

Caracterización de zonas  
afectadas por el agente causal de la  
**caída foliar de pino**  
en Puebla, México

pág. 35

Año 10 • Volumen 10 • Número 8 • agosto, 2017

IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ASOCIADOS A EXPLANTES DE <i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klotzsch PRODUCIDOS <i>in vitro</i>	3
VALORACIÓN AGRONÓMICA DE GENOTIPOS EXPERIMENTALES DE NOCHEBUENA ( <i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klotzsch)	8
VARIACIÓN GENERADA MEDIANTE RECOMBINACIÓN GENÉTICA EN <i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klotzsch	13
TÉCNICAS DE INJERTOS ENTRE GENOTIPOS DE <i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klotzsch	18
CAMBIOS FÍSICOQUÍMICOS POSCOSECHA EN FRUTOS DE AGUACATE "HASS" ( <i>Persea americana</i> Mill) CULTIVADOS A DIFERENTE ALTITUD	24
DISTRIBUCIÓN DEL <i>Abies religiosa</i> (Kunth) Schlttd. & Cham. BAJO ESCENARIOS DE CAMBIO CLIMÁTICO EN EL EJE NEOVOLCÁNICO, MÉXICO	29
y más artículos de interés...	



# Guía para autores

## Estructura

Agroproductividad es una revista de divulgación científica y tecnológica, auspiciada por el Colegio de Postgraduados de forma mensual para entregar los resultados obtenidos por los investigadores en ciencias agrícolas y afines. En ella se publica información original y relevante para el desarrollo agropecuario, social y otras disciplinas relacionadas, en formato de artículo, nota o ensayo. Las contribuciones son arbitradas y la publicación final se hace en idioma español. La contribución debe tener una extensión máxima de 15 cuartillas, incluyendo las ilustraciones. Deberá estar escrita en Word a doble espacio empleando el tipo Arial a 12 puntos y márgenes de 2.5 cm. Debe evitarse el uso de sangría al inicio de los párrafos. Las ilustraciones serán de calidad suficiente para su impresión en offset a colores, y con una resolución de 300 dpi en formato JPEG, TIFF o RAW.

## La estructura de la contribución será la siguiente:

1) Artículos: una estructura clásica definida por los capítulos: Introducción, Resumen, abstract, objetivos, Materiales y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones y Literatura Citada; 2) Notas, Ensayos y Relatorías: deben tener una secuencia lógica de las ideas, exponiendo claramente las técnicas o metodologías que se transmiten o proponen.

## Formato

**Título.** Debe ser breve y reflejar claramente el contenido. Cuando se incluyan nombres científicos deben escribirse en *itálicas*.

**Autor o Autores.** Se escribirán él o los nombres completos, separados por comas, con un índice progresivo en su caso. Al pie de la primera página se indicará el nombre de la institución a la que pertenece el autor y la dirección oficial, incluyendo el correo electrónico.

**Cuadros.** Deben ser claros, simples y concisos. Se ubicarán inmediatamente después del primer párrafo en el que se mencionen o al inicio de la siguiente cuartilla. Los cuadros deben numerarse progresivamente, indicando después de la referencia numérica el título del mismo (Cuadro 1. Título), y se colocarán en la parte superior. Al pie del cuadro se incluirán las aclaraciones a las que se hace mención mediante un índice en el texto incluido en el cuadro.

**Figuras.** Corresponden a dibujos, fotografías, gráficas, diagramas. Las fotografías serán a colores y con una resolución de 300 dpi en formato JPEG, TIFF o RAW y las gráficas o diagramas serán en formato de vectores (CDR, EPS, AI, WMF o XLS).

**Unidades.** Las unidades de pesos y medidas usadas serán las aceptadas en el Sistema Internacional.

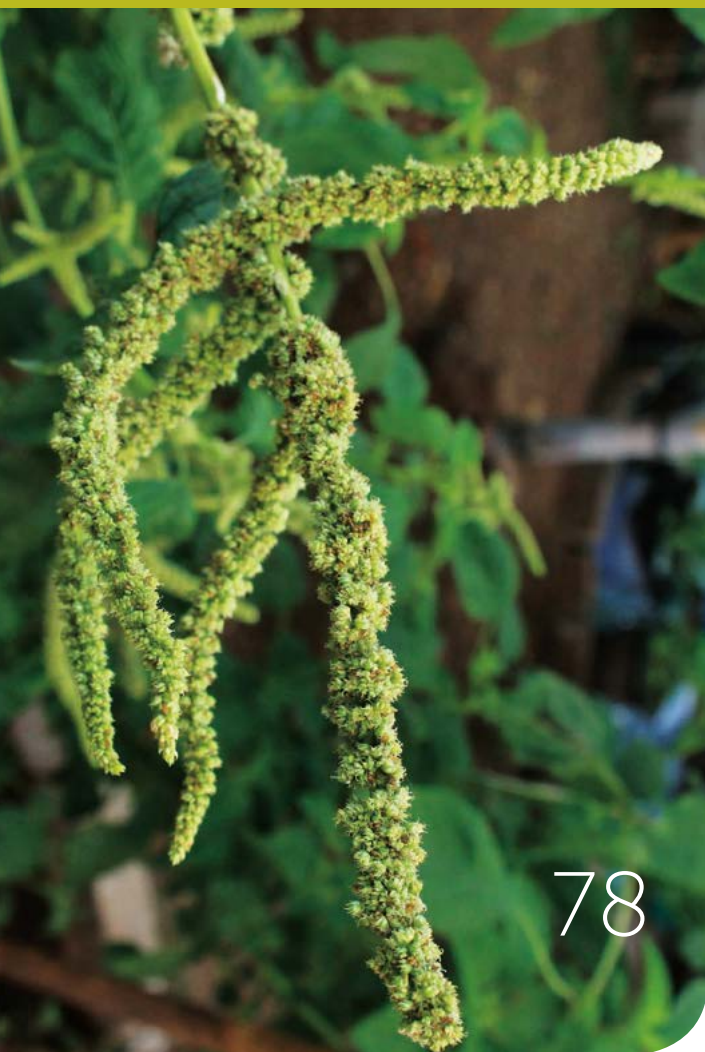
### Citas libros y Revistas:

- Bozzola J. J., Russell L. D. 1992. Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists. Ed. Jones and Bartlett. Boston. 542 p.
- Calvo P., Avilés P. 2013. A new potential nano-oncological therapy based on polyamino acid nanocapsules. Journal of Controlled Release 169: 10-16.
- Gardea-Torresdey J. L., Peralta-Videa J. R., Rosa G., Parsons J. G. 2005. Phytoremediation of heavy metals and study of the metal coordination by X-ray absorption spectroscopy. Coordination Chemistry Reviews 249: 1797-1810.

Agro productividad. Año 10, Volumen 10, número 8, agosto 2017, Agro productividad es una publicación mensual editada por el Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco Km. 36.5, Montecillo, Texcoco, Estado de México. CP 56230. Tel. 5959284427. www.colpos.mx. Editor responsable: Dr. Jorge Cadena Iñiguez. Reservas de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2016-022412450500-102. ISSN: 2448-7546, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Impresa en México por CONTENT DELIVERY MÉXICO S. DE R. L. DE C. V. Calle Quetzal no. 1 interior 1, El Rosedal Delegación Coyoacán. CDMX. Este número se terminó de imprimir el 31 de agosto de 2017 con un tiraje de 3000 ejemplares.



El costo por publicación aceptada es \$3000.00 MX.



# Contenido

3	IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ASOCIADOS A EXPLANTES DE <i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klotzsch PRODUCIDOS <i>in vitro</i>
8	VALORACIÓN AGRONÓMICA DE GENOTIPOS EXPERIMENTALES DE NOCHEBUENA ( <i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klotzsch)
13	VARIACIÓN GENERADA MEDIANTE RECOMBINACIÓN GENÉTICA EN <i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klotzsch
18	TÉCNICAS DE INJERTOS ENTRE GENOTIPOS DE <i>Euphorbia pulcherrima</i> Willd. ex Klotzsch
24	CAMBIOS FÍSICOQUÍMICOS POSCOSECHA EN FRUTOS DE AGUACATE "HASS" ( <i>Persea americana</i> Mill) CULTIVADOS A DIFERENTE ALTITUD
29	DISTRIBUCIÓN DEL <i>Abies religiosa</i> (Kunth) Schldtl. & Cham. BAJO ESCENARIOS DE CAMBIO CLIMÁTICO EN EL EJE NEOVOLCÁNICO, MÉXICO
35	CARACTERIZACIÓN DE ZONAS AFECTADAS POR EL AGENTE CAUSAL DE LA CAIDA FOLIAR DE PINO EN PUEBLA, MÉXICO
42	EFFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO A NIVEL LOCAL EN LA DISTRIBUCIÓN POTENCIAL DE CUATRO ESPECIES FORESTALES DE LA CUENCA RÍO BRAVO-SAN JUAN, COAHUILA, MÉXICO
48	ESTUDIO FENOLÓGICO DE <i>Licania arborea</i> Seem (CHRYSOBALANACEAE) EN JIQUIPILAS, CHIAPAS; MÉXICO
53	GERMINACIÓN <i>in vitro</i> DE SEMILLAS DE <i>Cedrela odorata</i> L. DE GENOTIPOS EXTINTOS
59	EFFECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE <i>Pinus greggii</i> Engelm. var. <i>australis</i> EN VIVERO SOBRE SU DESARROLLO MORFOFISIOLÓGICO EN CAMPO
65	ORGANOGENESIS DIRECTA DE YEMAS FLORALES DE <i>Musa</i> sp., Y VARIACIÓN SOMACLONAL EVALUADA POR MARCADORES MOLECULARES
72	CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PASTA DE CLONES DE CACAO ( <i>Theobroma cacao</i> L.)
78	MAQUINARIA AGRÍCOLA Y PRODUCTORES DE AMARANTO ( <i>Amaranthus</i> spp.) EN LA REGIÓN CENTRO DE MÉXICO
84	LA PRODUCCIÓN DE <i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni EN MÉXICO

SAGARPA  
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,  
GANADERÍA, DESARROLLO RURAL,  
PESCA Y ALIMENTACIÓN



ÍNDICE DE REVISTAS MEXICANAS  
CONACYT DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA



Corrección de estilo: Hannah Infante Lagarda

Maquetación: Alejandro Rojas Sánchez

Suscripciones, ventas, publicidad, contribuciones de autores:

Guerrero 9, esquina Avenida Hidalgo, C.P. 56220, San Luis Huexotla, Texcoco, Estado de México.

Teléfono: 01 (595) 928 4703 jocadena@colpos.mx; jocadena@gmail.com

Impresión 3000 ejemplares.

Es responsabilidad del autor el uso de las ilustraciones, el material gráfico y el contenido creado para esta publicación.

Las opiniones expresadas en este documento son de exclusiva responsabilidad de los autores, y no reflejan necesariamente los puntos de vista del Colegio de Postgraduados, de la Editorial del Colegio de Postgraduados, ni de la Fundación Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas.

## Directorio

Said Infante Gil  
Editor General del Colegio de Postgraduados

Rafael Rodríguez Montessoro<sup>†</sup>  
Director Fundador

Jorge Cadena Iñiguez  
Director de Agroproductividad

### Comité Técnico-Científico

Colegio de Postgraduados—Montecillo  
Ma. de Lourdes de la Isla  
Dr. Ing. Agr. Catedrática Aereopollución

Ángel Lagunes T.  
Dr. Ing. Agr. Catedrático Entomología

Enrique Palacios V.  
Dr. Ing. Agr. Catedrático Hidrociencias

Colegio de Postgraduados—Córdoba  
Fernando Carlos Gómez Merino  
Dr. Ing. Agr. Biotecnología

Colegio de Postgraduados—San Luis Potosí  
Fernando Clemente Sánchez  
Dr. Ing. Agr. Fauna Silvestre

Luis Antonio Tarango Arámbula  
Dr. Ing. Agr. Fauna Silvestre

Instituto de Investigaciones Forestales,  
Agrícolas y Pecuarias  
Pedro Cadena I.  
Dr. Ing. Agr. Transferencia de Tecnología

Carlos Mallen Rivera  
M. C. Director de Promoción y Divulgación

Instituto Interamericano de Cooperación  
para la Agricultura  
Victor Villalobos A.  
Dr. Ing. Agr. Biotecnología

Instituto Interamericano de Cooperación  
para la Agricultura  
(Guatemala)  
Manuel David Sánchez Hermosillo  
Dr. Ing. Agr. Nutrición Animal y manejo de Pastizales


Servicio Nacional de Inspección y  
Certificación de Semillas  
(SNICS-SAGARPA)  
Manuel R. Villa Issa  
Dr. Ing. Agr. Economía Agrícola.  
Director General



Dr. Jorge Cadena Iñiguez

## Editorial

Volumen 10 • Número 8 • agosto, 2017.

