegida……...	4
2.1.1.	Agricultura protegida en el mundo……..	4
2.1.2.	Agricultura protegida en México…….	5
2.2.	Hidroponía……	6
2.2.1.	Solución nutritiva…….	7
2.2.2.	Nutrient Film Technique (NFT)……...	8
2.2.3.	Sistema cerrado……	8
2.2.4.	Sistema abierto…….	9
2.3.	Agua en la producción hidropónica…….	10
2.4.	Enmiendas orgánicas……	10
2.5.	Genotoxicidad……..	12
2.5.1.	Citotoxicidad……	12
2.5.2.	Bioindicadores de daño genético…….	12
	CAPÍTULO III. DAÑO GENOTÓXICO Y CITOTÓXICO DE AGUAS RESIDUALES HIDROPÓNICAS DE INVERNADEROS DE DISTINTOS NIVELES TECNOLÓGICOS	
3.1.	Resumen……..	14
3.2.	Abstract……...	15
3.3.	Introducción……	15
3.4.	Materiales y Métodos…….	16

3.5. Resultados y Discusión…….. 18
3.6. Conclusiones…….. 21
3.7. Referencias 22

CAPÍTULO IV. DAÑO GENOTÓXICO Y CITOTÓXICO DE COMPOSTAS PRODUCIDAS CON AGUAS RESIDUALES HIDROPÓNICAS

4.1. Resumen……. 27
4.2. Abstract…….. 28
4.3. Introducción…… 28
4.4. Materiales y Métodos……. 30
4.5. Resultados y Discusión…….. 31
4.6. Conclusiones…….. 32
4.7. Referencias 33

CAPÍTULO V. REFERENCIAS

5.1. Referencias generales 34

CAPÍTULO 1
INTRODUCCIÓN GENERAL

Las condiciones climáticas, el crecimiento demográfico y la industrialización han amplificado la presión en el uso de fuentes convencionales de agua para diferentes propósitos, uno de ellos es la agricultura que lidera la lista de los sectores consumidores de agua (70 % - 80 %), seguido por la industria y el uso doméstico. Sin embargo, los usos industriales y domésticos son considerados prioritarios, lo que condiciona la cantidad de agua accesible para el sector agrícola (Prazeres, Carvalho, Rivas, Patanita, & Dôres, 2014). En consecuencia, se busca la diversificación de estrategias capaces resolver los problemas que intervengan en la producción de alimentos como la agricultura protegida, la cual consiste en un sistema de producción realizado bajo diversas estructuras que protejan los cultivos para minimizar las restricciones y efectos que imponen los fenómenos climáticos (Moreno Reséndez, Aguilar Durón, & Luévano González, 2011).

En este sentido, se ha evidenciado que la producción agrícola en México, bajo condiciones protegidas, se ha mantenido en constante desarrollo y crecimiento en las últimas décadas (Nieves García, van der Valk, & Elings, 2011), principalmente se cultivan hortalizas, siendo el tomate el cultivo protagónico debido al aumento en el consumo nacional e internacional y a los altos rendimientos. Para continuar con la tendencia de crecimiento en la producción de tomate, se ha intensificado la creación de invernaderos que logren el máximo rendimiento del cultivo y, con esta finalidad, se apoya de técnicas como la hidroponía, que consiste en el desarrollo de plantas soportadas en un sustrato diferente al suelo por donde circula la solución nutritiva (SN) que consiste en agua y diferentes elementos necesarios para el crecimiento y desarrollo de la planta, que son recirculados en el sistema hidropónico cerrado y drenados cuando se trata de un sistema hidropónico abierto (Eek Son, Jin Kim, & In Ahn, 2016). En México predomina este último por lo que el agua que no consume la planta no es aprovechada.

Como consecuencia del drenado del sistema hidropónico abierto y de la riqueza en nutrientes que posee la SN, Dorais & Dubé (2011) han señalado que se favorece la

eutrofización de los cuerpos de agua donde se vierte; de igual manera se ha observado la formación de sales que aumentan la conductividad eléctrica a causa de la acumulación de nitrógeno; además, la carga de plaguicidas utilizados durante el ciclo del cultivo es importante por los impactos genotóxicos que generan, debido a que la mayoría son compuestos electrofílicos, es decir, que pueden reaccionar con varios centros nucleofílicos de las moléculas celulares, incluyendo al ADN (Valencia *et al.*., 2013). Por lo tanto, se pueden considerar tres problemas diferentes pero concatenados, el excedente de SN que no es aprovechada y que se traduce en pérdidas de fertilizantes, agua y dinero; el deterioro del suelo contaminado con el exceso de fertilizante y el daño genético generado por la presencia de agroquímicos en dicha solución.

En respuesta a estos fenómenos existen investigaciones que sugieren la adopción de técnicas que proporcionen un tratamiento al agua residual o la aprovechen para riego de algún cultivo diferente (Chekli *et al.*.,2017; Hultberg *et al.*, 2013, Adrover *et al.*., 2013), o la generación de enmiendas orgánicas que ayuden a revertir este efecto. Este último, de acuerdo con Lasaridi, Protopapa, Kotsou, Pilidis, Manios, & Kyriacou (2006) ha sido ampliamente aceptado en la agricultura debido a la capacidad de disminuir la pérdida de fertilidad del suelo. Sin embargo, hay pocos estudios que aborden el deterioro del suelo agrícola en relación a la SN que es vertida en suelo o en agua, y menos aún sobre los efectos genotóxicos que conlleva la utilización de dichas enmiendas por lo que resulta necesaria la investigación y aplicación de nuevas técnicas y tecnologías que ayuden a contrarrestar dichos efectos.

1.1. Justificación

En México, hasta hace una década, el 80% de la producción bajo cubiertas plásticas se llevaba a cabo en suelo, sin embargo, durante los últimos años la hidroponía ha cobrado mayor relevancia debido a los beneficios que ofrece y al mercado que demanda cada vez una mayor cantidad de producto y calidad.

Se ha considerado a la hidroponía como una tecnología que aumenta la eficiencia del agua, sin embargo, esto es posible cuando se utiliza el sistema cerrado, no obstante, en México predomina el abierto, en el cual la SN no es recirculada y aprovechada en su totalidad, de tal forma que constituyen una fuente de contaminación ambiental, pues por lo general son

vertidas en el suelo, ríos, lagos o mares sin ningún tipo de tratamiento. Con el fin de mejorar la calidad de estas aguas se emplean diferentes estrategias como uso diferentes cultivos, así como plantas de tratamientos para remover los agentes contaminantes y mejorar la calidad del efluente, no obstante, debido al elevado costo económico de esta tecnología su implementación es casi nula por los productores

Diferentes estudios han demostrado que el uso intensivo fertilizantes y plaguicidas ha conducido al paulatino deterioro de la capacidad productiva del suelo por lo que se ha privilegiado el uso de enmiendas orgánicas como mejoradores de sus condiciones físicas, químicas y microbiológicas de slos agrícolas; en este sentido, la SN residual de producción hidropónica posee diferentes nutrientes los cuales pueden ser aprovechados en su totalidad por diferentes plantas y estas utilizarse como enmiendas orgánicas mejorando las condiciones físicas, químicas y microbiológicas del suelo, así como la reducción de la contaminación de cuerpos de agua.

Por otro lado, las enmiendas orgánicas generadas a partir de plantas cultivadas con la SN residual no sólo absorben nutrientes, sino también componentes presentes en los plaguicidas utilizados para el control del cultivo, por lo que se precisa descartar la presencia de elementos que han sido reportados como causantes de daño genético antes de proponer su aplicación.

1.2. Planteamiento Del Problema

En México, la producción de alimentos en agricultura protegida en los últimos años está en constante crecimiento, el tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) es la hortaliza más cultivada en invernaderos debido a los altos rendimientos y a la demanda requerida. Por esta razón, se hace necesaria la adopción de tecnologías que ayuden a mantener o mejorar la producción, calidad e inocuidad que exige el mercado. La hidroponía en su sistema abierto ha destacado como el preferido por los agricultores; sin embargo, las ventajas como el relativamente fácil manejo e implementación de esta herramienta se ven disminuidas por el drenaje de la solución nutritiva oscila entre 31% y 38%. Ante dicha situación, se han documentado técnicas como la depuración y la remediación, pero poco se ha investigado sobre la utilización de aguas residuales de hidroponía como recurso para la producción de

biomasa como enmiendas orgánicas y los efectos genotóxicos que potenciales. De esta manera, surge la presente pregunta de investigación.

¿El agua residual hidropónica puede ser un recurso para la producción de plantas empleadas como enmiendas orgánicas y estas mejorar las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo sin efectos genotóxicos y citotóxicos adversos?

1.3. Objetivo General

Determinar el daño genotóxico y citotóxico, en células de *Allium sativum* expuestas a compostas producidas con agua residual hidropónica, mediante el índice mitótico y aberraciones cromosómicas.

1.3.1. Objetivos Específicos

Determinar las propiedades químicas del agua residual hidropónica de invernaderos de diferente nivel tecnológico.

Evaluar productividad de 100 L de agua residual hidropónica.

Determinar el daño genotóxico y citotóxico en células de *Allium sativum* expuestas a agua residual hidropónica de invernaderos de distintos niveles tecnológicos.

1.4. Hipótesis

El agua residual hidropónica de invernaderos de alta, media y baja tecnología causa daño citotóxico y genotóxico en células de *Allium sativum.*

Las compostas producidas con agua residual hidropónica causan daño citotóxico y genotóxico en células de *Allium sativum.*

2.1. Agricultura protegida

La agricultura protegida (AP), que se define como la modificación del ambiente natural para obtener el óptimo crecimiento de las plantas (Jansen y Malter, 1995), es un sistema de producción realizado bajo diversas estructuras, que tiene como finalidad la protección de cultivos, minimización de las restricciones y efectos que imponen los fenómenos climáticos (Moreno, Aguilar, y Luévano, 2011), creación de condiciones artificiales de microclima necesarias (Santos, Obregón-Olivas y Salamé-Donoso, 2010) e incremento de calidad, cantidad y oportunidad comercial de los productos (Bastida, 2008; Castañeda-Miranda, Ventura-Ramos, Peniche- Vera y Herrera-Ruiz, 2007).

2.1.1. Agricultura protegida en el mundo

Debido a las ventajas que ofrece la AP, la adopción de este sistema de producción, se ha expandido de manera global ya que los productores pueden extender así su temporada de producción o lograr la producción durante todo el año (Jain y Tiwari, 2002), misma razón por la cual se estima que la superficie mundial con invernaderos es de aproximadamente 750.000 ha. Siendo China el país donde más rápido está creciendo, a un ritmo del 30% anual (García Torrente y Pérez Mesa, 2012), mientras que Almería, en España, es la región con mayor concentración de invernaderos en el mundo (Aznar, 2011).

2.1.2. Agricultura protegida en México

En México, casi en todas las regiones agrícolas continúan transitando de la producción a campo abierto a las tecnologías de AP (Kuss, Flores y Harrison, 2016). Desde 1998 a 2008 la tasa media de crecimiento anual era de 34.5%, debido a que tanto EUA como Canadá frenaron su crecimiento en invernaderos, por esto la horticultura en México tiende a incrementar sus exportaciones a EUA en la medida en que exporta más barato (Moreno Reséndez, *et al.*., 2011).

Hasta 2015, la superficie con AP era de poco más de 51.000 ha (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [Sagarpa] y Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2015), con un ritmo de crecimiento del 12% anual

(Ramos Gourcy, 14 de mayo de 2014). Los estados con una mayor superficie de AP son Sinaloa, Baja California y Jalisco, y en menor medida les siguen estados como Colima, Estado de México, Hidalgo, Puebla, Tlaxcala, Oaxaca, Michoacán, Querétaro, San Luis Potosí, Sonora y Zacatecas, presentando un buen ritmo de crecimiento.

Debido a esto, la tecnología de AP es uno de los sistemas más promovidos en los programas gubernamentales y es considerada como una estrategia viable para impulsar el crecimiento y la productividad en el sector agropecuario (Vargas-Canales, Palacios-Rangel, Aguilar-Ávila, Ocampo-Ledesma y Medina-Cuellar, 2018).

De manera general, en México se pueden observar dos vertientes de la AP; en la primera, se ubica el sistema empresarial y de alta tecnología del norte del país, vinculado directamente al mercado internacional, y la segunda se ubica en el centro y el sur del país donde predominan los pequeños productores y su vinculación con los mercados locales y regionales (Vargas-Canales *et al..,* 2016). Con respecto al nivel tecnológico, los niveles más bajos los tienen los pequeños agricultores, que además tienen canales deficientes de comercialización, capital de trabajo insuficiente, baja capacidad de hacer frente a los fenómenos meteorológicos y acceso limitado a créditos (Kuss *et al..*, 2016).

2.2. Hidroponía

El termino hidroponía se deriva del griego “hydro” que significa agua y “ponos” que significa trabajo, literalmente significa trabajo del agua. La palabra hidroponía fue acuñada por el profesor William Gericke a principios de los años treinta al describir el crecimiento de plantas con sus raíces suspendidas en agua que contiene nutrientes minerales. (Nisha, Somen, Kaushal, Narendra, y O.P. Chaurasia, 2018). En otras palabras, la hidroponía es una tecnología para desarrollar plantas en solución nutritiva (SN) que contiene agua y fertilizantes, con o sin el uso de un medio artificial como arena, grava, vermiculita, lana de roca, etc. para proveer soporte mecánico a la planta (Jensen y Collins, 1985; Lara Herrera, 1999) basada en la utilización de mínimo espacio, mínimo consumo de agua y máxima producción y calidad (Beltrano y Gimenez, 2015).

Debido a la rápida urbanización e industrialización no solo está disminuyendo la tierra cultivable sino también las prácticas de la agricultura convencional debido al amplio rango de impactos negativos al ambiente (Nisha *et al.*., 2018), mientras que el uso de la hidroponía crece debido a que provee un sustancial grado de control (Jones, 1982). Lo anterior, aunado al hecho de que es ampliamente reconocido que los suelos agrícolas presentan procesos de degradación tales como salinización, alcalinización, disminución de permeabilidad, desequilibrios nutritivos y desarrollo de enfermedades, pobre drenaje, suelo contaminado o suelo cargado con patógenos, la convierte en una tecnología predilecta debido a que ofrece incluso la posibilidad de usar áreas típicamente inadecuadas para la agricultura convencional como regiones áridas (Alconada *et al.*., 2011; Jensen, 1997).

Para destacar sus ventajas y funcionar de manera correcta, esta técnica requiere una solución nutritiva para el crecimiento de las plantas y a pesar de que por sí misma consume una gran cantidad de agua, la eficiencia del agua es mayor comparada con la agricultura a cielo abierto (Parks, 2011). Sin embargo, debido al encarecimiento de los fertilizantes (Huang, 2009) y al impacto negativo en el ambiente (Giuffrida y Leonardi, 2009; Nakano *et al.*., 2010; Massa *et al.*., 2010), en hidroponía se buscan sistemas más eficientes.

Hasta el año 2013 estaban bajo cubierta 20,000 ha, de las cuales 12,000 son de invernaderos y 8000 de estructuras denominadas casa-sombra (AMHPAC, 2013; Ponce, 2013). En estas condiciones la hidroponía le gana terreno a la producción en suelo debido a que se logra mayor eficiencia y control del riego y la nutrición mineral, ausencia inicial de plagas, enfermedades y malezas, facilidad de esterilización de los sustratos, posibilidad de usar aguas duras o con mayor salinidad, mayor rendimiento y calidad, y más sanidad e inocuidad, entre otras (Cánovas y Magán, 2003; Alarcón, 2006; Raviv y Lieth, 2008).

2.2.1 Solución nutritiva

En hidroponía, las necesidades nutrimentales que tienen las plantas son satisfechas con los nutrimentos que se suministran en la SN. La cantidad y disponibilidad de micro y macro nutrientes que requieren las plantas depende de la especie, la variedad, la etapa fenológica y las condiciones ambientales para poder ser absorbidos por éstas (Carpena *et al.*., 1987; Adams, 1994; Cooper, 1996; Baca *et al.*., 2016).

Para que la SN tenga disponibles los nutrimentos que contiene, debe ser una solución verdadera, todos los iones se deben encontrar disueltos. La pérdida por precipitación de una o varias formas iónicas de los nutrimentos puede ocasionar su deficiencia en la planta (Steiner, 1961).

2.2.2. Nutrient Film Technique (NFT)

Dentro de la amplia gama de sistemas que han comprobado viabilidad, confiabilidad y eficiencia en la producción hidropónica destaca la técnica de la película de nutrientes (NFT) que implica la circulación de una solución de nutrientes a través de canales poco profundos en un sistema donde existe circulación continua o intermitente de una lámina de solución nutritiva (Albright, L.D.; Langhans, R.W., 2014; Carita Tarqui *et al.*. 2019). Estos canales son completamente opacos en su interior, para evitar el desarrollo de algas, mientras que en su exterior es de color blanco para evitar el calentamiento de la SN y las raíces (Graves, 1983).

Esta técnica se desarrolló en Inglaterra en la década de los años sesenta para aumentar la productividad hidropónica, a lo largo de su historia ha sufrido modificaciones como la realizada en la Universidad de la Molina, en Perú, donde se propuso utilizar tubos de PVC con perforaciones donde se colocan las plantas de lechuga (la hortaliza con mayor producción en este tipo se sistema según Carita Tarqui *et al.*., 2019), en unidades de producción de 10 tubos, separados de 20 a 25 cm. Adicionalmente, se utiliza una bomba de acero inoxidable para la inyección de la solución nutritiva a presión, la cual entra por un extremo de los tubos y se recolecta al final de estos, para retornar al tanque de almacenamiento. De esta manera se reutilizan los nutrientes para un mayor aprovechamiento favoreciendo la absorción de los sistemas radiculares (González, 2008). Este sistema se considera cerrado ya que no existe pérdida o salida al exterior debido a que la solución nutritiva circula como una lámina a través de las raíces (Carrasco *et al.*., 2007).

2.2.3. Sistema cerrado

El cultivo hidropónico es el más intensivo y efectivo método de producción de la agricultura sin suelo, se ha desarrollado rápidamente para incrementar los productos agrícolas de la

industria moderna, el cultivo hidropónico cerrado es un sistema que optimiza el recurso hídrico para la producción de vegetales, con una alta productividad en términos de cosecha por unidad de área (Salazar Morelo *et al.*., 2014).

En los sistemas hidropónicos cerrados, donde sí existe recirculación de SN, es más eficiente el uso del agua y los nutrimentos que se aplican para el crecimiento y desarrollo de un cultivo, ya que la SN que drena del sistema (drenaje) es captada y utilizada nuevamente en el mismo sistema de producción; sin embargo, un aspecto que limita la reutilización de la SN y con esto la eficiencia en el uso del agua y de los nutrimentos es la obtención de un rendimiento menor, disminución de la calidad, acumulación de toxinas (fitotoxicidad) deficiencias minerales y el riesgo de diseminación de microorganismos que causan enfermedad en la raíz del cultivo (Déniel *et al.*., 2006; Sánchez *et al.*., 2014).

La productividad refleja un uso eficiente del agua, en los sistemas hidropónicos y en especial los cerrados se pueden alcanzar ahorros de agua desde 20% (Sánches del Castillo, *et al.*., 2014), 30 a 40% (Komosa *et al.*., 2011) o hasta 46% (Dasgan y Ekici, 2005).

Los sistemas hidropónicos con recirculación de la solución nutritiva, ahorran agua y fertilizantes, pero con el tiempo es difícil mantener el balance nutricional y controlar las enfermedades que atacan a la raíz, lo que causa un rendimiento menor respecto a sistemas donde dicha solución no se recircula (Sánchez Del Castillo, *et al.*., 2014).

2.2.4. Sistema abierto

Los sistemas hidropónicos abiertos, donde el exceso de la SN que drena no es reusado y es dirigido al suelo y a las aguas subterráneas (Ehret *et al.*., 2001; Sánchez-Del Castillo *et al.*., 2014) requieren de un alto consumo de agua por presentar un gran desperdicio de ella, lo que representa un costo elevado y un impacto negativo en el ambiente (Morgan, 2003; Pardossi *et al.*., 2011; Sánchez *et al.*., 2014; Moreno *et al.*., 2015).

2.3. Agua en la producción hidropónica

A escala global el sector agrícola es el mayor consumidor de agua (70%-80%) seguido por la industria y el uso doméstico. Tan sólo en México, el 77% del agua concesionada es utilizada en la agricultura (Salazar Moreno 2014)

En un primer acercamiento resulta conveniente que un invernadero de alta tecnología pueda usar hasta 75 veces menos agua que a campo abierto con bajos niveles de tecnología, sin embargo, al tratarse de un recurso no renovable y cada día más demandado, es urgente incrementar la eficiencia en su uso debido a que los usos domésticos e industriales son considerados prioritarios, condicionando la cantidad de agua accesible para el sector agrícola (Prazeres, A.R., Carvalho, F., Rivas, J., Patanita, M., Dôres, J., 2014).

2.4. Enmiendas orgánicas

Algunos de los problemas más importantes que actualmente enfrenta la agricultura en general son la erosión y la pérdida de fertilidad de los suelos. Tradicionalmente, residuos orgánicos han sido incorporados a suelos agrícolas para aumentar el contenido de materia orgánica (MO) y como fuente de nitrógeno para los cultivos. Sin embargo, frecuentemente esta aplicación no es realizada en forma adecuada, atendiendo a las características del suelo y al estado de descomposición de los residuos orgánicos, lo que puede provocar una serie de daños en la salud del ecosistema, como la salinización de los suelos, la lixiviación de sustancias fitotóxicas y el escurrimiento de nitratos y fosfatos a mantos acuíferos y a cuerpos de agua superficiales (Hernandez-Rodríguez, Ojeda-Barrios, López-Díaz, & Arras Vota, 2010).

Derivado de lo anterior, se ha incrementado el conocimiento en cuanto a la generación de enmiendas orgánicas y a los parámetros a considerar para su elaboración e incorporación al suelo, de esta manera se sabe que los suelos fértiles contienen MO, minerales, aire y agua. La importancia de restablecer los niveles de materia orgánica en el suelo que compensen las pérdidas por mineralización, sumado a criterios medioambientales que tienden a la revalorización de residuos, hace que en las últimas décadas la incorporación de éstos, compostados o no, se haya incrementado considerablemente (Rogers *et al.*., 2002).

Aunque la materia orgánica representa generalmente menos del 5% del suelo, es la que mejora sus propiedades físicas y químicas favoreciendo el desarrollo de los cultivos (Mendoza-Netzahual, Carrillo-Rodríguez, Perales-Segovia, & Ruiz Vega, 2003). La calidad y cantidad de la MO en el suelo permite hacer inferencias acerca de su fertilidad y su descomposición como fuente de nutrimentos dependerá tanto de la estructura y complejidad química del material orgánico como del grado de protección que encuentre en el suelo (H. González O. *et al..*, 2008).

Dentro de los beneficios obtenidos por la incorporación de enmiendas orgánicas se encuentran la sustitución de fertilizantes inorgánicos (Mendoza-Netzahual,*et al..*, 2003), la descompactación (Sánchez-Hernández, *et al..*, 2006) y rehabilitación de suelo (Bresson *et al.*. 2001; Levanon & Pluda, 2002; van Heerden *et al..*,2002; Manzano Banda, *et al..*, 2014) y el efecto biocontrolador (Osorio-Nila, *et al..*, 2005). Sin embargo, aun con los estudios realizados sobre beneficios, limitantes, aplicaciones y características físicas y químicas de las enmiendas o abonos orgánicos, existe información escaza que aborde este tema en conjunto con el aprovechamiento de aguas residuales de hidroponia.

Las enmiendas orgánicas o abonos orgánicos son esencialmente material resultante de la descomposición natural de la materia orgánica por acción de los microorganismos presentes en el medio, los cuales digieren los materiales, transformándolos en otros benéficos que aportan nutrimentos al suelo y, por tanto, a las plantas que crecen en él. Es un proceso controlado y acelerado de descomposición de los residuos, que puede ser aeróbico o anaerobio, dando lugar a un producto estable de alto valor como mejorador del suelo (Ramos Agüero, 2014).

Este tipo de prácticas comulgan con los principios agroecológicos pues de acuerdo con Sarandón & Flores 2014; la agroecología aprovecha los procesos naturales de las interacciones que se producen en la finca con el fin de reducir el uso de insumos externo y mejorar la eficiencia biológica de los sistemas de cultivo.

2.5. Genotoxicidad

La genotoxicidad es la capacidad de un agente de causar daño en el material genético, dicha toxicidad puede ser determinada mediante el uso de bioindicadores, método basado en la propiedad que tienen ciertos organismos o poblaciones celulares de detectar contaminantes en un medio o de identificar la pérdida de calidad de un ambiente (Di Marzio y Sáenz, 2013)

En la agricultura, los plaguicidas han sido utilizados para mejorar la producción inhibiendo la presencia de organismos generadores de enfermedades, idealmente los plaguicidas deberían afectar sólo al organismo blanco; sin embargo, este deseo es raramente alcanzado debido a las similitudes en los procesos básicos de la vida del organismo blanco y de los organismos no-blanco (Veleminsky y Gichner 1992).