Con el tema "Integración de la Biodiversidad ante el Cambio Climático" se realiza por segunda vez en México el evento internacional que congrega al mayor número de especialistas en recursos genéticos de toda una región del planeta y que en ésta, su onceava edición bienal, visita a la hermosa ciudad de Guadalajara, enclavada en el occidente de México. Por primera vez este importante simposio pasa a ser "de América Latina y El Caribe" a "para las Américas y el Caribe", adquiriendo un ámbito continental y es por ello que a partir de esta edición, adopta el nombre del "XI Simposio Internacional de Recursos Genéticos para las Américas y el Caribe (XI SIRGEAC)", dando una calurosa bienvenida a nuestros colegas de Estados Unidos de América y Canadá. Los temas de investigación considerados son: Recolección, Evaluación, Documentación, Caracterización, Conservación, Uso sustentable de Recursos Genéticos Agrícolas, Forestales, Pecuarios, Acuáticos y Microbianos. El Colegio de Postgraduados, como parte del comité organizador realizará la publicación de los trabajos (magistral, oral y cartel) seleccionados por el comité editorial y la revisión de árbitros en la Revista  con el fin de contribuir a aumentar la visibilidad y divulgación internacional de los avances de investigación en los temas enunciados. El evento será del 15 al 18 de octubre de 2017 en la ciudad de Guadalajara, Jalisco, México.

Dr. Jorge Cadena Iñiguez  
Director de 



# IDENTIFICACIÓN MOLECULAR DE HONGOS ASOCIADOS A EXPLANTES DE *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch PRODUCIDOS *in vitro*

## MOLECULAR IDENTIFICATION OF FUNGI ASSOCIATED TO *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch EXPLANTS PRODUCED *in vitro*

Ramírez-Rojas, S.G.<sup>1\*</sup>; Palacios-Talavera, A.A.<sup>1</sup>; Osuna-Canizalez, F.J.<sup>1</sup>; Canul-Ku, J.<sup>1</sup>; García-Pérez, F.<sup>1</sup>; Ornelas-Ocampo, K.<sup>2</sup>; Landa-Salgado, P.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Zacatepec, Km 0.5 Carretera Zacatepec-Galeana. C. P. 62780, Col. Centro Zacatepec, Morelos, México. <sup>2</sup>Posgrado en Fitosanidad-Fitopatología, Colegio de Postgraduados, Km 36.5 carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, México. C.P. 56230.

\*Autor de Correspondencia: sergioinifap@yahoo.com.mx

### RESUMEN

Los explantes producidos *in vitro* de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Morelos, México, tienen problemas con hongos fitopatógenos, y aunque el método de desinfección de explantes está diseñado para eliminar microorganismos saprofitos de la superficie del tejido, algunos resisten este proceso y se transmiten a las plántulas en la fase de aclimatación. Se identificó molecularmente a los hongos asociados a plántulas de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch producidos *in vitro*, las plántulas se aclimatizaron en invernaderos; se muestrearon durante los últimos diez días y se recolectaron 20 plantas con manchas necrosadas, de las cuales se aislaron cuatro cepas de hongos para su identificación molecular en medio de cultivo a base de PDA; los aislamientos se amplificaron mediante la técnica de PCR, se secuenciaron y analizaron mediante Chromas Lite<sup>®</sup>, y se alinearon con BLAST del GenBank del National Center for Biotechnology Information de USA. Los hongos asociados a plántulas presentaron 100 % de similitud con *Fusarium solani*, *Fusarium verticillioides* y *Fusarium equiseti*.

**Palabras clave:** vitroplantas, nochebuena, hongos, contaminación.

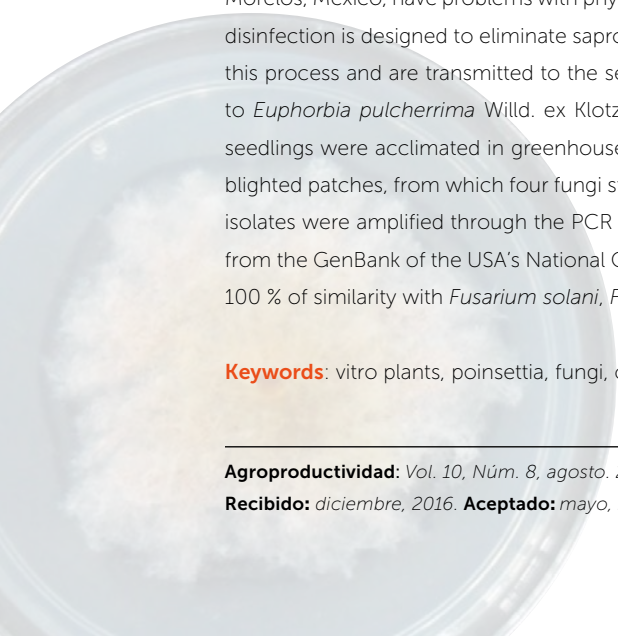
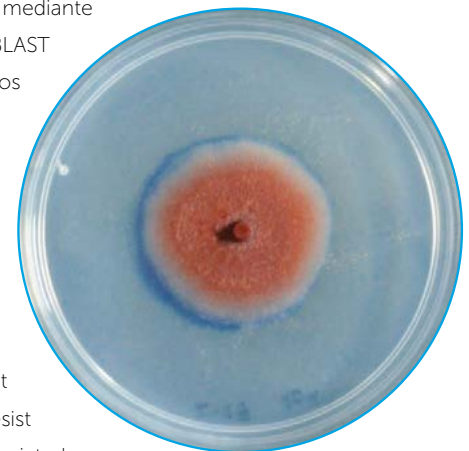
### ABSTRACT

The explants of poinsettia (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) produced *in vitro* in Morelos, México, have problems with phytopathogen fungi, and although the method of explant disinfection is designed to eliminate saprophyte microorganisms of the tissue surface, some resist this process and are transmitted to the seedlings during the acclimation phase. The fungi associated to *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch seedlings produced *in vitro* were identified molecularly, the seedlings were acclimated in greenhouses; they were sampled during the last ten days and 20 plants were collected with blighted patches, from which four fungi strains were isolated for their molecular identification in a PDA growth medium; the isolates were amplified through the PCR technique, sequenced and analyzed with Chromas Lite<sup>®</sup>, and aligned with BLAST from the GenBank of the USA's National Center for Biotechnology Information. The fungi associated to seedlings presented 100 % of similarity with *Fusarium solani*, *Fusarium verticillioides* and *Fusarium equiseti*.

**Keywords:** vitro plants, poinsettia, fungi, contamination.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto, 2017, pp: 3-7.

**Recibido:** diciembre, 2016. **Aceptado:** mayo, 2017.



## INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo de la nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd Ex Klotzsch) se ha incrementado de manera sorprendente, convirtiéndose en un cultivo de importancia cultural y económica (Pineda *et al.*, 2008). La nochebuena se encuentra cultivada ampliamente a nivel mundial. Es la planta que más se produce y vende en maceta en América del Norte, Europa, Asia y Australia (Williams, 2005). Las plantas cultivadas de nochebuena en México proceden del extranjero, a pesar de ser originaria de México y Centroamérica, por lo anterior el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Zacatepec, se propuso generar variedades nuevas, iniciando por recolecta de semillas y varetas de plantas silvestres, semicultivadas y cultivadas en varias regiones de México (Canul *et al.*, 2013), para desarrollar nuevas variedades mediante la recombinación genética (Márquez, 2016), selección recurrente, mutagénesis y reproducción vegetativa (García *et al.*, 2015) *in vitro* (Rangel *et al.*, 2015), actualmente se disponen de genotipos experimentales con alto potencial comercial. La propagación se hace principalmente por esquejes y varetas (García *et al.*, 2011; García *et al.*, 2015). Esta técnica tiene dos limitantes, la primera, es la producción limitada de plantas nuevas a partir de una planta madre sana. Cada planta madre puede producir aproximadamente 400 plantas hijas al año. La segunda limitante, es la transmisión de algunos patógenos de la madre a las hijas. Se ha documentado que algunos patógenos, tales como bacterias, hongos, virus y fitoplasmas se transmiten de plantas madre a la plantas hijas por esta vía (Agrios, 2005). Por lo anterior, se ha propuesto el uso de técnicas alternativas, tales como la propagación *in vitro* (Rangel *et al.*, 2015), que es una técnica utilizada para obtener gran cantidad de plantas a partir de una sola planta madre. El número de plantas hijas que se obtienen por cada madre se incrementa alcanzando hasta 1,000 plantas por mes. Además, esta técnica sirve para obtener plantas libres de patógenos (Milošević *et al.*, 2012). En la fase experimental, la siembra *in vitro* de nuevas variedades de nochebuena del Campo Experimental Zacatepec, han presentado problemas de contaminación con hongos, los cuales están asociados a las plantas madre. Aunque el método de desinfección de los explantes está diseñado para eliminar microorganismos saprofitos de la superficie del tejido, es probable que algunos resistan este proceso, pudiendo transmitirse a los explantes y a las plántulas en la fase *in vitro* y de aclimatación. Para diseñar un método de control efectivo, primero es necesario identificar los hongos asociados con la contaminación de explantes, por lo que se planteo aislar, caracterizar e identificar molecularmente los hongos asociados a plántulas de *Euphorbia pulcherrima*.

## MATERIALES Y METODOS


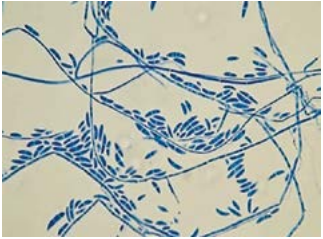
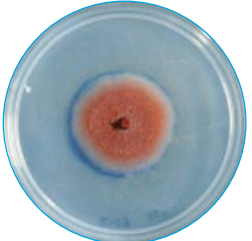





En explantes *in vitro* de yema de nochebuena se registró contaminación con hongos fitopatógenos, los cuales se sometieron a un proceso de identificación molecular, como se describe a continuación. Se aislaron cepas fúngicas de explantes de nochebuena, tomando muestras de micelio de los explantes de yema de variedades experimentales cultivadas *in vitro* infectados con una aguja de disección previamente desinfectada, y se sembraron individualmente en cajas Petri con agar papa dextrosa (PDA, por sus siglas en inglés) su-

plementado con ácido láctico (AL) a 25% (PDA-AL), las cajas se incubaron a 25 °C por siete días (punto máximo del desarrollo del hongo). Los aislamientos totales de *Fusarium* de las plantas *in vitro* fueron cuatro. Una vez que se obtuvieron cepas puras de este patógeno, se inició el procedimiento para la obtención de cultivos monospóricos de cada cepa fúngica. A las cajas Petri que contenían el hongo puro, se les agregó 10 mL de agua destilada estéril, cubriendo completamente. La caja se agitó con movimientos suaves para desprender y con una micropipeta se extrajeron 200  $\mu$ L de la suspensión. La concentración de esporas se determinó contando el número de conidios en una cámara Neubauer colocada en un microscopio compuesto. De las suspensiones obtenidas, se realizaron diluciones hasta obtener  $1.5 \times 10^8$  conidios por mililitro. De esta última, se tomaron 30  $\mu$ L y se plaquearon en cajas Petri con PDA-AL25, las cajas se incubaron a 25 °C por 24 h. Pasado este tiempo, las siembras se observaron en microscopio para buscar esporas aisladas y en desarrollo. Se seleccionó el micelio y se sembró en cajas Petri con PDA-AL25 e incubadas por siete días, para que el hongo se desarrollara en un cultivo monospórico. Además, se dio seguimiento al crecimiento radial de cada cepa, a la producción de macroconidios y otras estructuras para su caracterización morfológica (Cuadro 1). Las esporas de las cepas monospóricas se guardaron a -30 °C en una solución de agua-glicerol a 15 %.