2.5.1. Citotoxicidad

Para evaluar la citotoxicidad se utilizan parámetros como el índice mitótico (IM), este se refiere al número total de células en división, de esta manera el incremento o decremento de este criterio determina el nivel de citotoxicidad de un sistema bilógico (Smaka-Kinel *et al.*. 1996; Fernandes *et al.*. 2007). Los IM por arriba de los valores del testigo negativo son el resultado de la estimulación de la división celular, lo cual puede caracterizar un evento dañino para las células, llevando a una proliferación descontrolada y a la formación de tumores. Tanto la reducción como el incremento en el IM son indicadores importantes en el monitoreo de la contaminación ambiental, especialmente para la evaluación de contaminantes que presentan potencial tóxico (Hoshina 2002).

De acuerdo con diversos estudios citogenéticos los plaguicidas afectan la división celular, causan condensación anormal del ADN, enrollamiento anómalo de los cromosomas e inactivación del huso acromático (Valencia *et al.*., 2013).

2.5.2. Bioindicadores de daño genético

Entre los más de 200 bioensayos conocidos en la literatura, las plantas superiores son consideradas como excelentes indicadores de efectos citogenéticos y mutagénicos de

contaminantes ambientales. Estos bioensayos son confiables y muy sensibles para el monitoreo y la evaluación de agentes genotóxicos (Waters *et al.*. 1990).

En los últimos años, el uso de plantas para el biomonitoreo de agentes genotóxicos en el ambiente ha tenido un fuerte incremento, plantas como *Allium cepa, Allium sativum, Arabidopsis thaliana, Glycine max, Hordeum vulgare, Tradescantia paludosa, Vicia faba y Zea mays*, han sido consideradas como sistemas de prueba para evaluar genotoxicidad (Petriccione *et al.*., 2013).

Valencia *et al.*. (2013) reporta diversos estudios que confirman que la utilización del bioensayo *Allium ativum*, por su fácil manejo, bajo costo y confiabilidad, representa una excelente opción para determinar genotoxicidad.

CAPÍTULO III

Daño genotóxico y citotóxico en células de *Allium Sativum* expuestas a agua residual hidropónica de invernaderos de distintos niveles tecnológicos.

Genotoxic and cytotoxic damage in Allium Sativum cells exposed to hydroponic wastewater from greenhouses of different technological levels.

Lozada Damian[1], Conde Victoria[2], Rivera-Tapia José Antonio[3], Hernández Aldana Fernando[4], Santellán Olea Ma. Rayo[3], Pérez-Nava Jessica[4], Ortega Luis Daniel[2]*

[1]Benemerita Universidad Autónoma de Puebla. Centro de agroecología. Puebla, Puebla, México
[2]Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, México. Facultad de Biotecnología 13 Poniente No. 1927 Col. Barrio de Santiago, C.P.72410, Puebla, Pue. México.
[3]Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Instituto de Ciencias BUAP. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas. Puebla, Puebla, México
[4]Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Instituto de Ciencias BUAP. Centro de Química de Agua y Suelos. Puebla, Puebla, México

Resumen

La agricultura protegida es un sistema de producción agrícola en el que destacan los invernaderos, estos se clasifican en niveles bajo, medio y alto de acuerdo con las tecnologías que se implementan en ellos. La hidroponía es una de las principales técnicas para optimizar el recurso hídrico cuando utiliza un sistema cerrado; sin embargo, en el sistema abierto, cuando el agua utilizada no es recirculada, esta se dirige al suelo pudiendo llegar hacia cuerpos de agua generando eutrofización así como incremento en la cantidad de sales y de plaguicidas debido a la utilización de fertilizantes nitrogenados y al manejo de plagas en las unidades de producción, el objetivo del presente fue evaluar el daño genético en células de *Allium sativum* expuesto al agua residual hidropónica de invernaderos de diferentes niveles tecnológicos. Los resultados mostraron la presencia de Cobre en las ARH, los invernaderos de baja y mediana tecnología mostraron un daño citotóxico, los invernaderos de alta tecnología mostraron un daño menor.

Palabras clave: Genotoxicidad, citotoxicidad, índice mitótico

Abstract

Protected agriculture is an agricultural production system in which greenhouses stand out, these are classified into low, medium and high levels according to the technologies that are implemented in them. Hydroponics is one of the main techniques to optimize the water resource when using a closed system; However, in the open system, when the water used is not recirculated, it is directed to the ground and can reach water bodies generating eutrophication as well as an increase in the amount of salts and pesticides due to the use of nitrogen fertilizers and handling of pests in the production units, the objective of the present was to evaluate the genetic damage in Allium sativum cells exposed to hydroponic wastewater from greenhouses of different technological levels. The results showed the presence of Copper in the ARH, the greenhouses of low and medium technology showed a cytotoxic damage, the greenhouses of high technology showed a minor damage.

Key Words: Genotoxicity, Citotoxicity, Mitotic Index

Introducción

La agricultura protegida es un sistema de producción agrícola en el que destacan los invernaderos, estos se clasifican en niveles bajo, medio y alto de acuerdo con las tecnologías que se implementan en ellos, como sustratos, sistemas de producción, películas plásticas y automatización climática con lo que se modifica el ambiente natural resguardando el cultivo para minimizar las restricciones y efectos climáticos (Moreno, Aguilar, y Luévano, 2011; Ortega *et al.*, 2014). La adopción de tecnologías y herramientas en la agricultura protegida depende de factores como la obtención de máxima productividad por unidad de área (Salazar Moreno *et al.*, 2014).

Para tales fines, la hidroponía, que se caracteriza por la optimización del recurso hídrico, desarrolla plantas sin suelo, con las raíces suspendidas en una solución nutritiva (SN) que consiste en agua con el contenido de nutrientes minerales necesarios durante las diferentes etapas fenológicas del cultivo (Nisha *et al.*, 2018). El sistema hidropónico se clasifica en

cerrado y abierto, la diferencia radica en el aprovechamiento del agua con nutrientes en donde se recircula la SN o se drena respectivamente. Debido a que en un sistema abierto la solución nutritiva no es recolectada, esta puede llegar hacia cuerpos de agua generando eutrofización, así como incremento en la cantidad de sales (Morgan, 2003; Dasgan y Ekici, 2005; Pardossi *et al*., 2011; Sánchez *et al*., 2014; Youssef and Eissa, 2014; Moreno *et al*., 2015).

De la misma manera, se aplican plaguicidas en la solución nutritiva y vía foliar como estrategia principal para el manejo y control de plagas y enfermedades (Ortega *et al.,* 2017 Storck *et al*., 2017; Notarnicola *et al*., 2017) sin embargo, se ha demostrado su daño al ambiente y salud (del Puerto *et al.,* 2014; Butler-Dawson *et al.,* 2016; Peña-Contreras *et al.*, 2016; Silveira-Gramont, 2018).

La presencia de plaguicidas tanto en aguas como en sedimentos ha sido documentada en los últimos años (Hernández *et al.,* 2011; Ochoa y Maestroni 2018) de la misma manera que ha aumentado el uso de plantas para el biomonitoreo de agentes genotóxicos y citotóxicos en el ambiente. Por lo antes mencionado, el objetivo de este trabajo fue determinar el daño genotóxico y cito tóxico del agua residual hidropónica (ARH) utilizando el bioindicador *Allium sativum*.

Materiales y métodos

El criterio para seleccionar a las unidades de producción se basó en el inventario de invernaderos del estado de Puebla (INEGI 2008). Se seleccionaron invernaderos del municipio de Atlixco, localizado en el centro-oeste del estado de Puebla, a una altitud promedio de 1840 msnm, entre las coordenadas 18º 49’ 30”-18º 58’ 30” N y 98º 18’ 24”-98º 33’ 36” O. Los invernaderos seleccionados representaron una superficie de 150, 000 m^2 de alta tecnología y 10,000 m^2 de mediana tecnología y 3,000 m^2 de baja tecnología según la clasificación propuesta por Ortega *et al.,* 2014 utilizados para el sembradío en la producción de jitomate.

Se caracterizó el uso de plaguicidas y fertilizantes mediante entrevista semiestructurada, dada la variabilidad climática estacional y de plagas de cada año, se optó por las preguntas del ciclo de cultivo actual para facilitar la respuesta y su veracidad.

Se obtuvo ARH de acuerdo al procedimiento establecido en la norma oficial mexicana NMX-AA-003-1980 y se determinaron los parámetros pH, conductividad eléctrica (CE) y temperatura (T) bajo las normas oficiales vigentes (NMX-AA-008-SCFI-2016; NMX-AA-093-SCFI-2000 y NMX-AA-007-SCFI-2013, respectivamente) y los nutrientes (NO_3, Ca, K, Na, P) mediante los medidores LAQUAtwin® y Cu por espectrofotometría de absorción atómica (NMX-AA-051-SCFI-2016).

Para determinar el daño genotóxico y citotóxico se colocaron bulbos de *Allium sativum* de tamaño homogéneo en tubos de ensayo con 50 ml de ARH, se establecieron en un lugar oscuro con la finalidad de obtener raíces. El agua se renovó cada 24 horas durante siete días (Cenkci *et al*., 2008), posteriormente se cortaron los ápices y fueron hidrolizados y colocados sobre una lámina portaobjetos, se tiñeron los cromosomas con orceína acética, y se colocó una lámina cubre objetos, se realizó el "squash" (aplastamiento) del tejido y se sellaron los bordes del cubre objetos con laca para evitar la deshidratación celular, según la técnica de Fiskesjö (1985).

Los preparados citológicos se observaron con un microscopio óptico a 400x y 1000x. De acuerdo a lo descrito por Muñoz-Solarte y Guerrero-Pepinosa (2013), para la evaluación de la citotoxicidad se estimaron los valores del índice mitótico (IM) y de las fases de las células expuestas a las ARH, se consideró daño citotóxico cuando el índice de células expuestas era igual o menor a la mitad del índice mitótico del testigo, mientras que para la determinación de la genotoxicidad se consideró la presencia de puentes cromosómicos y células binucleadas.

Para calcular el índice mitótico y de fases se emplearon las siguientes fórmulas:

$$Índice\ mitótico\colon\ \frac{N°\ células\ en\ mitosis\ (P+M+A+T)}{N°\ total\ de\ celulas\ contadas} * 100$$

$$Índice\ de\ fase\colon\ \frac{N°\ células\ en\ una\ fase\ mitótica}{N°\ total\ de\ celulas\ en\ mitosis} * 100$$

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa Microsoft Office Excel® 2019 y SPSS.

Resultados y discusión

Los principales plaguicidas utilizados durante la etapa de crecimiento del cultivo de *Lycopersicon esculentum* se muestran en la tabla 1. A pesar de que los tres niveles de tecnología de los invernaderos utilizan Cobre, solo los invernaderos de alta tecnología utilizan plaguicidas de origen natural.

Tabla 1. Principales plaguicidas utilizados en los invernaderos de diferente nivel tecnológico

NIVEL DE TECNOLOGÍA	Ingrediente activo	Tipo	CP
	Aceite vegetal de semilla de soya	I	I
	Cymoxanil + Hidróxido de Cobre + Mancozeb	F	IV
ALTA	Cobre	F	IV
	Extracto alcohólico de mimosa + Quercus	F	IV
	Sulfato de Cobre	F	IV
	Cipermetrina	I	III
	Hidróxido cúprico	F	II
MEDIA	Clorotalonil	F	II
	Dimetomorf	F	II
	Mancozeb	F	IV
	Sulfato de Cobre pentahidratado	F	IV
BAJA	Hidróxido cúprico	F	II
	Metalaxil	F	IV
	Chlorpyrifos	I	II

F= funguicida, B= bactericida, N= nematicida, I= insecticida, RCV= regulador de crecimiento vegetal. ID= inductores de resistencia Repelente, Desinfectante. CP= clasificación de peligrosidad según WHO (2009): I= extremadamente peligroso, II= altamente peligroso, III= moderadamente peligroso, IV=ligeramente peligroso.

La presencia de Cobre en los 3 niveles tecnológicos, es similar a los resultados obtenidos por Valles *et al.* 2017; como referencia, se establece por normativa que los límites máximos permitidos para agricultura son 4 mg/L (NOM-001-SEMARNAT-1996). Sin embargo, los resultados muestran niveles superiores en el caso del invernadero de baja tecnología, esto podría ser consecuencia de los plaguicidas empleados como Sulfato de Cobre pentahidratado, Hidróxido cúprico y mancozeb que han sido reportados como agentes causantes de pérdida de biodiversidad, degradación del medio ambiente e inhibición del Índice mitótico (Nayak *et al*., 2007; March, 2014; Gentile *et al.*, 2012; Pórfido *et al.*, 2014; Helmy *et al.*, 2016; Ibrahim, 2016; Vargas González *et al.*, 2019)

Tabla 2. Características químicas del ARH de invernaderos de diferente nivel tecnológico.

Nivel de Tecnología	Ca^+ (ppm)	NO_3 (ppm)	K^+ (ppm)	Na^+ (ppm)	CE (S/m)	pH	Cu (ppm)
Alta	343.3	813.3	383.3	91.7	3.3	5.8	3.0
Media	193.3	453.3	190.0	95.3	1.8	6.9	6.0
Baja	580.0	1700.0	316.7	156.7	5.2	7.1	8.0

Fuente: Datos obtenidos *in situ.*

La diferencia en el contenido de nitratos del ARH entre el invernadero de alta y el de baja tecnología puede responder a la sistematización y óptimo rendimiento control de insumos de que existe en el invernadero de alta tecnología como señala (Salazar *et al.*, 2012; Pieter de Rijk 2008; García et al., 2011).

El ARH del invernadero de baja tecnología presenta una CE mayor, esto como consecuencia del alto contenido de Nitrógeno y de la formación de sales de los fertilizantes nitrogenados como lo señala la literatura (Miller y Cramer, 2005; Campos-García et al., 2016; Zufiaurre *et al.*, 2018).

De igual manera, la presencia de Cobre fue superior en el invernadero de baja tecnología y excede los límites máximos permisibles establecidos bajo la NOM-001-SEMARNAT-1996.

Tabla 3. Citotoxicidad de ARH de invernaderos de diferentes niveles tecnológicos.

Tratamiento	interfase	profase	metafase	anafase	telofase	Total	Índice mitótico	IM respecto % al control
Agua	1848	69	31	21	31	152	76.0	100.0
Baja tecnología	1962	18	6	7	7	38	19.0	25*
	1962	17	11	4	6	38	19.0	25*
	1958	18	8	6	10	42	21.0	27.6*
Mediana tecnología	1951	18	12	11	8	49	24.5	32.2*
	1954	16	11	6	13	46	23.0	30.2*
	1947	19	9	10	15	53	26.5	34.8*
Alta tecnología	1911	59	6	15	9	89	44.5	58.6
		58	12	12	22	104	52.0	68.4
	1895	55	15	13	22	105	52.5	69.1

* = Daño citotóxico (indicié mitótico es menor o igual a 50% del testigo)

El IM mostró la relación que hay entre el ARH de los invernaderos de mediana y baja tecnología con respecto a la citotoxicidad (ver Tabla 3), las concentraciones de Cobre pudieron influir como lo señalan Wojcik, 2003; Lequeux, 2010; Prieto *et al.,* 2009; Martínez *et al.*, 2015; Vargas-González *et al.*, 2019.

Por otro lado, el ARH del invernadero de alta tecnología no presentó daño citotóxico, debido probablemente a que utilizan una mayor cantidad de bioplaguicidas con respecto a las otras unidades de producción (Nava-Pérez *et al.,* 2012; Tyagi *et al.,* 2019)

Tabla 4. Genotoxicidad del ARH de invernaderos de diferentes niveles tecnológicos.

Tratamiento	Células sin aberraciones	C-anafase	Puentes	Valor de chi ^{2}
Control	47	1	2	
	46	2	2	
Baja tecnología	31	6	13	10.6*
	27	7	16	
	29	8	13	
Mediana tecnología	39	6	5	1.28

	38	6	6	
	41	5	4	
Alta tecnología	41	4	5	0.64
	44	2	4	
	42	5	3	

*Daño genotóxico

El análisis estadístico de chi ^{2} mostró solamente daño genotóxico en el ARH del invernadero de baja tecnología, esto puede ser resultado de los principales plaguicidas que utilizaron durante la etapa en la que se realizó el estudio, a diferencia de los invernaderos de mediana y alta tecnología, en este destaca el uso de chlorpyrifos, plaguicida que ha sido estudiado con diferentes bioensayos y se ha reportado que causa fragmentación nuclear del ADN, citotoxicidad y es un potente agente genotóxico (Nagpure *et al.,* 2008 Nagpure *et al.,* 2009; Yin *et al.,* 2009; Huang *et al.,* 2015; Bhatnagar *et al.,* 2016; Ezzi *et al.,* 2016; Ismail *et al.,* 2017; Ferré *et al.,* 2019).

Conclusiones

El uso de diferente tipo de plaguicidas en invernaderos de distinto nivel tecnológico influye en el daño genotóxico y citotóxico que pueden causar debido a los componentes de cada uno. En este estudio, los resultados que se encontraron reflejaron daños genotóxicos y citotóxicos además de haber una mayor presencia de Cobre en el ARH de invernaderos de baja tecnología, a diferencia de los de mediana tecnología donde sólo se encontró daño citotóxico, en el ARH de alta tecnología no se presentaron daños de citotoxicidad ni genotoxicidad.

Lo anterior, muestra la necesidad de desarrollar, implementar y fomentar estrategias enfocadas a la reducción o amortiguamiento del impacto que potencialmente causa el ARH.

Referencias

1. Ali, D., Nagpure, N. S., Kumar, S., Kumar, R., & Kushwaha, B. (2008). *Genotoxicity assessment of acute exposure of chlorpyrifos to freshwater fish Channa punctatus (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. Chemosphere, 71(10), 1823–1831.* doi:10.1016/j.chemosphere.2008.02.007
2. Ali, D., Nagpure, N. S., Kumar, S., Kumar, R., Kushwaha, B., & Lakra, W. S. (2009). *Assessment of genotoxic and mutagenic effects of chlorpyrifos in freshwater fish Channa punctatus (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. Food and Chemical Toxicology, 47(3), 650–656.* doi:10.1016/j.fct.2008.12.021
3. Bhatnagar, A., Yadav, A. S., & Cheema, N. (2016). *Genotoxic Effects of Chlorpyrifos in Freshwater Fish Cirrhinus mrigala Using Micronucleus Assay. Advances in Biology, 2016, 1–6.* doi:10.1155/2016/9276963
4. Butler-Dawson, J., et al., 2016. Organophosphorus pesticide exposure and neurobehavioral performance in Latino children living in an orchard community. Neurotoxicology 53, 165–172.
5. Campos-García T., P. Sánchez-García, G. Alcántar-González y G. CalderónZavala (2016) Respuesta agronómica y nutrimental de fresa a soluciones nutritivas con diferente relación NH4/NO3. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 7:509-606, https://doi. org/10.29312/remexca.v7i3.319
6. Cenkci, S., Yıldız, M., Ciğerci, İ. H., Konuk, M., & Bozdağ, A. (2009). Toxic chemicals-induced genotoxicity detected by random amplified polymorphic DNA (RAPD) in bean (Phaseolus vulgaris L.) seedlings. Chemosphere, 76(7), 900–906. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.05.001
7. Dasgan, H.Y., Ekici, B. 2005. Comparison of open and recycling systems for ion accumulation of substrate, nutrient uptake and water and water use of tomato plants. Acta Hort. 697:399-408.
8. Del Puerto Rodríguez, Asela M, Suárez Tamayo, Susana, & Palacio Estrada, Daniel E. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, *52*(3), 372-387.

9. Ezzi, L., Belhadj Salah, I., Haouas, Z. et al. Environ Sci Pollut Res (2016) 23: 4859. https://doi.org/10.1007/s11356-015-5722-x
10. Ferré, D. M., Ludueña, H. R., Romano, R. R., & Gorla, N. B. M. (2019). *Evaluation of the genotoxic potential of cypermethrin, chlorpyrifos and their subsequent mixture, on cultured bovine lymphocytes. Chemosphere, 125341*. doi:10.1016/j.chemosphere.2019.125341
11. Fiskesjö, G., 1985. The Allium test as a standard in environmental monitoring. Hereditas 102, 99–112.
12. Gentile N., Mañas F., Bosch B., Peralta L., Gorla N. B. M. yAiassa D. (2012). Micronucleus assay as a biomarker of genotoxicology in the occupational exposure to agrochemical in rural workers. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 88 (6), 816-822. DOI: 10.1007/s00128-012-0589-8
13. Helmy, Arif Nursyahid, Thomas Agung Setyawan, Abu Hasan. (2016). Nutrient Film Technique (NFT) Hydroponic Monitoring System. *JAICT, Journal of Applied Information and Communication Technologies*. 1-6
14. HERNÁNDEZ-ANTONIO, Arturo, & HANSEN, Anne M. (2011). Uso de plaguicidas en dos zonas agrícolas de México y evaluación de la contaminación de agua y sedimentos. Revista internacional de contaminación ambiental, 27(2), 115-127. Recuperado en 25 de enero de 2020
15. Ibrahim, Y. A. (2016). Health and environmental impacts of pesticides: A responsibility principle and two novel systems for hazard classification and external cost determination. Journal of Toxicology and Healt. 3(1): 1-9.
16. Ismail, M., Ali, R., Shahid, M., Khan, M. A., Zubair, M., Ali, T., & Mahmood Khan, Q. (2017). *Genotoxic and hematological effects of chlorpyrifos exposure on freshwater fish Labeo rohita. Drug and Chemical Toxicology, 41(1), 22–26.* doi:10.1080/01480545.2017.1280047
17. Lequeux H, Hermans C, Lutts S, Verbruggen N (2010) Response to copper excess in Arabidopsis thaliana: Impact on the root system architecture, hormone distribution, lignin accumulation and mineral profile. Plant Physiol Biochem 48 (8):673-682.
18. Li, D., Huang, Q., Lu, M., Zhang, L., Yang, Z., Zong, M., & Tao, L. (2015). *The organophosphate insecticide chlorpyrifos confers its genotoxic effects by inducing*

DNA damage and cell apoptosis. Chemosphere, 135, 387–393. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.05.024

19. March, G. J. (2014). Agricultura y plaguicidas: Un análisis global (No. 632.95). Fundación Agropecuaria para el Desarrollo de Argentina (FADA).
20. Miller A. J. and M. D. Cramer (2005) Root nitrogen acquisition and assimilation. Plant and Soil 274:1-36, https://doi.org/10.1007/ s11104-004-0965-1
21. Moreno Reséndez, A., & Aguilar Durón, J., & Luévano González, A. (2011). Características de la agricultura protegida y su entorno en México. Revista Mexicana de Agronegocios, 29 , 763-774.
22. Moreno, P. E. D. C.; Castillo, S. D.; Gutiérrez, T. J.; González, M. L. and Pineda, P. J. 2015. Greenhouse lettuce production with and without nutrient solution recycling. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 21(5):43-55
23. Morgan, L. 2003. Greenhouse vegetables hydroponic tomatoes. The growing edge. 15(1):78-86.
24. Muñoz-Solarte, D. M. y Guerrero-Pepinosa, N. (2013). Allium test para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico de extractos naturales en células meristeméticas de Allium cepa. Memorias, 11(19), 83-86.
25. Nava-Pérez, Eusebio; García-Gutiérrez, Cipriano; Camacho-Báez, Jesús Ricardo; Vázquez-Montoya, Elva Lorena. (2012). Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas. *Ra Ximhai*. 17-29.
26. Nayak, P. S., & Singh, B. K. (2007). Removal of phenol from aqueous solutions by sorption on low cost clay. Desalination, 207(1-3), 71–79. doi:10.1016/j.desal.2006.07.005
27. Nisha, S., Somen, A., Kaushal, K., Narendra, S., & O.P., Chaurasia. (2018). Hydroponics as an advanced technique for vegetable production: An overview. Journal of Soil and Water Conservation, 364-371
28. Notarnicola, B., Sala, S., Anton, A., McLaren, S. J., Saouter, E., and Sonesson, U. (2017). The role of life cycle assessment in supporting sustainable agri-food systems: A review of the challenges. Journal of Cleaner Production. 140: 399-409.
29. Ochoa, V., Maestroni, B., 2018. Pesticides in water, soil, and sediments. In: Maestroni, B., Cannavan, A. (Eds.), Integrated Analytical Approaches for Pesticide Management. Academic Press, Vienna, pp. 133–147.
30. Ortega Martínez, L. D., Salazar Magallón, J. A., Somoza Vargas, C. E., Pérez Armendáriz, B., Velásquez Soriano, M., Torres García, G., & Huerta de la Peña, A.