Para observar las estructuras de los macroconidios y microconidios, se tomó un pedazo de micelio del hongo con una aguja estéril y se depositó en un portaobjetos limpio. A la preparación se le agregó



**Cuadro 1.** Crecimiento de cuatro tipos de hongos sembrados en cajas Petri de plántulas y explantes de *Euphorbia pulcherrima* Willd Ex Klotzsch *in vitro*, observadas el primer día de evaluación morfológica, y a siete días de incubación e identificado molecularmente.

Hongos entomopatógenos sembrados y aislados en cajas Petri con medio de cultivo PDA+AL	Tipo de crecimiento del hongo en caja a siete días de evaluación	Identificado molecularmente como
		<i>Fusarium solani</i>
		<i>Fusarium verticillioides</i>
		<i>Fusarium verticillioides</i>
		<i>Fusarium equiseti</i>

Para la identificación molecular de las cepas de *Fusarium*, se obtuvo con un sacabocados de 3.4 mm de diámetro, una porción de agar de un cultivo monospórico de cada hongo crecido en PDA+AL de siete a diez días. La porción de agar se colocó dentro de un matraz de 125 mL con 25 mL de medio mínimo líquido (MM). Los hongos se dejaron crecer en agitación a 200 rpm de entre tres y cinco días a 25 °C. Transcurrido este periodo de tiempo, el caldo con el hongo se filtró con un embudo en el que se colocó una pieza de papel filtro sobre un matraz Erlenmeyer para vaciar el contenido total del matraz con el crecimiento de cada hongo. Una vez filtrado el micelio se pesaron 100 mg y se procedió a usar el kit DNeasy Plant Mini Kit de Qiagen® (Cat. 69106), siguiendo el protocolo proporcionado por el fabricante. La extracción e integridad del DNA se verificó en un gel de agarosa 1%. La reacción de PCR se realizó utilizando los oligonucleótidos ITS1 (5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3') e ITS4 (5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'), para la amplificación de los espacios transcritos internos (ITS, por sus siglas en inglés) situados entre los genes ribosomales (rARN) 18S-5.8S y 5.8S-28S (White *et al.*, 1990), el DNA genómico se usó como templado. La reacción se llevó a cabo en un termociclador (Techné® PHC-39, en un volumen final de 25  $\mu$ L, los cuales contenían buffer 1x, 200  $\mu$ M de dNTP's, 0.4  $\mu$ M de cada oligonucleótido, 1  $\mu$ L de enzima GoTaq de Promega® (Cat. M8295) y 1  $\mu$ g de DNA genómico. El programa de PCR consistió en un paso inicial de desnaturalización a 94 °C por 5 min, seguido por 35 ciclos de 94 °C por 30 s, 61 °C por 30 s y 72 °C por 30 s, y un paso final de 72 °C por 5 min. El análisis de PCR

0.05 mL de lactofenol, y colocó un cubreobjetos limpio. La muestra se observó en un microscopio compuesto a 60 X. Cada cepa de los hongos a identificar se sembró en una caja Petri con PDA+AL y se incubó de siete a diez días; después con un sacabocados de 3.4 mm de diámetro se tomó una porción del agar con el hongo crecido y se depositó en cajas nuevas con PDA+AL. Las nuevas cajas con los hongos se cultivaron por diez días, y tomaron lecturas diarias del hongo midiendo con un vernier el diámetro del micelio siempre a la misma hora. El ritmo de crecimiento se estimó calculando la diferencia del diámetro del micelio por cada día hasta llegar a los diez días de crecimiento. Los valores de las diferencias de los diámetros del crecimiento del hongo, se promediaron para calcular el ritmo del crecimiento.

se llevó por electroforesis en gel de agarosa 1.2 % a 85 V durante 35 min, con 5  $\mu\text{L}$  de cada muestra. El gel se tiñó con bromuro de etidio ( $0.5 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) y se observó en un transiluminador. Las reacciones de PCR dispuestas para secuenciación se trataron con DNA Clean & Concentrator™-25 Kit de Zymo (Cat. D4033). Posteriormente, se cuantificó el DNA en un Nanodrop (Epoch, BioTek). La reacción de secuenciación consistió en 10 ng de DNA por cada 100 pb, 1  $\mu\text{L}$  de oligo (10 pmol), en un volumen final de 16  $\mu\text{L}$ . La secuenciación se llevó a cabo en el Instituto de Biotecnología de la UNAM, con el equipo Perkin (Elmer/Applied Biosystems Modelo 3730), mediante el método Taq FS Dye Terminator Cycle Sequencing Fluorescence-Based Sequencing. Las secuencias obtenidas se analizaron con el programa Chromas Lite® y posteriormente, con BLAST (The Basic Local Alignment Search Tool: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) para su alineamiento con la base de datos del GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI), USA. De los valores cuantitativos generados de máxima identidad, sólo se consideraron los mayores (Cuadro 2).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las cuatro cepas de *Fusarium* aisladas se identificaron tres géneros: solani (una cepa), verticillioides (dos cepas), y equiseti (una cepa). La cepa FUSNB 13 tuvo 100 % de identidad máxima con *F. solani* (Cuadro 2). Este es un fitopatógeno que ataca gran variedad de plantas, especialmente árboles; ha sido reportado como patógeno de especies fabáceas y otras plantas tropicales donde se le asocia con canchros y con marchitamiento de árboles (Nelson *et al.*, 1981). También se reportan afectaciones de *F. solani* en el cultivo de fresa (*Fragaria vesca*)

causando podredumbre de la corona y raíz en el suroeste de España. Los síntomas observados fueron marchitez del follaje, enanismo y deshidratación, muerte de las hojas más viejas, además de que el tejido vascular de la corona de las plantas mostró una decoloración naranja a marrón (Pastrana *et al.*, 2014). En China provocó la pudrición de la raíz y cancro del tallo en camote (*Ipomoea batata*). Durante el almacenamiento de las raíces se observaron lesiones en la superficie de éstas. Las lesiones consistieron en anillos concéntricos de color marrón, ligeramente cóncavas extendidas hacia el centro de las raíces (Wang *et al.*, 2016).

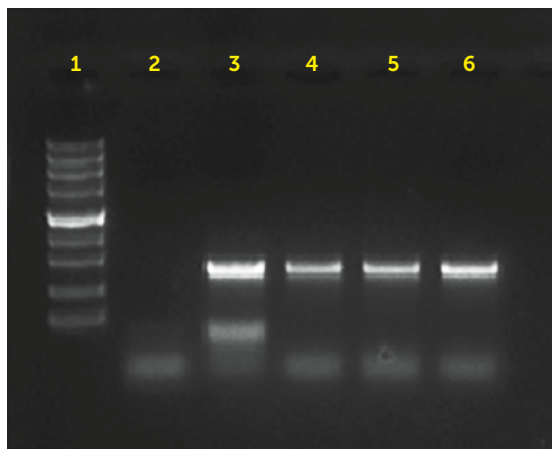
Las cepas de *Fusarium verticillioides* (FUSNB L-17 y FUSNB 20) se identificaron con 100 % de la secuencia obtenida del GeneBank (Cuadro 2). Este hongo, se distribuye ampliamente en todo el mundo, y se asocia particularmente con el maíz (*Zea mays* L.), donde puede causar pudrición del tallo y podredumbre de la mazorca, lo cual provoca importantes pérdidas de rendimiento y reducciones de la calidad del grano (Gulya *et al.*, 1980). En sorgo provoca marchitamiento severo, un color pajizo en los entrenudos inferiores y la médula interna rojiza, suave y desintegrada (Palmero *et al.*, 2014).

*F. equiseti* (cepa FUSNB 25) (Cuadro 2), provoca manchas acuosas en la superficie superior de las hojas de arroz (*Oryza sativa*) que inicialmente eran color marrón y después de cuatro días desarrollaron un halo amarillo, causando una apariencia deteriorada. Las hojas enfermas se marchitaron y las plantas murieron (Gupta *et al.*, 2013). La Figura 1 muestra los resultados de la amplificación de un fragmento de 500 pb por PCR de los ITS de *Fusarium*, con los oligos ITS1 e ITS4.

**Cuadro 2.** Resultados de la identificación molecular de especies de *Fusarium* sp., aisladas de plantas de *Euphorbia pulcherrima* Willd Ex Klotzsch crecidas *in vitro*.

Cepa	No. Acceso	Descripción	Máxima identidad (%)
FUSNB 13	<a href="#">AB705146.1</a>	<i>Fusarium solani</i> genes for 18S rRNA ITS1, 5.8S rRNA, ITS2, 28S rRNA partial and complete sequence	100
FUSNB L-17	<a href="#">KF679758.1</a>	<i>Fusarium verticillioides</i> isolate L1W internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer	100
FUSNB 20	<a href="#">KF679758.1</a>	<i>Fusarium verticillioides</i> isolate L1W internal transcribed spacer 1, partial sequence, 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer	100
FUSNB 25*	<a href="#">KC981102.1</a> <a href="#">KC311517.1</a>	<i>Fusarium equiseti</i> isolate SC1104_10 18S ribosomal RNA gene, partial sequence internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene	100





**Figura 1.** Amplificación de un fragmento de 500 pb por PCR de los ITS de *Fusarium*, con los oligos ITS1 e ITS4. 1. Marcador de peso molecular #SM1373 (Fermentas®); 2. Control negativo (mezcla del mix con agua destilada estéril); 3. FUSNB 13; 4. FUSNB L17; 5. FUSNB 20; 6. FUSNB 25.

## CONCLUSIONES

Se logró el aislamiento e identificación morfológica y molecular de cepas de *Fusarium solani*, *Fusarium verticillioides* y *Fusarium equiseti*, en plantas de nochebuena cultivadas *in vitro*, en la etapa de aclimatación, para diseñar un programa de sanidad en la multiplicación *in vitro*.

## LITERATURA CITADA

- Agrios G.N. 2005. Plant pathology (Vol. 5). Burlington: Elsevier Academic Press.
- Canul K.J., García P.F., Osuna C.F., Ramírez R.S., Barrios G.E. 2013. Recursos genéticos de nochebuena en México, Colecta de germoplasma para mejoramiento genético. Ciencia y Tecnología Agropecuaria de México 1:20-26.
- García P.F., Canul K.J., Ramírez R.S., Osuna C.F. de J. 2011. Enraizamiento de varetas para la propagación de nochebuena de sol. Folleto técnico No. 58 INIFAP, Campo Experimental de Zacatepec, Morelos. ISBN: 978-607-425-698-7.
- García P.F., Canul K.J., Osuna C.F., Ramírez R.S., Rangel E.S., Portas F.B. 2015. Propagación de nochebuena de sol. Instituto Nacional de

Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Zacatepec, Morelos. Publicación Especial Núm. 57.45 p.

- Márquez M.M. 2016. Evaluación de progenies de cruza dobles de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. 42 p.
- Gulya T., Martinson C., Loesch P. 1980. Evaluation of inoculation techniques and rating dates for *Fusarium* ear rot of opaque-2 maize. Phytopathology, 70(11), 1116-1118.
- Gupta S., Bhar A., Chatterjee M., Das S. 2013. *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* race 1 induced redox state alterations are coupled to downstream defense signaling in root tissues of chickpea (*Cicer arietinum* L.). 8 (9), 73-163.
- Milošević S., Cingel A., Jevremović S., Stanković I., Bulajić A., Krstić B., Subotić A. 2012. Virus elimination from ornamentals plants using *in vitro* culture techniques. Pestic. Phytomed 27 (3): 203-2011.
- Nelson P.E., Toussoun T.A., Cook R.J. 1981. *Fusarium*: diseases, biology and taxonomy. Pennsylvania State University Press.
- Rangel E.S.E., Canul K.J., Osuna C.F.D.J., García P.F., Rosario M.P.D., Vences H.Á.S. B., Hernández M.E. 2015. Regeneración *in vitro* de híbridos de nochebuena vía organogénesis. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 6(7), 1571-1585.
- Palmero D., Rubio M.A., Galvez P.L., Nogueras J., Abato C., Gómez G.L., Ahrazem O. 2014. Pathogenicity and genetic diversity of *Fusarium oxysporum* isolates from corms of *Crocus sativus*. Industrial Crops and Products, 61, 186-192.
- Pastrana A.M., Ureba M.B., Capote N. 2014. *Fusarium solani*: un nuevo patógeno en el cultivo de la fresa (*Fragaria xananassa* Duch.) en España. Phytoma España: La revista profesional de sanidad vegetal, 257, 42-46.
- Pineda P.J., Castillo G.A.M., Morales C.J.A., Colinas L.M.T., Valdez A.L.A., Avitia G.E. 2008. Efluentes y sustratos en el desarrollo de nochebuena. Revista Chapingo. Serie horticultura 14(2), 131-137.
- Wang R.Y., Gao B., Li X. H., Ma, J., Chen S.L. 2016. First report of *Fusarium solani* causing *Fusarium* root rot and stem canker on storage roots of sweet potato in China. Plant Disease, 100(3) 650-650.
- White T.J., Bruns T., Lee S.J.W.T., Taylor J.W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetic. PCR protocols: a guide to methods and applications, 18(1), 315-322.
- Williams J. 2005 Poinsettia production. FlowerTech 8: 6-9.