(2017). Uso y manejo de plaguicidas en diferentes sistemas de producción de fresa en México. *Producción agropecuaria y desarrollo sostenible*, 27-42.

31. Ortega, M. L. D.; Ocampo, M. J.; Sandoval, C. E. y Martínez. V. C. 2014. Caracterización y funcionalidad de invernaderos en Chignahuapan Puebla, México. Rev. Bio Cienc. 2(4):261-270.
32. Pardossi, A.; Carmassi, G.; Diara, C.; Incrocci, L.; Maggini, R. and Massa D. 2011. Fertigation and Substrate Management in Closed Soilless Culture. Euphoros. 1ra. (Ed.). Pisa, Italia. University of Pisa. 63 p.
33. Peña-Contreras Z, Miranda-Contreras L, Morales-Ovalles Y, ColmenaresSulbaran M, Davila-Vera D, et al. (2016) Atrazine and mancozeb induce excitotoxicity and cytotoxicity in primary cultures of mouse cerebellar cortex. Toxicol Env Chem 98: 959-976.
34. Pórfido O.D., Butler E., de Titto E., Issaly P. y Benítez R. (2014). Los plaguicidas en la República Argentina. Temas de Salud Ambiental. Departamento de Salud Ambiental, Ministerio de Salud de la Nación, Buenos Aires, República Argentina, 192 pp.
35. Prieto Méndez, Judith, & González Ramírez, César A., & Román Gutiérrez, Alma D., & Prieto García, Francisco (2009). Contaminación y fitotoxicidad en plantas por metales pesados provenientes de suelos y agua. Tropical and Subtropical Agroecosystems, 10(1),29-44.
36. Salazar Moreno, Raquel, Cruz Meza, Pedro, & Rojano Aguilar, Abraham. (2012). Eficiencia en el uso de la energía en invernaderos mexicanos. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, *3*(spe4), 736-742.
37. Salazar-Moreno, R., Rojano-Aguilar, A. & López-Cruz, I.L. La eficiencia en el uso del agua en la agricultura controlada. *Tecnología y Ciencias del Agua*. Vol. V, núm. 2, 2014, pp. 177-183.
38. Sánchez del Castillo, F., Gonzalez Molina, L., Moreno Pérez, E. d., Pineda Pineda, J., & Reyes Gonzalez, C. E. (2014). Dinámica nutrimental y rendimiento de pepino cultivado en hidroponía con y sin recirculación de la solucion nutritiva. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 261-269
39. Silveira-Gramont, M., Aldana-Madrid, M., Piri-Santana, J., Valenzuela-Quintanar, A., Jasa-Silveira, G., & Rodríguez-Olibarria, G. (2018). Plaguicidas agrícolas: un marco de referencia para evaluar riesgos a la salud en comunidades rurales en el estado de sonora, México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 34(1), 7-21. doi:http://dx.doi.org/10.20937/RICA.2018.34.01.01

40. Storck, V., Karpouzas, D. G., and Martin-Laurent, F. (2017). Towards a better pesticide policy for the European Union. Science of the Total Environment. 575: 1027-1033
41. Tyagi, Saurabh; Naresh, RK; Prakash, Satya; Yadav, Gaurav; Tiwari, Shivanshu; Beena Rawat, Beena; Tiwari, Snigdha; Joshi, Alpana; Tyagi, Abhilasha; Sharma; Nidhi. (2019). Conservation agriculture, biofertilizers and biopesticides: A holistic approach for agricultural sustainability and food security: A review. *International Journal of Chemical Studies.*3036-3046.
42. Valles-Aragón, María Cecilia, Ojeda-Barrios, Dámaris Leopoldina, Guerrero-Prieto, Víctor Manuel, Prieto-Amparan, Jesús Alejandro, & Sánchez-Chávez, Esteban. (2017). QUALITY OF IRRIGATION WATER IN A WALNUT AREA OF CHIHUAHUA STATE. *Revista internacional de contaminación ambiental*, *33*(1), 85-97. https://dx.doi.org/10.20937/rica.2017.33.01.08
43. Vargas-González, Gabriela; Alvarez-Reyna, Vicente de Paul; Guigón-López, César; Cano-Ríos, Pedro; García-Carrillo, Mario. (2019). Impacto ambiental por uso de plaguicidas en tres áreas de producción de melón en la Comarca Lagunera, México. *CienciaUAT*. 113-127. doi.org/10.29059/cienciauat.v13i2.1141
44. Wojcik M, Tukiendorf A (2003) Response of wild type of Arabidopsis thaliana to copper stress. Biol Plantarum 46 (1):76-84
45. Yin, X., Zhu, G., Li, X. B., & Liu, S. (2009). *Genotoxicity evaluation of chlorpyrifos to amphibian Chinese toad (Amphibian: Anura) by Comet assay and Micronucleus test. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 680(1-2), 2–6.* doi:10.1016/j.mrgentox.2009.05.018
46. Youssef MMA, Eissa MFM. Biofertilizers and their role in management of plant parasitic nematodes: A review. Biotechnology Pharmaceutical Resources. 2014; 5:1-6.
47. Zufiaurre, Raquel, Gracia Óscar, Cuchí,José, Antonio (2018). Evolución del contenido en nitratos en aguas subterráneas de la hoya de huesca (marzo de 2016 – febrero de 2017). *Lucas Mallada*. 185-207

Capitulo IV

Daño genotóxico y citotóxico, en células de *Allium Sativum* expuestas a compostas producidas con agua residual hidropónica

Genotoxic and cytotoxic damage in Allium Sativum cells exposed to composts produced with hydroponic wastewater

Lozada Damian[1], Conde Victoria[2], Rivera-Tapia José Antonio[3], Hernández Aldana Fernando[4], Santellán Olea Ma. Rayo[3], Pérez-Nava Jessica[4], Ortega Luis Daniel[2]*

[1]Benemerita Universidad Autónoma de Puebla. Centro de agroecología. Puebla, Puebla, México
[2]Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, México. Facultad de Biotecnología 13 Poniente No. 1927 Col. Barrio de Santiago, C.P.72410, Puebla, Pue. México.
[3]Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Instituto de Ciencias BUAP. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas. Puebla, Puebla, México
[4]Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Instituto de Ciencias BUAP. Centro de Química de Agua y Suelos. Puebla, Puebla, México

Resumen

La agricultura protegida es un sistema de producción que ha ido en aumento debido al deterioro del suelo agrícola, a la estructura con la que se construye que ofrece una minimización de los impactos climáticos y a los rendimientos que resultan superiores a los cultivos a cielo abierto. La tecnología que más se ha favorecido con este incremento es la hidroponía por la ventaja que ofrece al optimizar el recurso hídrico; sin embargo, al predominar el sistema hidropónico abierto, en donde el agua que no es aprovechada se drena hacia el suelo o cuerpos de agua, sobre el cerrado, donde se recircula el agua, se favorecen escenarios en los que la eutrofización, salinización de suelos, daños genotóxicos y citotóxicos debido a la carga de fertilizantes y plaguicidas, disueltos en agua, se convierten en un punto de partida para la generación de compostas que ofrezcan una alternativa para el aprovechamiento del agua residual hidropónica. El objetivo de este trabajo fue evaluar el daño genotóxico y citotóxico, en células de *Allium Sativum* expuestas a compostas producidas con agua residual hidropónica. Los resultados mostraron daño genotóxico y citotóxico.

Palabras clave: Genotoxicidad, Citotoxicidad, Índice mitótico, Bioacumulación

Abstract

Protected agriculture is a production system that has been increasing due to the deterioration of agricultural land, the structure with which it is built that offers a minimization of climatic impacts and yields that are superior to open-air crops. The technology that has been most favored with this increase is hydroponics because of the advantage it offers when optimizing the water resource; However, when the open hydroponic system predominates, where the water that is not used is drained to the ground or bodies of water, over the closed one, where the water is recirculated, scenarios are favored in which eutrophication, soil salinization Genotoxic and cytotoxic damage due to the loading of fertilizers and pesticides, dissolved in water, become a starting point for the generation of composts that offer an alternative for the use of hydroponic wastewater. The objective of this work was to evaluate the genotoxic and cytotoxic damage in Allium Sativum cells exposed to composts produced with hydroponic wastewater. The results showed genotoxic and cytotoxic damage.

Key Words: Genotoxicity, Cytotoxicity, Mitotic Index, Bioaccumulation

Introducción

La agricultura protegida (AP) modifica, mediante diversas estructuras, la forma de producir alimentos minimizando los efectos y restricciones que imponen los fenómenos climáticos (Moreno Reséndez, 2011), esto ha acelerado su expansión global en las últimas décadas (Max *et al.*, 2012; Vargas-Canales *et al.*, 2015). Para la obtención de mejores rendimientos se apoya en tecnologías como la hidroponía, la cual desarrolla plantas sin suelo utilizando una solución nutritiva (SN) que está compuesta por agua y fertilizantes necesarias para el cultivo en cada etapa fenológica (Baca *et al*., 2016; De la Rosa-Rodríguez *et al.*, 2016; Nisha *et al.*, 2018).

Existe el sistema hidropónico cerrado, el cual recircula la SN que la planta no utiliza para un mejor aprovechamiento ajustando el pH, conductividad y valores de nutrientes; sin embargo, es el sistema hidropónico abierto, donde se drena el agua que no es aprovechada, el que destaca por la facilidad que hay en el manejo e implementación (Pardossi *et al..*, 2011; Sánchez *et al..*, 2014; Moreno *et al..*, 2015; AlShrouf, 2017). Como consecuencia del drenado

del sistema hidropónico abierto y de la riqueza en nutrientes que posee la SN se favorece la eutrofización de los cuerpos de agua donde se vierte (Almasri 2007; Cherry *et al.*, 2008; Dorais y Dubé, 2011) y la degradación de la calidad del suelo por salinidad debido principalmente al uso de fertilizantes nitrogenados (Cárdenas-Navarro *et al.*, 2004).

Como respuesta a la disminución de la calidad de suelo, la tendencia global apunta hacia la disminución de agroquímicos que resultan potencialmente perjudiciales para la salud y ambiente, pero sin comprometer los rendimientos de los cultivos. Para ello se han investigado, desarrollado y adoptado tecnologías como la producción de abonos orgánicos, con la finalidad de ampliar la gama de alternativas a la aplicación de fertilizantes sintéticos ya que mejoran la calidad del suelo, el suministro de nutrientes, facilitan la penetración del agua, incrementan la retención de humedad y mejora la actividad biológica del suelo (Hernández, 2010; Ramos Agüero, 2014).

Por otro lado, los plaguicidas forman parte de los principales agroquímicos que, junto con los fertilizantes, lideran la lista de productos utilizados en el manejo y control del cultivo. Aunque no son despreciables los beneficios que generan, también se ha documentado el uso excesivo de estos para mantener el control de plagas tanto en agricultura protegida como a cielo abierto. A pesar de que idealmente deberían afectar únicamente a los organismos blanco, no siempre sucede de esta manera, así que favorece daños a la salud humana y al ambiente como alteraciones al sistema nervioso central, funciones reproductoras, neurotóxicos, endócrinos, citogenéticos y genotóxicos (Costa *et al.*., 2006; Benítez-Díaz *et al.*, 2009, Peralta *et al.*., 2011; Koureas *et al.*. 2012; Benítez-Díaz *et al.*, 2013; Valencia-Quintana *et al.*. 2013; Damalas 2015; Ross *et al.*. 2015; Teedon *et al.*. 2015; Butler-Dawson *et al.*. 2016; Peña-Contreras *et al.*. 2016; Silveira-Gramont, 2018).

La generación de compostas a partir de plantas desarrolladas con agua residual de un sistema hidropónico abierto supone el aprovechamiento de la SN que fue drenada, pero también la exposición a plaguicidas disueltos aplicados en ese momento. A pesar de las bondades que ofrece el compostaje no puede descartarse la presencia de agentes genotóxicos y citotóxicos, por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar el daño genotóxico y citotóxico en el bioindicador *Allium sativum* de las compostas producidas a partir de agua residual hidropónica.

Materiales y métodos

Se utilizó (ARH) de un invernadero de alta tecnología según la clasificación propuesta por Ortega *et al*., 2014, se caracterizó el uso de plaguicidas y fertilizantes mediante entrevista semiestructurada, dada la variabilidad climática estacional y de plagas de cada año, se optó por las preguntas del ciclo de cultivo actual para facilitar la respuesta y su veracidad.

Al ARH se le determinó el pH, conductividad eléctrica (CE), temperatura (T) y los nutrientes (NO_3, Ca, K, Na, P) mediante los medidores LAQUAtwin®, y Cu por espectrofotometría de absorción atómica, se montó un sistema hidropónico cerrado, mediante la técnica NFT, con 100 L de ARH se cultivaron *Helianthus annuus, Tagetes erecta, Lactuca sativa* y *Brassica oleracea* hasta el término del volumen de agua para su posterior cuantificación de biomasa. Las especies *Helianthus annuus* y *Tagetes erecta* se compostaron juntos; de la misma manera que *Lactuca sativa* y *Brassica oleracea* en un recipiente plástico de acuerdo con la metodología de la FAO (2013) con una proporción 50:50 entre suelo y biomasa.

Al término de 4 meses se realizó el análisis de propiedades físicas y químicas como capacidad de campo (C.C), pH, conductividad eléctrica (CE) y pruebas de genotoxicidad con el bioindicador *Allium sativum*, utilizando bulbos expuestos a las compostas obtenidas de tamaño homogéneo en charola de germinación, se establecieron en un lugar oscuro con la finalidad de obtener raíces. El agua se renovó cada 24 horas durante siete días (Cenkci *et al*., 2008), posteriormente se cortaron los ápices y fueron hidrolizados y colocados sobre una lámina portaobjetos, se tiñeron los cromosomas con orceína acética, y se colocó una lámina cubre objetos, se realizó el "squash" (aplastamiento) del tejido y se sellaron los bordes del cubre objetos con laca para evitar la deshidratación celular, según la técnica de Fiskesjö (1985).

Los preparados citológicos se observaron con un microscopio óptico a 400x y 1000x. De acuerdo a lo descrito por Muñoz- Solarte y Guerrero –Pepinosa (2013), para la evaluación de la citotoxicidad se estimaron los valores del índice mitótico y de las fases. Mientras que para la determinación de la genotoxicidad se consideró la presencia de puentes cromosómicos y células binucleadas.

Para calcular el índice mitótico y de fases se emplearon las siguientes fórmulas:

$$Índice\ mitótico:\ \frac{N°\ células\ en\ mitosis\ (P+M+A+T)}{N°\ total\ de\ celulas\ contadas} * 100$$

$$Índice\ de\ fase:\ \frac{N°\ células\ en\ una\ fase\ mitótica}{N°\ total\ de\ celulas\ en\ mitosis} * 100$$

Resultados y Discusión

Las plantas presentaron valores más altos en cuanto a la absorción de Nitratos y Potasio, esto debido probablemente a que las cantidades de estos elementos también fueron superiores con respecto a las cantidades encontradas de Ca^+ y Na^+ disueltos en el ARH.

Tabla 1. Componentes de la SN absorbidos por las plantas compostadas.

Parámetro	*ARH**	*Helianthus annuus*	*Tagetes erecta*	*Lactuca sativa*	*Brassica oleracea*
Ca^+ (ppm)	343	45	290	300	630
NO_3(ppm)	813	2400	3800	2400	4100
K^+(ppm)	383	5500	4100	3900	9400
Na^+(ppm)	92	230	140	150	470

***Cantidad de elementos disueltos en el ARH al inicio del montaje de las plantas en el sistema hidropónico cerrado.

La absorción de nutrientes fue mayor en el caso de *Brassica oleracea* con cada parámetro tomado, esto concuerda con el comportamiento descrito por Carranza, (2008); Zamora, (2016); Risco Arias *et al.,* (2016) y Centeno Rodríguez *et al.,* (2017). Por otra parte, a pesar de haber una mayor cantidad de nitratos presentes en el ARH, las 4 variedades de plantas presentaron una mayor absorción de K^+, esto coincide con lo reportado por Cardona *et al.,* (2017); Barba, (2017); Yadav *et al.,* (2018).

Tabla 2. Citotoxicidad de las compostas producidas con ARH

Tratamiento	interfase	profase	metafase	anafase	telofase	Total	Índice mitótico	IM respecto % al control
Turba	1816	101	31	21	31	184	92	100
Composta A*	1869	125	56	42	39	262	131	135
Composta B**	1846	138	65	59	47	309	154	207

*Composta formada con biomasa de *Helianthus annuus* y *Tagetes erecta*
** Composta formada con biomasa de *Lactuca sativa* y *Brassica oleracea*

El índice mitótico en ambas compostas fue superior al 100%, esto probablemente sea consecuencia de la cantidad de nutrientes presentes en el ARH con la que se cultivaron las plantas, como nitratos y potasio resultantes de la SN proveniente, coincidiendo con el comportamiento descrito por Mendoza Nieto *et al.,* (2016); Arata *et al.,* (2017); Parra Terraza *et al.,* (2018) y Juárez-Rosete *et al.,* (2019).

Tabla 3. Genotoxicidad de compostas producidas con ARH

Tratamiento	Células sin aberraciones cromosómicas	c -anafase	Puentes	Chi^2
Suelo	49	0	1	
Composta A	32	7	11	11*
Composta B	38	4	8	10.5*

***** Daño genotóxico

El análisis estadístico de chi ^{2} mostró solamente daño genotóxico en el ARH del invernadero de baja tecnología, esto puede ser resultado de los principales plaguicidas que utilizaron durante la etapa en la que se realizó el estudio, a diferencia de los invernaderos de mediana y alta tecnología, en este destaca el uso de chlorpyrifos, plaguicida que ha sido estudiado con diferentes bioensayos y se ha reportado que causa fragmentación nuclear del ADN, citotoxicidad y es un potente agente genotóxico (Nagpure *et al.,* 2008 Nagpure *et al.,* 2009; Yin *et al.,* 2009; Huang *et al.,* 2015; Bhatnagar *et al.,* 2016; Ezzi *et al.,* 2016; Ismail *et al.,* 2017; Ferré *et al.,* 2019).

Conclusiones

A pesar de la aprobación que tiene el empleo de residuos en forma de abonos orgánicos o compostas, aún existe poca información sobre los efectos genotóxicos y citotóxicos que pueden derivar de su empleo. Es necesaria la generación de conocimiento en este rubro debido al riesgo que supone para el ambiente y para la salud.

Como alternativas agroecológicas figuran las enmiendas o abonos orgánicos, sin embargo, la implementación de estas técnicas, a pesar de las bondades y ventajas que ofrecen para amortiguar el deterioro edáfico, reducir la dependencia de insumos externos, y preservas el patrimonio biocultural que es inherente al agroecosistema, también puede generar efectos adversos aún sin considerar. Lo efectos genotóxicos y citotóxicos tanto del agua residual hidropónica como de las compostas que se pueden generar a partir de ellas tienen un potencial dañino hacia el medio ambiente y la salud aún desconocido.

Referencias

1. Ali AlShrouf. (2017). Hydroponics, Aeroponic and Aquaponic as Compared with Conventional Farming. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS)*. 247-255.
2. Almasri, M.N. 2007. Nitrate contamination of groundwater: a conceptual management framework. Environmental Impact Assessment Review 27: 220-242
3. Baca, C., G. A. J.; Rodríguez, C. E. y Quevedo, N. A. 2016. La solución nutritiva en hidroponía. 1ra. (Ed.). México. 197 pBastida, T. A. (2008). Los invernaderos en México. Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo.
4. Barba González, Andrea. (2017). Efectos de los macronutrientes potasio y fosfato en cultivos hidropónicos: Análisis del crecimiento de la Lactuca sativa. Revista Binvestigación. 3-11.
5. Benítez-Díaz P. y Miranda-Contreras L. (2009). Efectos de la exposición prenatal a paraquat sobre el desarrollo de la transmisión sináptica aminoacídica en la corteza cerebral parietal del ratón. Invest. Clin. 50 (4), 465-478.
6. Benítez-Díaz P. y Miranda-Contreras L. (2013). Contaminación de aguas superficiales por residuos de plaguicidas en Venezuela u otros países de Latinoamérica. Rev. Int. Contam. Ambie. 29 (número especial sobre plaguicidas), 7-23.

7. Butler-Dawson J., Galvin K., Thorne P.S. y Rohlman D.S. (2016). Organophosphorus pesticide exposure and neurobehavioral performance in Latino children living in an orchard community. NeuroToxicology 53, 165-172. DOI: 10.1016/j.neuro.2016.01.009
8. Cárdenas-Navarro, R; Sánchez-Yánez, J. M.; Farías-Rodríguez, R.; Peña-Cabriales, J. J. (2004). Los aportes de nitrógeno en la agricultura. *Revista Chapingo.* 173-178.
9. Cardona, W. A.; Gutiérrez D., J. S.; Monsalve C., O. I.; Bonilla C., C. R. (2017). Efecto de la salinidad sobre el crecimiento vegetativo de plantas de mora de Castilla (*Rubus glaucus Benth.*)micorrizadas y sin micorrizar. Revista colombiana de ciencias hortícolas. 253-266.
10. Cenkci, S., Yıldız, M., Ciğerci, İ. H., Konuk, M., & Bozdağ, A. (2009). Toxic chemicals-induced genotoxicity detected by random amplified polymorphic DNA (RAPD) in bean (Phaseolus vulgaris L.) seedlings. Chemosphere, 76(7), 900–906. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.05.001
11. Cherry, K.A., Shepherd, M., Withers, P.J.A., Mooney, S.J. 2008. Assessing the effectiveness of actions to mitigate nutrient loss from agriculture: A review of methods. Science of the Total Environment 406: 1-23
12. Costa, C., Teixeira, J.P, Silva, S., Roma-Torres, J., Coelho, P., Gaspar, J., Alves, M., Laffon, B., Rueff, J., Mayan, O. (2006). Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. Mutagenesis 21: 343- 350.
13. Damalas C.A. (2015). Pesticide drift: seeking reliable environmental indicators of exposure assessment. En: Environmental indicators (R.H. Armon y O. Hänninen, Eds.). Springer, Dordrecht, Holanda, pp. 251-261.
14. De la Rosa-Rodríguez, Rodolfo; Lara-Herrera, Alfredo; Lozano-Gutiérrez, Julio; Padilla-Bernal, Luz Evelia; Avelar-Mejía, J. Jesús; Castañeda-Miranda, Rodrigo; (2016). Rendimiento y calidad de tomate en sistemas hidropónicos abierto y cerrado. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, noviembre-diciembre, 3439-3452.
15. Dorais, M., & Dubé, Y. (2011). Managing greenhouse organic wastes: a holistic approach. Acta Horticulturae, 893, 183-198.
16. Fiskesjö, G., 1985. The Allium test as a standard in environmental monitoring. Hereditas 102, 99–112.

17. Hernández-Rodríguez, Ofelia A.; Ojeda-Barrios, Dámaris L.; López-Díaz, Julio C.; Arras-Vota, Ana M. (2010). Abonos orgánicos y su efecto en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.1-6.
18. Koureas M., Tsakalof A., Tsatsakis A. y Hadjichristodoulou C. (2012). Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. Toxicol. Lett. 210 (2), 155- 168. DOI: 10.1016/j.toxlet.2011.10.007
19. Max, J. F. J., Schurr, U., Tantau, H. J., Mutwiwa, U. N., Hofmann, T., y Ulbrich, A. (2012). Greenhouse cover technology. Horticultural Reviews, 40(1), 259-396. https://doi.org/10.1002/9781118351871.ch7
20. Moreno Reséndez, A., & Aguilar Durón, J., & Luévano González, A. (2011). Características de la agricultura protegida y su entorno en México. *Revista Mexicana de Agronegocios, 29 ,* 763-774.
21. Moreno, P. E. D. C.; Castillo, S. D.; Gutiérrez, T. J.; González, M. L. and Pineda, P. J. 2015. Greenhouse lettuce production with and without nutrient solution recycling. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 21(5):43-55
22. Nisha, S., Somen, A., Kaushal, K., Narendra, S., & O.P., Chaurasia. (2018). Hydroponics as an advanced technique for vegetable production: An overview. Journal of Soil and Water Conservation, 364-371
23. Pardossi, A.; Carmassi, G.; Diara, C.; Incrocci, L.; Maggini, R. and Massa D. 2011. Fertigation and Substrate Management in Closed Soilless Culture. Euphoros. 1ra. (Ed.). Pisa, Italia. University of Pisa. 63 p.
24. Ortega Martínez, L.D.; Ocampo-Mendoza, J.; Sandoval-Castro, E.; Martínez-Valenzuela, C.; Huerta-De la Peña, A.; Jaramillo-Villanueva, J.L. (2014). Caracterización y funcionalidad de invernaderos en Chignahuapan Puebla, México. Bio ciencias. 2(4) 261-270.
25. Parra Terraza, Saúl, Rubio Carrasco, Werner, Hernández Verdugo, Sergio, Sánchez Peña, Pedro, & Preciado Rangel, Pablo. (2018). Interacción nitrato/potasio en la solución nutritiva y el rendimiento de papa en hidroponía. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 9(5), 993-1005. https://dx.doi.org/10.29312/remexca.v9i5.331