# VALORACIÓN AGRONÓMICA DE GENOTIPOS EXPERIMENTALES DE NOCHEBUENA (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch)

## AGRONOMIC VALUATION OF EXPERIMENTAL GENOTYPES OF *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch

Canul-Ku, J.<sup>1\*</sup>; García-Pérez, F.<sup>1</sup>; Barrios-Gómez, E.J.<sup>1</sup>; Rangel-Estrada, S.E.<sup>1</sup>; Ramírez-Rojas, S.<sup>1</sup>; Osuna-Canizalez, F. de J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatepec. Km 0.5 carretera Zacatepec-Galeana, Colonia Centro (frente al IMSS), C. P. 62 780 Zacatepec, Mor. Tel.: 01 800 088 2222 o 55 38 71 87 00 ext. 86606.

\*Autor de correspondencia: canul.jaime@inifap.gob.mx,

### RESUMEN

Para ofrecer alternativas de uso de nuevas variedades de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima*), se valoraron agronómicamente en 2015 ocho genotipos experimentales en el vivero de un productor cooperante en Tetela del Monte, Morelos, México. Se utilizaron siete materiales experimentales, generados a través de cruzamientos manuales, denominados INIMOR1, INIMOR2, INIMOR4, INIMOR5, INIMOR6, INIMOR 7, INIMOR8 y una variedad obtenida a través de irradiación recurrente, con clave INIMOR3. Bajo un diseño experimental completamente al azar con diez repeticiones (genotipos experimentales como tratamientos), se evaluaron once variables, y analizó con varianza y prueba de comparación de medias. Se obtuvieron diferencias estadísticas significativas entre los genotipos experimentales estudiados para todas las características registradas, excepto en ancho de bráctea. INIMOR4 e INIMOR7 registraron mayores promedios en características de tallo, hoja y bráctea. Mientras que, INIMOR3 fue más compacta, con menor tamaño de hoja y bráctea. Lo anterior sugiere potencial de los genotipos para ser liberados a productores con fin comercial, y competir por características adecuadas con los genotipos comercializados actualmente y procedentes del extranjero.

**Palabras clave:** Poinsettia, variedad liberada, bráctea, altura de planta.

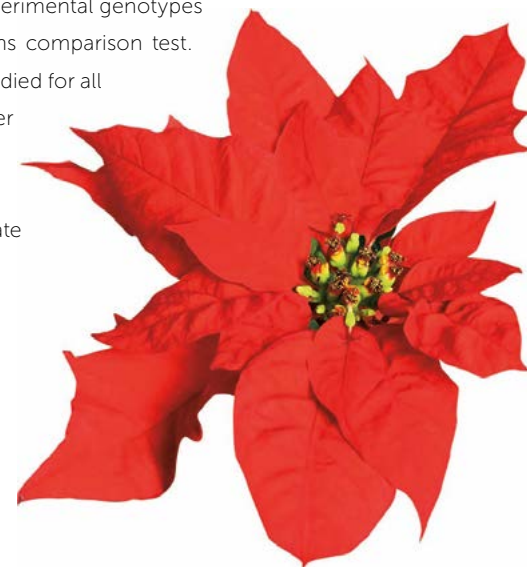
### ABSTRACT

In order to offer alternatives for the use of new poinsettia (*Euphorbia pulcherrima*) varieties, eight experimental genotypes were evaluated in agronomic terms in 2015, in the greenhouse of a volunteer producer in Tetela del Monte, Morelos, México. Seven experimental materials were used, generated through manual crossing, called INIMOR1, INIMOR2, INIMOR4, INIMOR5, INIMOR6, INIMOR 7, INIMOR8 and a variety obtained through recurring irradiation, with key INIMOR3. Under a completely random experimental design with ten repetitions (experimental genotypes as treatments), eleven variables were evaluated and analyzed with variance and means comparison test. Significant statistical differences were obtained between the experimental genotypes studied for all the characteristics found, except for bract width. INIMOR4 and INIMOR7 showed higher averages in characteristics of stem, leaf and bract. Meanwhile, INIMOR3 was more compact, with smaller size of leaf and bract. This suggests a potential for the genotypes to be liberated to producers with a commercial purpose, and to compete for the adequate characteristics with the genotypes currently commercialized and of foreign origin.

**Keywords:** Poinsettia, liberated variety, bract, plant height.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto, 2017, pp: 8-12.

**Recibido:** diciembre, 2016. **Aceptado:** mayo, 2017.





## INTRODUCCIÓN

**El cultivo** de especies ornamentales en el estado de Morelos, México, es una actividad económica que mayor contribución tienen a la economía de la entidad (García, 2015). Se ha documentado la explotación comercial de más de mil especies (García *et al.*, 2009), de las cuales, cerca de 99% del material vegetal de propagación, ya sea semilla, esquejes u otra forma provienen de materiales que fueron generados en el extranjero. La nochebuena es uno de los 10 cultivos más importantes en la entidad, al año se producen seis millones de plantas en diferentes tamaños de macetas (SIAP, 2014), con un valor de producción cercano a 200 millones de pesos. La comercialización de las plantas es en un periodo corto, lo que permite generar empleos en actividades de acondicionamiento de la planta para su venta; además, de la mano de obra que se emplea en todo el ciclo del cultivo (Vázquez *et al.*, 2012). La localidad de Tetela del Monte, en Cuernavaca, Morelos, se distingue por la calidad y diversidad de especies ornamentales que cultivan y comercializan en todo México (Galindo *et al.*, 2012). Se caracteriza por tener clima templado subhúmedo, temperatura media anual de 21 °C, máxima de 28 °C y mínima de -3 °C en el mes más frío. Este ambiente se considera benigno para el crecimiento y desarrollo adecuado de diversos tipos de especies florícolas. En el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) desde el año 2010 se implementó el Programa de mejoramiento genético en nochebuena (Canul *et al.*, 2013a) mediante el uso del germoplasma nacional como la base genética (Canul *et al.*, 2013b). Las actividades incluyeron cruzamientos sexuales, en principio para ampliar la variación genética de la especie y posteriormente la selección de los genotipos más sobresalientes en características de porte y arquitectura de planta, tamaño y forma de hojas y brácteas, así como la diversidad de colores y sus combinaciones (Canul *et al.*, 2014). El objetivo principal es obtener nuevas variedades

de interés para el mercado. Como producto del mejoramiento genético se dispone de materiales experimentales avanzados, con diferente número de progenitores (Jiménez, 2014; Márquez, 2016) los cuales requieren ser evaluados en condiciones donde se cultiva la nochebuena y aplicando la tecnología local. Se valoró el comportamiento agronómico de materiales biológicos experimentales para identificar los más promisorios y ser liberados como variedades comerciales de nochebuena.

## MATERIALES Y MÉTODOS

EL trabajo se desarrolló durante 2015 en el vivero de un productor cooperante, el cual se localiza en Tetela del Monte, Cuernavaca, Morelos, México (18° 58' N y 99° 15' O, y 2000 m de altitud). Como material genético se utilizaron siete materiales experimentales, generados a través de cruzamientos manuales (Canul-Ku *et al.*, 2015), denominados INIMOR1, INIMOR2, INIMOR4, INIMOR5, INIMOR6, INIMOR 7, INIMOR8 y una variedad obtenida a través de irradiación recurrente, con clave INIMOR3 (Canul-Ku *et al.*, 2013a) (Figura 1).

De los materiales biológicos antes mencionados, se cortaron esquejes el 14 de julio. El esqueje es un nuevo punto de crecimiento, el cual presentó un tamaño promedio de cinco cm con cinco hojas, pero solamente dos hojas completamente expandidas (Ecke *et al.*, 2004), al cual se le impregnó regulador de crecimiento vegetal Radix® 1500 (i.a. ácido indol-3-butírico, formulado en polvo impregnable) en el punto de corte e inmediatamente se colocó en una maceta de seis pulgadas conteniendo

como sustrato mezcla de Ocochal, peat moss y tepojal (Osuna *et al.*, 2012) en proporción 40:40:20 v/v. Las macetas con los esquejes plantados se colocaron dentro de una estructura metálica, con techo y paredes de polietileno blanco-opaco. Los esquejes enraizaron a los 28 días después del corte. Las nuevas plantas se cambiaron a una estructura metálica, con techo de polietileno blanco-opaco, transmisividad de 30% y malla sombra de



**Figura 1.** Frutos en desarrollo producto de cruzamientos manuales del Programa de mejoramiento genético de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch, en Campo Experimental Zacatepec, México.



50% de transmisividad en las paredes. El 12 de agosto del mismo año se realizó la eliminación del ápice, y después de ello, se aplicaron riegos, eliminación manual de malezas, suministro de fertilizante mediante solución nutritiva y control preventivo de plagas y enfermedades. La solución nutritiva fue a base de nitrato de potasio (0.22 g·L<sup>-1</sup>), fosfato monopotásico (0.21 g·L<sup>-1</sup>); Kelatex<sup>®</sup> (0.032 g·L<sup>-1</sup>) y ácido nítrico (0.25 ml·L<sup>-1</sup>). Los productos para la prevención fueron Talstar<sup>®</sup> (i.a. Bifentrina) 1.5 ml L<sup>-1</sup>, Evisect<sup>®</sup> (i.a Thiocyclam hidrogenoxalato) 1.5 g L<sup>-1</sup> y Promyl<sup>®</sup> (i.a. Benomilo) 1.5 g L<sup>-1</sup>. Se usó un diseño experimental completamente al azar con diez repeticiones, con los genotipos experimentales como tratamientos. La unidad experimental fue una planta en cada maceta de seis pulgadas. Se midió la altura de planta (cm), diámetro de tallo (mm), largo (cm) y ancho de hoja (cm), largo y ancho de bráctea (cm), longitud de peciolo de hoja (cm) y de bráctea (cm), diámetro de bráctea (cm) y ciatio (cm). Además, se cuantificó el número de ramas. Los datos obtenidos se estudiaron mediante análisis de varianza y cuando se detectaron diferencias estadísticas significativas se realizaron comparación de medias a través de la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% (P≤0.05). Ambos análisis se llevaron a cabo con el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 2000).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza demostró existencia de diferencias estadísticas significativas entre los genotipos experimentales estudiados para todas las características registradas, excepto en ancho de bráctea. El coeficiente de variación más bajo (9.74%) se obtuvo en diámetro de bráctea y los más altos (23.24% y 23.23%) en número de ramas y diámetro de ciatio, respectivamente. La prueba de Tukey ubicó a los genotipos experimentales en tres grupos de

altura de planta, INIMOR3 mostró el porte más bajo y cuatro genotipos tuvieron la mayor altura; mientras que, los tres restantes fueron de porte intermedio (Cuadro 1). En comparación con el cultivar Scarlet (41.7 cm) (Eun-Kyung et al., 2007a) todos los genotipos evaluados tuvieron menor altura, y algunos fueron similares a Miss Maple (26 cm) (Eun-Kyung et al., 2007b). Autores como García et al. (2015) reportan en la evaluación de siete variedades comerciales de nochebuena en tres tipos de mezclas de sustrato alturas desde 19.6 cm hasta 43.7 cm, así mismo indican que la mejor altura comercial se logró con la mezcla de tierra de hoja sin cernir, agrolita, peat moss y tezontle en proporción 64:11:4:21 v/v.

El grosor de tallo es un carácter que proporciona sostén a la planta, los resultados mostraron que cinco genotipos tuvieron los mayores diámetros de tallo; en tanto que, INIMOR3 fue el de menor grosor (Cuadro 1). Al respecto, Jiménez (2014) y Márquez (2016) reportaron diámetros de tallos superiores a lo obtenido en este trabajo, estudiando materiales experimentales de nochebuena en Morelos. En esta especie, cada rama representa potencialmente el desarrollo de una bráctea, y es conveniente tener un número elevado de brácteas para darle adecuada arquitectura y estética a la planta. De los genotipos evaluados INIMOR3 e INIMOR2 presentaron el mayor número de ramas e INIMOR5 tuvo la menor cantidad, mientras que los restantes genotipos mostraron valores intermedios (Cuadro 1).

En largo y ancho de hoja INIMOR4 e INIMOR7 se registraron los mayores valores. En largo de hoja cuatro genotipos tuvieron los menores promedios; en cambio, en ancho solamente INIMOR3 fue el más bajo (Cuadro 1). En comparación con el cultivar Grace (Eun-

**Cuadro 1.** Comparación de medias de características registradas en ocho genotipos experimentales de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch, en Tetela del Monte, Morelos, México.

Genotipo	AP	DT	NR	LH	AH	LPH	LB	DB	LPB	DC
INIMOR1	24.29b	8.34ab	3.40bc	7.92c	5.02ab	2.75c	9.23bc	23.36bc	1.91bc	1.70de
INIMOR2	23.00b	9.85a	3.80ab	8.48bc	5.20ab	3.50abc	10.47abc	25.88ab	2.34ab	3.70bc
INIMOR3	12.77c	7.17b	4.90a	7.38c	4.15b	3.38abc	9.46bc	20.76c	1.99abc	1.07e
INIMOR4	33.29a	9.21a	3.30bc	11.55a	5.99a	3.95ab	11.92a	28.47a	2.47a	4.92a
INIMOR5	23.57b	9.15a	2.33c	10.22ab	5.29ab	2.96bc	10.92ab	25.14ab	1.63c	2.74cd
INIMOR6	30.75a	8.74ab	3.50b	10.11ab	5.48ab	4.37a	10.33abc	25.96ab	1.95bc	3.69bc
INIMOR7	34.30a	9.84a	3.10bc	11.41a	5.74a	3.62abc	11.82a	28.49a	2.04abc	4.27ab
INIMOR8	31.97a	9.04a	3.22bc	8.33bc	5.22ab	3.36bc	8.77c	22.67bc	2.02abc	4.40ab

AP: Altura de planta; DT: Diámetro de tallo; NR: Número de ramas; LH: Largo de hoja; AH: Ancho de hoja; LPH: longitud de peciolo de hoja; LB: Largo de bráctea; DB: Diámetro de bráctea; LPB: Longitud de peciolo de bráctea; DC: Diámetro de ciatio. Medias con distinta letra en el sentido de la columna no son iguales estadísticamente (Tukey, P≤0.05).

Kyung *et al.*, 2013), ningún material experimental lo superó en tamaño de hoja. El material INIMOR6 exhibió el peciolo de hoja más largo e INIMOR1 el más corto (Cuadro 1). INIMOR6 tuvo la misma longitud de peciolo (4.3 cm) que el cultivar Miss Maple (Eun-Kyung *et al.*, 2007b). La parte estética, atractiva y comercial de la nochebuena son sus brácteas, por lo que el mejoramiento genético está dirigido principalmente hacia esa estructura; no obstante se debe considerar el porte de la planta y tamaño de hojas, que en conjunto proporcionan su arquitectura. INIMOR4 e INIMOR7 fueron superiores estadísticamente en largo y diámetro de bráctea; mientras que, INIMOR8 exhibió menor largo de bráctea e INIMOR3 menor diámetro de bráctea (Cuadro 1). En largo de bráctea los materiales experimentales evaluados fueron similares a los cultivares Miss Maple (Eun-Kyung *et al.*, 2007b) y Grace (Eun-Kyung *et al.*, 2013). En cambio, en diámetro de bráctea los valores mostrados en este trabajo fueron similares a lo obtenido por García (2015) tam-

bién evaluando genotipos experimentales, desde 23 cm hasta 28.5 cm. En cuanto a longitud de peciolo de bráctea y diámetro de ciatio INIMOR4 también presentó los mayores promedios; en cambio, INIMOR5 desarrolló menor longitud de peciolo de bráctea e INIMOR3 reducido diámetro de ciatio (Cuadro 1). INIMOR1, INIMOR3 e INIMOR5 presentaron menor diámetro de ciatio en comparación con lo reportado por García (2015) en el mismo cultivo de nochebuena. La valoración agronómica de los genotipos experimentales en las condiciones estudiadas, resultó en diferentes comportamientos (Figura 2). Al respecto Márquez (2016), señala que la respuesta de materiales experimentales generados a través de cruza dobles depende de la fuente de germoplasma y de la recombinación, la cual es aleatoria. Aunque probablemente en una de esas se logren combinaciones superiores.

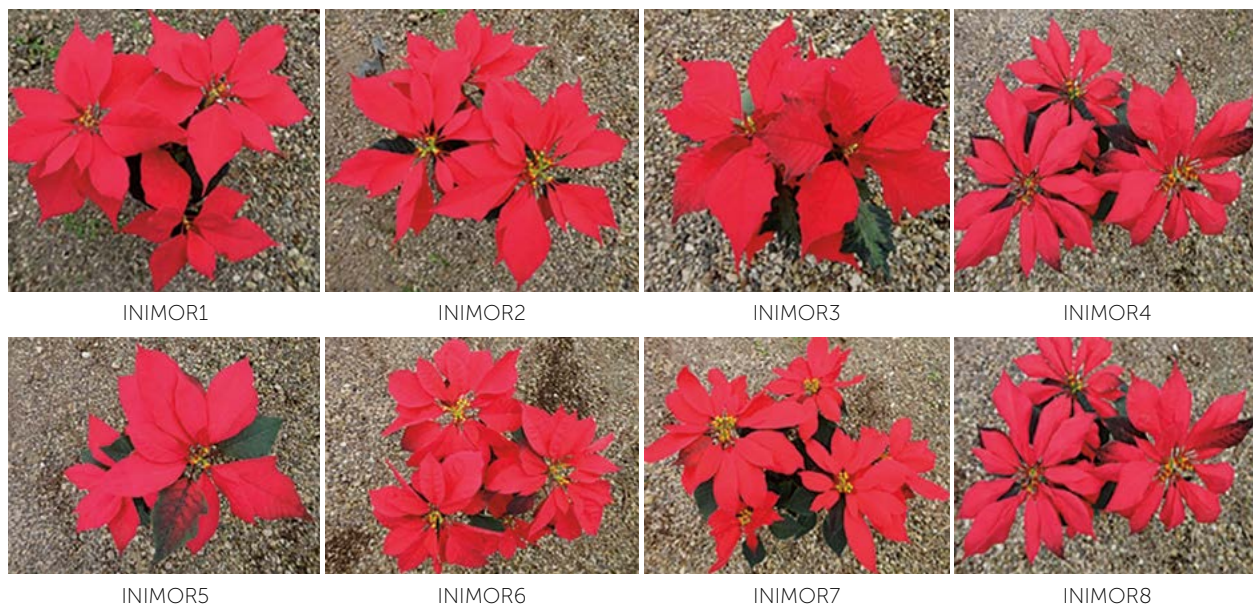
## CONCLUSIONES

El comportamiento de los materiales experimentales de

nochebuena fue diferente. INIMOR4 e INIMOR7 mostraron los mayores promedios en la mayoría de las variables de tallo, hoja y bráctea. Mientras que, INIMOR3 fue más compacta, con menor tamaño de hoja y bráctea. Estos genotipos experimentales tienen características sobresalientes, tanto para ser valorados en otros ambientes, como para su comercialización previo registro legal.

## LITERATURA CITADA

- Canul K.J., García P.F., Osuna C.F., Ramírez R.S., Rangel E.S. 2013a. Avances y perspectivas del mejoramiento genético de nochebuena en México. In: Memoria de la LIX Reunión Anual de la Sociedad Interamericana de Horticultura Tropical. Querétaro, México. p. 23.
- Canul K.J., García P.F., Osuna C.F., Ramírez R.S., Barrios G.E. 2013b. Recursos genéticos de nochebuena en México, Colecta de germoplasma para mejoramiento genético. Ciencia y Tecnología Agropecuaria de México 1:20-26.
- Canul K.J., García P.F., Barrios G.E., Osuna C.F., Ramírez R.S., Alia T.I., Montoya C.E. 2014. Caracterización morfológica de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). Ciencia y Tecnología Agropecuaria de México 2: 16-23.



**Figura 2.** Respuesta de materiales experimentales de nochebuena en Tetela del Monte, estado de Morelos.



- Canul-Ku J., García-Pérez F., Barrios-Gómez E., Campos-Bravo E., Osuna-Canizalez F., Ramírez-Rojas S., Rangel-Estrada S. 2015. Técnica para producir híbridos en nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). *Agroproductividad* 8:32-37.
- Eun-Kyung L., Won-Hee K., Pil-Man P., Seung-Tae K., Dong-Woo L., Young-Jin K. 2007a. A new poinsettia cultivar, "Scarlet" bright red bracts. *Korean J. Breed. Sci.* 39(4):536-537.
- Eun-Kyung L., Won-Hee K., Pil-Man P., Seung-Tae K., Dong-Woo L., Young-Jin K. 2007b. A new poinsettia cultivar, "Miss Maple" with deep lobed leafblades. *Korean J. Breed. Sci.* 39(4):534-535.
- Eun-Kyung L., Won-Hee K., Seung-Tae K., Kwang-Seek L., Su-Young L. 2013. A new peach colored poinsettia "Grace". *Korean J. Breed. Sci.* 45(2):130-136.
- Galindo G.D., Alía T.I., Andrade R.M., Colinas de L.M., Canul K.J., Sainz A.M. 2012. Producción de nochebuena de sol en Morelos, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3:751-763.
- García L.S. 2015. Evaluación de genotipos de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Tetela del Monte, Cuernavaca, Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. 34 p.
- García P.F., Osuna C.F., Ramírez R.S., Granada C.L. 2009. Transferencia de tecnología en cuatro especies de plantas ornamentales en el estado de Morelos. En: Osuna C. F., García P. F., Ramírez R. S., Granada C. L., Galindo G. D. (Comp.). *Memoria 7º Simposium Internacional de Viverismo*. SAGARPA. 200 p.
- García P.F., Alía T.I., Valdez A.L., Canul K.J., López M.V., Colinas de L.M. 2015. Desarrollo de variedades de nochebuena en diferentes ambientes del estado de Morelos, México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Zacatepec, Morelos. Folleto Técnico Número 93. 33 p.
- Jiménez M.C. 2014. Respuesta agronómica de progenies F1 de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 43 p.
- Márquez M.M. 2016. Evaluación de progenies de cruza dobles de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. 42 p.
- Osuna-Canizalez F., Moreno-López M., García-Pérez F., Ramírez-Rojas S., Canul-Ku J. 2012. Biocontrol de la pudrición de la raíz de nochebuena de interior con *Trichoderma* spp. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3: 553-564.
- SAS. 2000. SAS® Procedure Guide, Version 8. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. 1643 p.
- SIAP. 2014. (Consultado septiembre, 2015). <http://www.siap.gob.mx/>.
- Vázquez A. P., García P. F., Granada C. L., Canul K. J., Ramírez R. S., Osuna C. F. 2012. CUETLAXÓCHITL-NOCHEBUENA: su pasado, presente y futuro en el estado de Morelos. *Publicación Especial Núm. 52*. INIFAP. C.E. Zacatepec. 70 p.



# VARIACIÓN GENERADA MEDIANTE RECOMBINACIÓN GENÉTICA EN *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch

## VARIATION GENERATED THROUGH GENETIC RECOMBINATION OF *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch

Canul-Ku, J.<sup>1\*</sup>; García-Pérez, F.<sup>1</sup>; Barrios-Gómez, E.J.<sup>1</sup>; Rangel-Estrada, S.E.<sup>1</sup>; Ramírez-Rojas, S.<sup>1</sup>; Osuna-Canizalez, F. de J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatepec. Km 0.5 carretera Zacatepec-Galeana, Colonia Centro (frente al IMSS), C. P. 62 780 Zacatepec, Mor. Tel.: 01 800 088 2222 o 55 38 71 87 00 ext. 86606.