26. Peña-Contreras Z, Miranda-Contreras L, Morales-Ovalles Y, Colmenares Sulbaran M, Davila-Vera D, et al. (2016) Atrazine and mancozeb induce excitotoxicity and cytotoxicity in primary cultures of mouse cerebellar cortex. Toxicol Env Chem 98: 959-976.
27. Peralta, L., Mañas, F., Gentile, N., Bosch, B., Méndez, A., Aiassa, D. (2011). Evaluación del daño genético en pobladores de Marcos Juárez expuestos a plaguicidas: estudio de un caso en Córdoba, Argentina. Diálogos. Revista Científica de Psicología, Ciencias Sociales, Humanidades y Ciencias de la Salud 2: 7-26.
28. Ramos Agüero, David, & Terry Alfonso, Elein. (2014). Generalidades de los abonos orgánicos: Importancia del Bocashi como alternativa nutricional para suelos y plantas. *Cultivos Tropicales, 35*(4), 52-59.
29. Roman, Pilar; Martínez, María M.; Pantoja, Albert. (2013). Manual de compostaje del agricultor. FAO. 112
30. Ross J., Driver J.H., Lunchick C. y O'Mahony C. (2015). Models for estimating human exposure to pesticides. Outlooks on Pest Management 26 (1), 33-37. DOI: 10.1564/v26_feb_09
31. Sánchez del Castillo, F., Gonzalez Molina, L., Moreno Pérez, E. d., Pineda Pineda, J., & Reyes Gonzalez, C. E. (2014). Dinámica nutrimental y rendimiento de pepino cultivado en hidroponía con y sin recirculación de la solucion nutritiva. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 261-269
32. Silveira-Gramont, M., Aldana-Madrid, M., Piri-Santana, J., Valenzuela-Quintanar, A., Jasa-Silveira, G., & Rodríguez-Olibarria, G. (2018). Plaguicidas agrícolas: un marco de referencia para evaluar riesgos a la salud en comunidades rurales en el estado de sonora, México. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 34(1), 7-21. doi:http://dx.doi.org/10.20937/RICA.2018.34.01.01
33. Teedon P., Galea K.S., MacCalman L., Jones K., Cocker J., Cherrie J.W. y van Tongeren M. (2015). Engaging with community researchers for exposure science: lessons learned from a pesticide biomonitoring study. PLoS ONE 10 (8), 1-17. DOI: 10.1371/journal.pone.0136347
34. Valencia-Quintana, Rafael, & Sánchez Alarcón, Juana, & Gómez-Arroyo, Sandra, & Cortés Eslava, Josefina, & Waliszewski, Stefan m., & Fernández, Socorro, &

Villalobos-pietrini, rafael (2013). Genotoxicidad de plaguicidas en sistemas vegetales. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 29( ),133-157.

35. Vargas-Canales, J. M., Palacios-Rangel, M. I., Camacho-Vera, J. H., Aguilar-Ávila, J., y Ocampo-Ledesma, J. G. (2015). Factores de innovación en agricultura protegida en la región de Tulancingo, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 6(4), 827-840.
36. Yadav, S. K., Benbi, D. K., & Toor, A. S. (2018). *Effect of long-term application of rice straw, farmyard manure and inorganic fertilizer on potassium dynamics in soil. Archives of Agronomy and Soil Science, 1–11.* doi:10.1080/03650340.2018.1505040

Referencias Generales

1. Adams, P. 1994. Some effects of the environment on the nutrition of greenhouse tomatoes. Acta Hort. 366: 405-416.
2. Adrover, M., Moyà, G., & Vadell, J. (2013). Use of hydroponics culture to assess nutrient supply by treated wastewater. Journal of Environmental Management, 162-165.
3. Alarcón V. A. (2006) Proyectos en cultivo sin suelo ¿Cómo empezar? In: Cultivos sin Suelo. V. A. Alarcón (ed.). Compendios de Horticultura 17. Ediciones de Horticultura, S. L. Reus. España. pp:11-21.
4. Albright, L.D.; Langhans, R.W. Controlled Environmental Agriculture Scoping Study. Controlled Environment Agriculture Program, Cornell University. Available online: http://www.cornellcea.com/attachments/Controlled%20Environment%20Agriculture%20Scoping%20Study%20pdf%20-%20Adobe%20Acrobat%20Professional.pdf (accessed on 11 November 2014).
5. Alconada, M.; Cuellas, M.; Poncetta, P.; Barragán, S.; Inda, E. y Mitidieri, A. 2011. Nutrición nitrogenada. Efectos en el suelo y en la producción. Horticultura Argentina. 30:(72)5-13.
6. Almasri, M.N. 2007. Nitrate contamination of groundwater: a conceptual management framework. Environmental Impact Assessment Review 27: 220-242
7. AMHPAC, Asociación Mexicana de Horticultura Protegida A. C. (2013) Mexico boasts nearly 21 thousand hectares under protected agriculture. http://www.houseofproduce.com/news/production/?storyid=141 (Octubre 2013).
8. Aznar, A. (2011). El clúster agroindustrial de la horticultura intensiva de Almería: surgimiento, dinámica y perspectivas. Cuadernos de Estudios Agroalimentarios, 2, 199-217. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/270162433_El_cluster_agroindustrial_de_la_horticultura_intensiva_de_Almeria_surgimiento_dinamica_y_perspectivas
9. Baca, C., G. A. J.; Rodríguez, C. E. y Quevedo, N. A. 2016. La solución nutritiva en hidroponía. 1ra. (Ed.). México. 197 pBastida, T. A. (2008). Los invernaderos en México. Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo.
10. Bar-Yosef, B., 2008. Fertigation management and crops response to solution recycling in semi-closed greenhouses. In: Raviv, M., Lieth, H. (Eds.), Soilless Culture, Theory and Practices. Elsevier, Amsterdam, pp. 341–424.
11. Beltrano, J. y O. Gimenez, D. (2015). Cultivo en hidroponía. Buenos Aires, Argentina: Editorial de la Universidad de La Plata.
12. Benítez-Díaz P. y Miranda-Contreras L. (2009). Efectos de la exposición prenatal a paraquat sobre el desarrollo de la transmisión sináptica aminoacídica en la corteza cerebral parietal del ratón. Invest. Clin. 50 (4), 465-478.
13. Benítez-Díaz P. y Miranda-Contreras L. (2013). Contaminación de aguas superficiales por residuos de plaguicidas en Venezuela u otros países de

Latinoamérica. Rev. Int. Contam. Ambie. 29 (número especial sobre plaguicidas), 7-23.
14. Bresson LM, Coch C, Le Bissonais Y, Barruso E, Lecomte V (2001) Soil surface structure by municipal waste compost application. Soil Sci. Soc. Am. J. 65: 1804-1811.
15. Butler-Dawson J., Galvin K., Thorne P.S. y Rohlman D.S. (2016). Organophosphorus pesticide exposure and neurobehavioral performance in Latino children living in an orchard community. NeuroToxicology 53, 165-172. DOI: 10.1016/j.neuro.2016.01.009
16. Cánovas M. F. y C. J. Magán (2003) Cultivos sin suelo. In: Técnicas de Producción en Cultivos Protegidos. F. F. Camacho (ed). Instituto Cajamar. Madrid, España. pp:409-453.
17. Carita Tarqui R., Huanca Chuí C., Fernández Chávez C.M. (2019). Evaluación de niveles de nitrógeno en el cultivo de lechuga (*Lactuca sativa L.*) en el sistema hidropónico NFT, en la ciudad de El Alto - La Paz. *Revista Carr. Ing. Agronómica,*1694-1703.
18. Carpena, O., A.M. Rodríguez y M.J. Sarro. 1987. Evaluación de los contenidos minerales de raíz, tallo y hoja de plantas de tomate como índices de nutrición. An. Edafol. Agrobiol. 46:117-127.
19. Carrasco, G., P. Ramírez, y H. Vogel. 2007. "Efecto de la conductividad eléctrica de la solución nutritiva sobre el rendimiento y contenido de aceito esencial en albahaca cultivada en NFT". Idesia 25 (2): 59-62.
20. Castañeda-Miranda, R., Ventura-Ramos, E., Peniche-Vera, R. del, y Herrera-Ruiz, G. (2007). Análisis y simulación del modelo físico de un invernadero bajo condiciones climáticas de la región central de México. Agrociencia, 41(3), 317-335. Recuperado de http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30241307
21. Chekli, L., Eun Kim, J., El Saliby, I., Kim, Y., Phuntsho, S., Li, S., . . . Kyong Shon, H. (2017). Fertilizer drawn forward osmosis process for sustainable water reuse to grow hydroponic lettuce using commercial nutrient solution. Separation and Purification Technology.
22. Cherry, K.A., Shepherd, M., Withers, P.J.A., Mooney, S.J. 2008. Assessing the effectiveness of actions to mitigate nutrient loss from agriculture: A review of methods. Science of the Total Environment 406: 1-23
23. Cooper, A. 1979. The ABC of NFT. Casper Publications. Australia. pp. 35.
24. Costa, C., Teixeira, J.P, Silva, S., Roma-Torres, J., Coelho, P., Gaspar, J., Alves, M., Laffon, B., Rueff, J., Mayan, O. (2006). Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. Mutagenesis 21: 343- 350.
25. Damalas C.A. (2015). Pesticide drift: seeking reliable environmental indicators of exposure assessment. En: Environmental indicators (R.H. Armon y O. Hänninen, Eds.). Springer, Dordrecht, Holanda, pp. 251-261.
26. Dasgan, H. Y. and Ekici, B. 2005. Comparison of open and recycling systems for ion accumulation of substrate, nutrient uptake and water and water use of tomato plants.

Bélgica. Acta Horticulturae. In: International Symposium on Soilless Culture and Hydroponics. 697:399-408.
27. De la Rosa-Rodríguez, Rodolfo; Lara-Herrera, Alfredo; Lozano-Gutiérrez, Julio; Padilla-Bernal, Luz Evelia; Avelar-Mejía, J. Jesús; Castañeda-Miranda, Rodrigo; (2016). Rendimiento y calidad de tomate en sistemas hidropónicos abierto y cerrado. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, noviembre-diciembre, 3439-3452.
28. Déniel, F.; Renault, D.; Tirilly, Y.; Barbier, G. and Rey, P. 2006. A dynamic biofilter to remove pathogens during tomato soilless culture. Agron. Sustainable Development. 26(3):185-193.
29. Di Marzio, W.D.; Sáenz, M.E. 2013. Ecotoxicología. Buenos Aires: Eudeba. 366p.
30. Dorais, M., & Dubé, Y. (2011). Managing greenhouse organic wastes: a holistic approach. Acta Horticulturae, 893, 183-198.
31. Eek Son, J., Jin Kim, H., & In Ahn, T. (2016). Plant Factory: An Indoor Vertical Farming System for Efficient Quality Food Production. En Nutrient management systems (págs. 213-221).
32. Fernandes T.C.C., Mazzeo D.E.C. y Marin-Morales M.A. (2007). Mechanism of micronuclei formation in polyploidizated cells of Allium cepa exposed to trifluralin herbicide. Pest. Biochem. Physiol. 88, 252-259.
33. García Torrente, R., y Perez Mesa, J. C. (2012). Invernaderos, innovacion para la productividad y el medio ambiente. Cuaderno de Estudios Agroalimnetarios, (1), 115-138. Recuperado de http://www.publicacionescajamar.es/pdf/publicaciones-periodicas/cuadernos-de-estudios-agroalimentarios-cea/3/3-548.pdf
34. Giuffrida F. and C. Leonardi (2009) Nutrient solution concentrations in soilless closed system. Acta Horticulturae 807:463-468.
35. González, R. 2008. "Hidroponía en NFT". Boletín del Programa Nacional Sectorial de Producción Agrícola Bajo Ambientes Protegidos 2 (10): 7-8. Recuperado de: http://www.mag.go.cr/bibliotecavirtual/BoletinAP2(10).pdf
36. Graves, C.J. 1983. The nutrient film technique. Hort. Rev. 5: 1-44. Graves, C.J. y R.G. Hurd. 1983. Intermittent circulation in the nutrient film technique. Acta Hort. 133: 47-52.
37. Huang W. Y. (2009) Factors Contributing to the Recent Increase in U.S. Fertilizer Prices, 2002-08. Agricultural Resources Situation and Outlook Number AR-33. U.S. Department of Agriculture, Economic Research Service, Washington, DC. 21 p.
38. Hultberg, M., S.Carlsson, A., & Gustafsson, S. (2013). Treatment of drainage solution from hydroponic greenhouse production with microalgae. Bioresource Technology, 136, 401-406.
39. J.B. Jones Jr, Hydroponics: its history and use in plant nutrition studies, Journal of plant Nutrition, 5 (1982) 1003-1030
40. Jain, D., & Tiwari, G. N. (2002). Modeling and optimal design of evaporative cooling system in controlled environment greenhouse. Energy Conversion Manag., 43(16), 2235-2250. https://doi.org/10.1016/S0196-8904(01)00151-0
41. Jensen, M. H., and A. J. Malter. (1995). *Protected Agriculture: A Global Review* (Vol. 253). Washington, DC: World Bank.