\*Autor de correspondencia: canul.jaime@inifap.gob.mx,

### RESUMEN

El mejoramiento genético en nochebuena aplicando métodos genotécnicos de hibridación y selección ha generado variabilidad morfofenotípica que requiere ser evaluado. Por lo que, el objetivo de este trabajo fue describir la variación obtenida a través de recombinación genética en nochebuena. La investigación se desarrolló en el Campo Experimental Zacatepec del INIFAP en el periodo de 2010 a 2015. El material genético fue generado a través de polinización manual y consistió de tres genotipos experimentales de cruce simple (CSF3, CSG1, CSB14), dos de cruce de tres líneas (CTA18, CTE19) y una de cruce doble (CDC51), por lo que seis materiales en total fueron usados. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con diez repeticiones, considerando una planta como repetición. Se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias Tukey. Los materiales experimentales de nochebuena presentaron respuesta morfológica diferencial. El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas altamente significativas en todas las características registradas, a excepción de diámetro de bráctea. Los genotipos experimentales CDC51 y CSB14 son los que mostraron el mejor comportamiento. La variación generada a través de la recombinación genética es amplia. Se requiere la evaluación a nivel comercial de los materiales prometedores con la finalidad de ser liberados como nueva variedad.

**Palabras clave:** hibridación, selección, polinización manual.

### ABSTRACT

Genetic improvement in poinsettia by applying genotechnical hybridization and selection methods has generated morphophenotypical variability that needs to be evaluated. Therefore, the objective of this study was to describe the variation obtained through genetic recombination in poinsettia. The research was carried out during the 2010-2015 period. The genetic material was generated through manual pollination and consisted in three simple-cross experimental genotypes (CSF3, CSG1, CSB14), two with three-line crosses (CTA18, CTE19) and one double-cross (CDC51), so that six materials in total were used. A completely random experimental design with ten repetitions was used, considering one plant as repetition. Variance analysis and Tukey means comparison test were carried out. The experimental poinsettia materials presented a differential morphological response. The variance analysis detected highly significant statistical differences in all the characteristics recorded, with the exception of bract diameter. The experimental genotypes CDC51 and CSB14 are the ones that showed the best performance. The variation generated through genetic recombination is broad. The evaluation at the commercial level of the promising materials is required, with the purpose of being liberated as new varieties.

**Keywords:** hybridization, selection, manual pollination.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto, 2017, pp. 13-17.

**Recibido:** diciembre, 2016. **Aceptado:** mayo, 2017.

## INTRODUCCIÓN

En muchos países se identifica la temporada de navidad con la planta de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). La especie se ubica taxonómicamente en la familia Euphorbiaceae (Steinmann, 2002), su centro de origen según Trejo *et al.* (2012) es una pequeña región localizada al norte del estado de Guerrero, México, no obstante se distribuye en varias entidades del país, en áreas naturales, traspatios y en forma semicultivada (Canul *et al.*, 2013). La parte comercial y atractiva de la nochebuena son sus hojas modificadas denominadas brácteas, aunque también contribuye en su apariencia la arquitectura de la planta (Canul *et al.*, 2014). García *et al.* (2013) indican que la altura ideal y estética es variada y está definida por los consumidores, quienes demandan plantas compactas y altas. A nivel comercial, se oferta en diferentes tamaños de contenedor, desde las más pequeñas para escritorio (tres pulgadas) hasta los de mayores tamaños (10-12 pulgadas) denominados macetones y colgantes. El consumidor, nacional e internacional, demanda en mayor proporción nochebuena con brácteas de color rojo (90%) del total (Catanzaro y Bhatti, 2006), y el 10 % restante se reparten en variedades con brácteas de color rosa, amarillo, y variegadas. Aunque, es preciso señalar que la oferta de la variabilidad de colores lo hacen las empresas extranjeras, quienes son las generadoras de los genotipos mejorados para espacios de interior. En un periodo relativamente corto se comercializan en promedio seis millones de plantas al año en Morelos, México, y 25 millones en el país (SIAP, 2014). Es un cultivo importante por el número de productores dedicados al proce-

so productivo y empleos que genera (Vázquez *et al.*, 2012). La oferta y demanda de plantas de nochebuena es dinámica por lo que existe la oportunidad para proponer nuevos materiales cumpliendo con los estándares de calidad y gusto del consumidor. El mercado está dominado comercialmente por variedades generadas fuera de México, lo cual trae limitantes, tales como la falta de adaptación de esas variedades comerciales a las condiciones del medio ambiente de las áreas productoras, anormalidad en el crecimiento y desarrollo de la planta, calidad deficiente de la planta terminada, y baja o nula pigmentación. Además, crea dependencia en varios sentidos, ya que los productores tienen que adquirir el material vegetativo solo con empresas que tienen los derechos para su comercialización, lo que además implica el pago de regalías lo cual causa un incremento en los costos de producción. Bajo estas condiciones se inició en el año 2010 el programa de mejoramiento genético en nochebuena trazándose como meta principal la obtención de variedades de origen nacional que coadyuve a la disminución de costos de producción, con características que el mercado demanda, tales como el color, tamaño y forma de bráctea, larga vida de contenedor y resistencia a factores bióticos y abióticos (Canul *et al.*, 2010). Como tal, el país posee germoplasma valioso a partir del cual se puede obtener nuevas variedades, en este sentido Trejo *et al.* (2015) señalan que la diversidad genética presente en las plantas del Distrito Federal es casi tan elevada como la encontrada en los cultivares comerciales, aunque menor que la observada en las plantas silvestres. En tanto que, Canul *et al.* (2014) reportaron amplia variación genética en germoplasma

procedente de diez entidades del país. A través del mejoramiento genético de la especie aplicando métodos genotécnicos de hibridación, selección y mutagénesis se ha generado variabilidad morfofenotípica en nochebuena. El objetivo de este trabajo fue describir la variación generada a través de recombinación genética en nochebuena partiendo de una muestra nacional de genotipos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de investigación se desarrolló en el periodo comprendido de 2010 a 2015 en el Campo Experimental Zacatepec, perteneciente al INIFAP. Este Campo se localiza en el Km. 0.5 de la carretera Zacatepec-Galeana (18° 39' 23" N; 99° 11' 54.95" O, y altitud de 911 m). El clima es cálido subhúmedo (Aw0) con lluvias en verano, precipitación promedio anual de 800 mm y temperatura promedio anual de 24 °C. El material genético empleado para realizar los cruzamientos manuales fueron poblaciones nativas y variedades comerciales. Las poblaciones fueron recolectadas en diez estados de la República Mexicana (Canul *et al.*, 2013); las cuales fueron caracterizadas con base en morfología de planta (Canul *et al.*, 2014) y posteriormente se seleccionaron las mejores. Mientras que, las variedades comerciales se eligieron por su alta demanda en el mercado y que han perdurado en el gusto del consumidor por largos años. Los métodos genotécnicos aplicados fueron la hibridación y la selección. En la primera se realizó la emasculación y la polinización manual, cortando dos terceras partes de la bráctea en dirección del ápice hacia la base de la inflorescencia, se eliminaron todas las estructuras masculinas y se dejaron tres a cuatro flores femeni-



nas no receptivas, pero en similar estado fenológico, enseguida se cubrió con bolsa encerada. El desarrollo de la flor femenina se revisó tres días después, cuando estuvo receptiva se llevó a cabo la polinización, para esto se recolectó polen del progenitor masculino e impregnó en cantidad suficiente al estigma del progenitor femenino (Canul *et al.*, 2015). La cantidad de genotipos generados por recombinación genética ha sido en gran cantidad; sin embargo, para este estudio se emplearon tres genotipos de cruz simple (CSF3, CSG1, CSB14), dos de cruz de tres líneas (CTA18, CTE19) y una de cruz doble (CDC51) (Figura 1).

Las semillas cosechadas de los genotipos experimentales, se sembraron en charolas de 50 cavidades empleando como sustrato comercial Sunshine<sup>®</sup> No. 3. En cada cavidad se colocó una semilla. Las charolas se cubrieron con plástico blanco para mantener la humedad del sustrato y aumentar la temperatura, para acelerar su germinación. La emergencia ocurrió entre 4 y 5 días después y las charolas se cambiaron a condiciones de malla aluminizada. Las plántulas en etapa de cuatro hojas verdaderas se cambiaron a maceta de ocho pulgadas conteniendo como sustrato mezcla de ocochal, atocle, polvillo de coco en block  $\frac{3}{4}$  Pelemix<sup>®</sup> y lombricomposta de cachaza en proporción 48:16:16:20 v/v. El manejo del cultivo se basó en aplicación de riegos, eliminación manual de malezas, suministro de fertilizante mediante solución nutritiva y control preventivo de plagas y enfermedades. La selección de plantas se realizó en etapa fenológica de pigmentación de brácteas aplicando criterios de selección, tales como: porte y arquitectura de planta; largo, ancho y color tanto de hoja como de bráctea. Para continuar



**Figura 1.** Polinización manual de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch.

con el proceso de mejoramiento genético, cada año se incrementó el número de individuos mediante propagación vegetativa vía esquejes (Figura 2) a partir de las plantas seleccionadas.

Los genotipos generados se consideraron como tratamientos y para su evaluación en vivero se utilizó un diseño experimental completamente al azar. Las variables respuesta fueron altura de planta (cm), diámetro de tallo (mm), largo (cm) y ancho de hoja (cm), largo y ancho de bráctea (cm), longitud de peciolo de hoja (cm) y de bráctea (cm), diámetro de bráctea (cm) y ciatio (cm), y número de ramas. La información registrada de esas variables se sometió a análisis de varianza y cuando se detectaron diferencias estadísticas significativas se realizaron comparación de medias a través de la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5% ( $P \leq 0.05$ ). Ambos análisis se llevaron a cabo con el paquete estadístico SAS (SAS Institute Inc., 2000).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los materiales experimentales de nochebuena presentaron respuesta morfológica diferencial (Cuadro 1), el análisis de varianza detectó diferencias estadísticas altamente significativas en todas las características registradas, a excepción de diámetro de bráctea. El coeficiente de variación más alto se obtuvo en diámetro de ciatio con 38% y el menor en número de entrenudos con 13%. Estos valores son similares a lo reportado en la evaluación de progenies  $F_1$  (Jiménez, 2014) y de cruza dobles de nochebuena (Márquez, 2016).

El Cuadro 2 muestra la comparación de medias de las variables respuestas entre los materiales experimentales evaluados.



**Figura 2.** Propagación de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch mediante esquejes.

**Cuadro 1.** Cuadrados medios y coeficiente de variación en materiales experimentales de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch evaluados en Zacatepec, Morelos, México.

Características	CM	CV (%)
Altura de planta (cm)	627.65**	16.61
Diámetro de tallo (mm)	55.47**	15.85
Largo de hoja (cm)	16.23**	14.75
Ancho de hoja (cm)	18.63**	22.66
Longitud del peciolo de hoja (cm)	3.29**	25.59
Número de ramas	3.55**	28.4
Número de entrenudos	85.54**	13.62
Ancho de bráctea (cm)	3.58**	20.61
Largo de bráctea (cm)	5.27*	17.10
Diámetro de bráctea (cm)	22.23 <sup>NS</sup>	18.47
Diámetro de ciatio (cm)	11.4**	38.76
Longitud del peciolo de bráctea (cm)	1.36**	25.11

NS: Diferencia no significativa; \*: Diferencia significativa  $P \leq 0.05$ ; \*\*: Diferencia altamente significativa  $P \leq 0.01$ ; CM: Cuadrados Medios; CV: Coeficiente de Variación.

El material CSG1 expresó la menor altura de planta, en cambio CTE19 y CSB14 fueron los de mayor porte, es importante señalar que en nochebuena lo que se busca es tener plantas compactas y CSG1 es un material idóneo y fue similar a CDC51, al respecto García (2015) señala que el carácter en donde se observó la mejor respuesta al evaluar genotipos experimentales de nochebuena fue en porte de la planta. En diámetro de tallo CSB14

y CTE19 mostraron el mayor grosor y CDC51 el más delgado, una planta con buen grosor de tallo permitirá el sostén de muchas ramas con sus respectivas brácteas, hay que tener presente que el consumidor demanda plantas con bastantes brácteas. En largo de hoja CSB14 y CTE19 también tuvieron el promedio mayor y CSG1 el menor. Mientras que, en ancho de hoja CTA18 y CTE19 fueron estadísticamente superiores a los otros genotipos, de

nueva cuenta CSG1 tuvo menor anchura de hoja y el peciolo de hoja más corto.

Otro aspecto muy importante es la ramificación, y con excepción de CTE19, todos tuvieron la misma cantidad de ramas. En cuanto a nudos CTA18 y CSB14 presentaron la mayor cantidad y CSG1 la menor. El genotipo con mayor tamaño de brácteas fue CDC51 (4.12 mm en ancho y 8.70 mm en largo); en cambio CTE19 tuvo brácteas pequeñas. En diámetro de ciatio CSG1 mostró ciatios más compactos y es uno de los caracteres que le dan estética a la nochebuena, así como tener brácteas grandes (Cuadro 2). Los materiales experimentales evaluados mostraron fenotipos diferentes, esto da la oportunidad para seleccionar a los genotipos más prometedores. También permitirá ofrecer diferentes tipos de plantas, ya que el mercado de ornamentales es muy dinámico (García *et al.*, 2015) y depende de las preferencias del consumidor (Catanzaro y Bhatti, 2006). La Figura 3 muestra genotipos generados en el programa de mejoramiento genético de nochebuena.

**Cuadro 2.** Comparación de medias de variables evaluadas en materiales experimentales de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch en Zacatepec, Morelos, México.

Característica	CTA18	CSB14	CDC51	CTE19	CSF3	CSG1
Altura de planta (cm)	42.5bc	50.68ab	38.79cd	52.15a	41.29c	32.89d
Diámetro de tallo (mm)	10.76c	13.40a	7.05d	13.12ab	11.17bc	9.86c
Largo de hoja (cm)	10.32abc	11.39a	9.56bcd	11.24ab	9.46cd	8.38d
Ancho de hoja (cm)	6.90a	6.56ab	5.10bc	6.89a	4.70c	4.25c
Longitud del peciolo de hoja (cm)	2.80b	3.24ab	3.27ab	4.10a	2.96b	2.55b
Número de ramas	3.73a	4.00a	3.60a	2.30b	3.53a	3.46ab
Número de entrenudos	18.80a	17.60ab	14.30cd	15.80bc	15.46bc	11.80d
Ancho de bráctea (cm)	3.71ab	3.17bc	4.12a	2.50c	3.30abc	3.84ab
Largo de bráctea (cm)	7.19ab	7.19ab	8.70a	7.05b	8.28ab	7.92ab
Diámetro de ciatio (cm)	2.41bc	3.74ab	4.70a	3.82ab	3.62abc	2.16c
Longitud del peciolo de bráctea (cm)	1.44bc	1.74b	2.24a	1.40bc	1.60bc	1.25c

Valores con la misma letra en el sentido de la hilera son estadísticamente iguales (Tukey  $P \leq 0.05$ ).

## CONCLUSIONES

La variación generada a través de la recombinación genética es amplia, y se observó en la expresión morfo fenotípica diferente, lo que da la oportunidad para seleccionar a las más prometedoras aplicando criterios de calidad que demanda el mercado de nochebuena. Los genotipos experimentales CDC51 y CSB14 fueron los que registraron la mejor respuesta a las variables respuesta, y se sugiere su evaluación comercial.



**Figura 3.** Variación morfológica producto de recombinación genética en *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch.

## LITERATURA CITADA

- Canul K.J., García P.F., Osuna C.F., Ramírez R.S. 2010. Estrategias para el mejoramiento genético de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). Investigación Agropecuaria 7(1): 44-54.
- Canul K.J., García P.F., Osuna C.F., Ramírez R.S., Barrios G.E. 2013. Recursos genéticos de nochebuena en México. Colecta de germoplasma para mejoramiento genético. Ciencia y Tecnología Agropecuaria de México 1:20-26.
- Canul K.J., García P.F., Barrios G.E., Osuna C.F., Ramírez R.S., Alia T.I., Montoya C.E. 2014. Caracterización morfológica de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). Ciencia y Tecnología Agropecuaria de México 2: 16-23.
- Canul-Ku J., García-Pérez F., Barrios-Gómez E., Campos-Bravo E., Osuna-Canizales F., Ramírez-Rojas S., Rangel-Estrada S. 2015. Técnica para producir híbridos en nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch). Agroproductividad 8:32-37.
- Catanzaro C., Bhatti S. 2006. Consumers survey reveals poinsettia cultivar preferences for 2005. HortScience 41:1061.
- García L.S. 2015. Evaluación de genotipos de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Tetela del Monte, Cuernavaca, Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. 34 p.
- García P.F., Alia T.I., Vargas D.G., Valdez A.L., Canul K.J., López M.V., Osuna C.F., Colinas de L. M., Ramírez R. S. 2013. Comportamiento de variedades comerciales de nochebuena en Morelos. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Zacatepec, Morelos. Folleto Técnico Número 74. 51 p.
- García P.F., Canul K.J., Osuna C.F., Ramírez R.S., Rangel E.S., Portas F.B. 2015. Propagación de nochebuena de sol. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Zacatepec, Morelos. Publicación Especial Núm 57.45 p.
- Jiménez M.C. 2014. Respuesta agronómica de progenies F1 de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 43 p.
- Márquez M.M. 2016. Evaluación de progenies de cruzas dobles de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Morelos. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. 42 p.
- SAS. 2000. SAS® Procedure Guide, Version 8. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA 1643 p.
- SIAP. 2015. (Consultado septiembre, 2015). <http://www.siap.gob.mx/>.
- Steinmann V. W. 2002. Diversidad y endemismo de la familia Euphorbiaceae en México. Acta Botánica Mexicana 61:61-93.
- Trejo L., Feria A.T., Olsen K.M., Eguiarte L.E., Arroyo B., Gruhn J.A., Olson M.E. 2012. Poinsettia's wild ancestor in the Mexican dry tropics: historical, genetic, and environmental evidence. American Journal of Botany 99:1146-1157.
- Trejo-Hernández L., Olson-Zúñiga M.E., Bye-Boettler R.A. 2015. Datos históricos y diversidad genética de las nochebuenas (*Euphorbia pulcherrima*) del Distrito Federal, México. Revista Mexicana de Biodiversidad 86:478-485.
- Vázquez A.P., García P.F., Granada C.L., Canul K.J., Ramírez R.S., Osuna C.F. 2012. CUETLAXÓCHITL-NOCHEBUENA: su pasado, presente y futuro en el estado de Morelos. Publicación Especial Núm. 52. INIFAP. C.E. Zacatepec. 70 p.



# TÉCNICAS DE INJERTOS ENTRE GENOTIPOS DE *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch

## GRAFT TECHNIQUES BETWEEN GENOTYPES OF *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch

García-Pérez, F.<sup>1\*</sup>; Rangel-Estrada, S.E.<sup>1</sup>; Canul-Ku, J.<sup>1</sup>; Osuna-Canizalez, F. de J.<sup>1</sup>; Ramírez-Rojas, S.<sup>1</sup>; Portas-Fernández, B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Zacatepec. km 0.5 Carretera Zacatepec-Galeana, Colonia Centro, C.P. 62 780 Zacatepec, Morelos, México.

\*Autor de correspondencia: garcia.faustino@inifap.gob.mx

### RESUMEN

En flor de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), existe oferta y demanda constante por nuevas variedades y presentaciones. La técnica de injerto puede apoyar en su mejoramiento genético, compactación, y formación de arquetipos, como fuente de tolerancia o resistencia a estrés biótico o abiótico. Se evaluaron las técnicas de injerto adosado, aproximación, cuña y empalme, usando plántulas del genotipo nochebuena 40 (patrón) y la variedad 'Prestige' irradiado con rayos gamma (púa), bajo un diseño completamente al azar, con 10 repeticiones. Se registró sobrevivencia de injertos [SDI (%)]; inicio, 50% y pigmentación completa de bráctea (IPB, PB5, PBC); diámetro basal del patrón [DBP (mm)] e injerto [DBI (cm)]; altura de bráctea de transición [ABT (cm)], púa [ADP (cm)] y planta [ATP (cm)]; número de nudos (NDN); diámetro de bráctea [DMB (cm)] y ciatio [DMC (cm)]; largo y ancho de bráctea [LDB y ANB (cm)] y luminosidad (LUM), cromaticidad (CRO) y matiz (HDB) del haz de brácteas. Se efectuó ANAVA y prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ) con SAS (2000). Hubo diferencias altamente significativas para ADP, LUM, CRO y HDB y diferencias significativas en IPB, PB5, PBC, y ABT y ATP. Es factible la aplicación del injerto en plántulas de nochebuena. En cuña se obtuvieron los mejores resultados en altura.

**Palabras clave:** mejoramiento, multiplicación, arquetipo, nochebuena

### ABSTRACT

In poinsettia flower (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), there is constant offer and demand for new varieties and presentations. The draft technique can support its genetic improvement, compacting, and archetype formation, as a source of tolerance or resistance to biotic or abiotic stress. The techniques of attached draft, approximation, wedge and splice, using seedlings of the poinsettia genotype 40 (pattern) and 'Prestige' variety radiated with gamma rays (spike), under a completely random design, with 10 repetitions, were evaluated. The following were reported: survival of drafts [SDI (%)]; beginning, 50% and complete pigmentation of bract (IPB, PB5, PBC); base diameter of the pattern [DBP (mm)] and draft [DBI (cm)]; height of transition bract [ABT (cm)], spike [ADP (cm)] and plant [ATP (cm)]; number of knots (NDN); diameter of bract [DMB (cm)] and cyathium [DMC (cm)]; length and width of the bract [LDB and ANB (cm)] and luminosity (LUM), chromaticity (CRO) and hue (HDB) of the bract sheaf. ANOVA and Tukey test ( $P \leq 0.05$ ) were performed with SAS (2000). There were highly significant differences for ADP, LUM, CRO and HDB and significant differences in IPB, PB5, PBC, and ABT and ATP. The application of the draft in poinsettia seedlings is feasible. The best results in height were obtained with wedge.

**Keywords:** improvement, multiplication, archetype, poinsettia.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto, 2017. pp: 18-23.