42. Jensen, M.H. y W.L. Collins. 1985. Hydroponic vegetable production. Hort. Rev. 483-559
43. Karim, M. H. 2014. Agricultural water reforms versus climate changes. Basic Res. J. Agric. Sci. Rev. 3: 6-12
44. Komosa, A.; Pirog, Z. J. W. and Markiewicz, B. 2011. Comparison of yield, nutrient solution changes and nutritional status of greenhouse tomato grown in recirculating and non-recirculating nutrient solution systems. J. Plant Nutr. 34(10):1473-1488.
45. Koureas M., Tsakalof A., Tsatsakis A. y Hadjichristodoulou C. (2012). Systematic review of biomonitoring studies to determine the association between exposure to organophosphorus and pyrethroid insecticides and human health outcomes. Toxicol. Lett. 210 (2), 155- 168. DOI: 10.1016/j.toxlet.2011.10.007
46. Kuss, E., Flores, D., y Harrison, T. (2016). Mexico tomato annual: Mexico continues to expand greenhouse tomato production (Número de reporte: MX6021).
47. Lamsfus, C.; Lasa, B.; Aparicio, T. P. M. e Irigoyen, I. Implicaciones ecofisiológicas y agronómicas de la nutrición nitrogenada: La ecofisiología vegetal: una ciencia de síntesis. 1a ed. España: Paraninfo: 2003. pp. 361-386. ISBN 84-9732-267-3.
48. Lara Herrera, Alfredo (1999). Manejo de la solución nutritiva en la producción de tomate en hidroponía. Terra Latinoamericana https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=573/57317306
49. Lasaridi, K., Protopapa, L., Kotsou, M., Pilidis, G., Manios, T., & Kyriacou, A. (2006). Quality assessment of composts in the Greek market: The need for standards and quality assurance. Journal of Environmental Management, 80, 58-65.
50. Levanon, D & D Pluda. 2002. Chemical, physical and biological criteria for maturity in compost for organic farming. Compost Sci. Util. 10:339-347.
51. M.H. Jensen, Hydroponics worldwide, in: International Symposium on Growing Media and Hydroponics, 1997, pp. 719-730.
52. Massa D., L. Incrocci, R. Maggini, G. Carmassi, C. A. Campiotti and A. Pardossi (2010) Strategies to decrease water drainage and nitrate emission from soilless culture of greenhouse tomato. Agriculture Water Management 97:971-980.
53. Max, J. F. J., Schurr, U., Tantau, H. J., Mutwiwa, U. N., Hofmann, T., y Ulbrich, A. (2012). Greenhouse cover technology. Horticultural Reviews, 40(1), 259-396. https://doi.org/10.1002/9781118351871.ch7
54. Moreno Reséndez, A., & Aguilar Durón, J., & Luévano González, A. (2011). Características de la agricultura protegida y su entorno en México. *Revista Mexicana de Agronegocios, 29* , 763-774.
55. Moreno, P. E. D. C.; Castillo, S. D.; Gutiérrez, T. J.; González, M. L. and Pineda, P. J. 2015. Greenhouse lettuce production with and without nutrient solution recycling. Rev. Chapingo Ser. Hortic. 21(5):43-55
56. Nakano Y., H. Sasaki, A. Nakano, K. Suzuki and M. Takaichi (2010) Growth and yield of tomato plants as influenced by nutrient application rates with quantitative control in closed rockwool cultivation. Journal of the Japanese Society for Horticultural Science 79:47-55.

57. Nieves García, V., van der Valk, O., & Elings, A. (2011). Mexican protected horticulture: Production and market of Mexican protected horticulture described and analyzed. Wageningen ur greenhouse., 108.
58. Nisha, S., Somen, A., Kaushal, K., Narendra, S., & O.P., Chaurasia. (2018). Hydroponics as an advanced technique for vegetable production: An overview. Journal of Soil and Water Conservation, 364-371
59. Pardossi, A.; Carmassi, G.; Diara, C.; Incrocci, L.; Maggini, R. and Massa D. 2011. Fertigation and Substrate Management in Closed Soilless Culture. Euphoros. 1ra. (Ed.). Pisa, Italia. University of Pisa. 63 p.
60. Peralta, L., Mañas, F., Gentile, N., Bosch, B., Méndez, A., Aiassa, D. (2011). Evaluación del daño genético en pobladores de Marcos Juárez expuestos a plaguicidas: estudio de un caso en Córdoba, Argentina. Diálogos. Revista Científica de Psicología, Ciencias Sociales, Humanidades y Ciencias de la Salud 2: 7-26.
61. Petriccione M., Forte V., Valente D. y Ciniglia C. (2013). DNA integrity of onion root cells under cathechol influence. Environ. Sci. Pollut. Res. DOI 10.1007/s11356-012-1422-y.
62. Prazeres, A.R., Carvalho, F., Rivas, J., Patanita, M., Dôres, J., 2014. Reuse of pretreated cheese whey wastewater for industrial tomato production (L. esculentum Mill.). Agr. Water Manage. 140, 87–95.
63. Putra, P. A., & Yuliando, H. (2015). Soilless culture system to support water use efficiency and producto quality: a review. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 3, 283-288.
64. R., ROJANO-AGUILAR, A. & LÓPEZ-CRUZ, I.L. La eficiencia en el uso del agua en la agricultura controlada. Tecnología y Ciencias del Agua. Vol. V, núm. 2, marzo-abril de 2014, pp. 177-183.
65. Ramos Agüero, David, & Terry Alfonso, Elein (2014). GENERALIDADES DE LOS ABONOS ORGÁNICOS: IMPORTANCIA DEL BOCASHI COMO ALTERNATIVA NUTRICIONAL PARA SUELOS Y PLANTAS. Cultivos Tropicales, 35(4),52-59.
66. Raviv M. and H. Lieth (2008) Significance of soilless culture in agriculture. In: Soilless Culture Theory and Practice. M. Raviv and H. Lieth (eds.). Ed. Elsevier. Amsterdam, The Netherlands. pp:1-11.
67. Rogers, BF; LS Boyles; WJ Bamka & JR Heckman. 2002. Guidelines for land application of non-traditional organic wastes (Food processing by products an dmunicipal yard wastes) on farmlands in New Yersey. Pp. 36 en Bulletin E-281. New Yersey Agricultural Experimet Station.
68. Ross J., Driver J.H., Lunchick C. y O'Mahony C. (2015). Models for estimating human exposure to pesticides. Outlooks on Pest Management 26 (1), 33-37. DOI: 10.1564/v26_feb_09
69. S. Parks, Nutrient management of Asian vegetables, Horticulture Australia, 2011.
70. Salazar-Moreno, R., Rojano-Aguilar, A. & López-Cruz, I.L. La eficiencia en el uso del agua en la agricultura controlada. *Tecnología y Ciencias del Agua*. Vol. V, núm. 2, 2014, pp. 177-183.

71. Sánchez del Castillo, F., Gonzalez Molina, L., Moreno Pérez, E. d., Pineda Pineda, J., & Reyes Gonzalez, C. E. (2014). Dinámica nutrimental y rendimiento de pepino cultivado en hidroponía con y sin recirculación de la solucion nutritiva. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 261-269

72. Sánchez Del Castillo, F., Moreno Pérez, E. C., Pineda Pineda, J., Osuna, J. M., Rodríguez Pérez, J. E., & Osuna Encino, T. (2014). Producción hidropónica de jitomate (Solanum lycopersicum L.) con y sin recirculación de la solución nutritiva. *Agrociencia*, 185-197.

73. Sánchez-Del C, F.; Moreno, P. E. C.; Pineda, P. J.; Osuna, J. M.; Rodríguez, P. J. E. y Osuna, E. T. 2014. Producción hidropónica de jitomate (Solanum licopersicum L.) con y sin recirculación de la solución nutritiva. Agrociencia. 2(48):185-197.
74. Sanchez-Guerrero, M.C., Lorenzo, P., Medrano, E., Baille, A., Castilla, N., 2009. Effects of EC-based irrigation scheduling and CO2 enrichment on water use efficiency of a greenhouse cucumber crop. Agric. Water Manage. 96, 429–436.
75. Santos, B. M., Obregón-Olivas, H. A., y Salamé-Donoso, T. P. (2010). Producción de hortalizas en ambientes protegidos: estructuras para la agricultura protegida. Departamento de Horticultural Sciences, Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida. Recuperado de https://horticulture.ucdavis.edu/sites/g/files/dgvnsk1816/files/extension_material_files/Santos_academic_paper_estructuras_para_la_agricultura_protegida.pdf
76. SARANDÓN, J., FLORES, C., 2014. Agroecología bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables. 1a ed. Universidad Nacional de La Plata, Buenos Aires. Argentina, 466 p.
77. Savvas, D., Pappa, V.A., Kotsiras, A., Gizas, G., 2005. NaCl accumulation in a cucumber crop grown in a completely closed hydroponic system as influenced by NaCl concentration in irrigation water. Eur. J. Hort. Sci. 70, 217–223.
78. Singh K, Singh B, Singh R. 2013. Effect of land rehabilitation on physicochemical and microbial properties of a sodic soil. Catena 109:49-57.
79. Smaka-Kınel V., Stegnar P., Lovka M. y Toman J.(1996). The evaluation of waste, surface and ground wáter quality using the Allium test procedure. Mutat. Res.368, 171-179.
80. Stanghellini, C., & Montero, J. I. (2010, August). Resource use efficiency in protected cultivation: towards the greenhouse with zero emissions. In XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): International Symposium on 927 (pp. 91-100).
81. Steiner, A.A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. Plant Soil 15:134-154.
82. Steiner, A.A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. Plant Soil 15:134-154.
83. Teedon P., Galea K.S., MacCalman L., Jones K., Cocker J., Cherrie J.W. y van Tongeren M. (2015). Engaging with community researchers for exposure science:

lessons learned from a pesticide biomonitoring study. PLoS ONE 10 (8), 1-17. DOI: 10.1371/journal.pone.0136347

84. Thompson, R.B., Martinez-Gaitan, C., Gallardo, M., Gimenez, C., Fernandez, M.D., 2007. Identification of irrigation and N management practices that contribute to nitrate leaching loss from an intensive vegetable production system by use of a comprehensive survey. Agric. Water Manage. 89, 261–274.
85. Valencia-Quintana, Rafael, & Sánchez Alarcón, Juana, & Gómez-Arroyo, Sandra, & Cortés Eslava, Josefina, & Waliszewski, Stefan m., & Fernández, Socorro, & Villalobos-pietrini, rafael (2013). Genotoxicidad de plaguicidas en sistemas vegetales. Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 29( ),133-157.
86. Van Heerden, I; C Cronjé; SH Swart & JM Kotzé. 2002. Microbial, chemical and physical aspects of citrus waste composting. Bioresourc.Technol. 81:71-76.
87. Vargas-Canales, J. M., Palacios-Rangel, M. I., Camacho-Vera, J. H., Aguilar-Ávila, J., y Ocampo-Ledesma, J. G. (2015). Factores de innovación en agricultura protegida en la región de Tulancingo, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 6(4), 827-840. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000400013
88. Veleminsky J. y Gichner T. (1992). Methods to assess adverse effects on plants. En: Tardiff R.G. (Ed.) SCOPE 49 - Methods to Assess Adverse Effects of Pesticides on Non-target Organisms. Scientific Committee On Problems of the Environment.
89. Wong V, Greene R, Dalal R, Murphy B. 2010. Soil carbon dynamics in saline and sodic soils: A review. Soil Use and Manag. 26(1):2-11.