**Recibido:** diciembre, 2016. **Aceptado:** mayo, 2017.

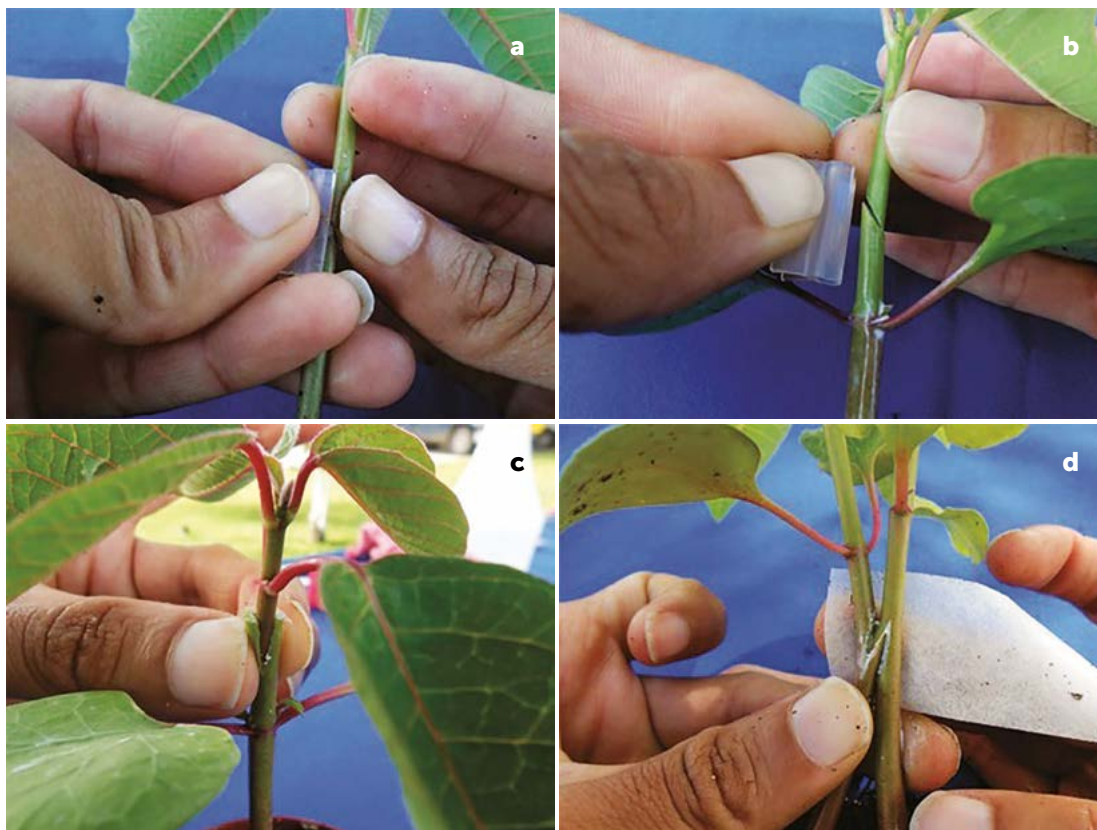
## INTRODUCCIÓN

**En nochebuena** (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch), existe una oferta y demanda constante por parte de los eslabones de la cadena por nuevas variedades y presentaciones que satisfagan las necesidades estéticas del consumidor, mejorar la forma de vida de los productores y obtener un ingreso económico remunerado en el resto de los enlaces (García *et al.*, 2015). En este sentido, se propone el posible uso de la técnica de injerto con fines de aplicación en su mejoramiento genético, compactación de la planta, formación de arquetipos con brácteas de dos colores o jaspeadas o bien como una fuente de tolerancia o resistencia a estrés biótico o abiótico. El injerto se define como un todo conformado por el sujeto (patrón o portainjerto) y el objeto (púa o injerto) (León y Ravelo, 2005). Es una técnica de propagación asexual, consiste en unir dos plantas diferentes para formar un tejido de cicatrización, donde una vez unidos haya continuidad en la actividad fisiológica, reiniciándose el crecimiento y desarrollo del objeto hasta llegar a su etapa reproductiva y productiva, (Rojas *et al.*, 2004). El cambium de púa y patrón quedan en íntimo contacto para que los nuevos tejidos, procedentes de la división celular de ambos, queden fuertemente unidos y puedan transportar agua y alimento a través de la unión, sin ningún impedimento (Chandler, 1962). Plántulas injertadas han sido utilizadas desde 1920 en solanáceas y cucurbitáceas en Japón (Sakata *et al.*, 2008), con base en los mismos principios aplicados en árboles frutales (Ozores-Hampton *et al.*, 2014). León y Ravelo (2005), Raigón (2012) y Ozores-Hampton *et al.* (2014); indican algunas de las razones para realizar injertos, tales como la tolerancia o resistencia a estrés biótico y abiótico, conservación, propagación y multiplicación de clones e híbridos, apoyo a programas de mejoramiento genético, obtención de injertos vigorosos, compactos, para cambiar parcialmente o establecer nuevas plantaciones con sistemas de alta densidad de plantas, incremento de la eficiencia en la absorción de agua y nutrientes, facilidad de cosecha, e interés ornamental. El método de injerto es el factor que más influye en el éxito de su proceso que facilite producir plantas sanas y vigorosas (Abd *et al.*, 2013). Pero la elección de un método en particular, depende de los materiales que se utilizan como patrón y púa; además, de la disponibilidad de las condiciones en el proceso de formación de "callo" durante la unión entre portainjerto e injerto y la etapa de aclimatación. La unión del injerto se forma por completo mediante células que se desarrollan después de éste. Nunca se efectúa una mezcla de contenidos celulares. Las células producidas por el patrón y el injerto conservan cada una su propia identidad. El fenómeno por el cual dos partes distintas y a veces diferentes se unen para formar una unidad se produce en dos fases: una en la que se produce una reacción de compatibilidad y otra en la que se completa la unión (Camacho y Fernández, 2000). Con base en lo anterior, se evaluaron diferentes técnicas de injerto entre plántulas de genotipos de nochebuena.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el Campo Experimental Zacatepec, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) (18° 39' 16" N, y 99° 11' 54" O con altitud de 910 m) en Zacatepec de Hidalgo, Morelos, México. Se obtuvieron semillas de no-

chebuena de la variedad 'Prestige' irradiado con rayos gamma (Pi) y de la progenie F<sub>1</sub> nochebuena 40 (Nb 40) se sembró de manera individual, a una profundidad de 0.5 cm, en macetas de terracota de 3" (160 mL) con sustrato Sunshine® Mix 3 humedecido a capacidad de contenedor. Las macetas se colocaron en charolas planas y estibarón una encima de otra sobre plástico blanco opaco UV-2 50%, con el cual se envolvieron completamente para favorecer la germinación, dentro de un túnel de 6×15 m=90 m<sup>2</sup>, con una altura cenital de 3.5 m y paredes laterales de 80 cm, todo cubierto con el mismo plástico. Sobre el techo del túnel, a 60 cm de alto, se colocó una cubierta horizontal de malla aluminizada Rashe® 70%. A los cuatro días de sembrado (dds), cuando la plúmula gancho de las plántulas comenzó a emerger, se sacaron las macetas de las charolas y colocaron sobre soportes de perfil tubular rectangular a una altura de 35 cm, donde se regaron con aspersora manual todos los días y una vez por semana se aplicó en "drench" solución nutritiva para nochebuena previas a realizar el injerto. Posteriormente, plántulas en etapa fenológica de tercera hoja verdadera (29 dds), se realizaron las técnicas de injerto adosado, empalme, cuña y aproximación (Figura 1) con el genotipo avanzado Nb 40 como patrón y la variedad Pi como púa. En las dos primeras se usaron clips de plástico de 2.2 mm para sujetar patrón y púa, en el resto cinta microporo de 2.5 cm de ancho (Figura 1), en la última se utilizó toda la planta, patrón y púa, para hacer el injerto. Además, de que se realizó con plántulas conteniendo las dos terceras partes de su cepellón (raíz-sustrato), y al unir las dos plántulas el volumen de cepellón aumentó por lo



**Figura 1.** Técnicas de injerto evaluadas entre genotipos de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch: a) adosado, b) empalme, c) cuña y d) aproximación.

que hubo necesidad de colocar este injerto en macetas de 5" (0.71 L) con la mezcla de sustrato ocochal, atocle, polvillo de coco en block  $\frac{3}{4}$  Pelemix® y lombricomposta de cachaza en una proporción 48:16:16:20 v/v. Para favorecer la formación de callo y la unión patrón-púa, las plántulas injertadas se colocaron en el mismo túnel con un sistema de nebulización (pausas cada 30 min y pulsos de 10 s). Tres días después de haber hecho los injertos (ddi), estos perdieron turgencia, se marchitaron, condición que se evaluó de manera visual, con base en la presencia de síntomas de pérdida de agua (marchitez) de las plántulas injertadas de acuerdo a una que se elaboró para tal fin. Una semana después de injertar, se colocaron bajo un túnel de dos aguas con doble cubierta de plástico blanco opaco y malla sombra negra 80%, para su aclimatación y tres días después bajo cubierta horizontal de malla aluminizada 50%, donde posteriormente una vez que se dio la unión patrón-púa en las plantas sobrevivientes 10 ddi, se cambiaron todos los injertos a maceta de 6" (1.61 L) con la misma mezcla de sustrato. A los 49 ddi las plantas injertadas se cambiaron a maceta de 8" (3.50 L) e igual sustrato. El resto del manejo agronómico hasta planta terminada y selección de ellas con el ideotipo indicado por Canul *et al.* (2010) se

hizo con base en el conocimiento generado por el equipo interdisciplinario de investigadores del programa en plantas ornamentales del Campo Experimental Zacatepec. El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar, con 10 repeticiones, los tratamientos fueron las técnicas de injerto adosado, empalme, cuña y aproximación y la unidad experimental fue una planta por maceta.

Las variables que se registraron fueron: sobrevivencia de injertos [SDI (%)], inicio, 50% y pigmentación de bráctea completa (IPB, PB5, PBC); diámetro basal del patrón [DBP (mm)] e injerto [DBI (cm)]; altura de bráctea de transición [ABT (cm)], púa [ADP (cm)] y planta [ATP (cm)]; número de nudos (NDN); diámetro de bráctea [DMB (cm)] y ciatio [DMC (cm)]; largo y ancho de bráctea [LDB y ANB (cm)]. Además, se registraron las características de color del haz de las brácteas: luminosidad (LUM), se llama valor a la intensidad lumínica, es decir, su grado de claridad, los colores pueden ser clasificados como tenues u oscuros al comparar sus valores, que corresponde a una escala oscuro brillante que va del negro al blanco; cromaticidad (CRO) describe lo llamativo o lo apagado de un color; en otras palabras, qué tan cerca



está el color de su pureza, ya sea al gris o al matiz puro; y matiz (HDB), el matiz es como se percibe el color de un objeto: rojo, anaranjado, verde, azul, etcétera, mediante el espectrofotómetro X-Rite® Modelo 3960. Se efectuó análisis de varianza y prueba de comparación de medias mediante Tukey ( $P \leq 0.05$ ) con el programa SAS (2000).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tres días después de haber realizado el injerto no se observó marchitez alguna en la técnica de aproximación. Le siguió la técnica de empalme con 40% de marchitez, desde ligera hasta total. La técnica de adosado mostró 70% de marchitez de ligera a mediana y por último la de cuña presentó 80% (Cuadro 1).

En el injerto de aproximación, pese a la eliminación perimetral de una tercera parte del cepellón (sustrato y raíz) del patrón y púa y a la dificultad para su ejecución, todas las plantas conservaron su turgencia, es decir, no presentaron marchitez (Cuadro 1), atribuido a que esta técnica se realizó con plántulas conteniendo las dos terceras partes de su cepellón y al unir estas el volumen aumentó, por lo que a mayor capacidad de humedad en el sustrato, mayor es la disponibilidad para que las plántulas no se marchiten. La turgencia es importante para los procesos fisiológicos, por ejemplo, contribuye a la rigidez de los tejidos no lignificados (Taiz y Zeiger, 2010). En el caso de plántulas de nochebuena que se injertaron la turgencia es mucho más importante por el tejido succulento que presentan. En la técnica de injerto adosado y cuña fue ligera con los niveles más elevados de 40% y 70% respectivamente. En empalme y aproximación los valores altos sin marchitez

fueron de 20% y 100% para cada uno de ellos. Solo en empalme se presentó marchitez total en un 10% (Cuadro 1). Fisiológicamente para que una planta sobreviva es necesario que sus células se encuentren turgentes, de lo contrario no tiene lugar la plasmólisis y se da el marchitamiento. Para realizar injertos se deben de hacer muchos cortes y un manejo variable, dependiendo de la técnica y especie, por lo que a más cortes y manejo, mayor reducción en el contenido de agua con la consecuente pérdida de turgencia y marchitamiento, suspensión del ensanchamiento celular, cierre de los estomas, reducción de la fotosíntesis, y la interferencia con muchos otros procesos metabólicos. Eventualmente, una continua deshidratación causa desorganización en el protoplasma y la muerte de la planta (Cartagena, 2010). El porcentaje de sobrevivencia más bajo (40%) se presentó en la técnica de aproximación, pese a las condiciones de manejo al momento y después de la ejecución del injerto que favorecieron que 100% de ellos no presentara marchitez alguna. En adosado y empalme fue de 50% y la técnica con mayor más sobrevivencia de plantas injertadas fue cuña con 70%. López *et al.* (2008) al evaluar los métodos de injerto de aproximación y púa en sandía [*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai], híbrido Tri-X 313 sobre calabaza (*Cucurbita maxima* × *Cucurbita*

*moschata*), híbridos interespecíficos RS1330, RS841, RS888 y RS1313 concluyen que el método de injerto usado no influyó en la sobrevivencia de la planta. Rojas *et al.* (2001) determinaron el efecto de la edad de plántulas y de cuatro diferentes técnicas de injertación (aproximación, empalme, púa y tubo) en melón (*Cucumis melo*) con dos variedades botánicas: *C. melo* var. *reticulatus* and *C. melo* var. *inodorus*, mencionan que la sobrevivencia de plantas fue modificada significativamente por variedad, técnica e interacción ( $P \leq 0.05$ ). Martínez (2009) al evaluar las técnicas de injertación de aproximación, empalme y púa sobre patrones de tomate silvestres *L. ceraciforme* y *L. pimpinillifolium* injertados con las variedades comerciales Cid® de hábito de crecimiento indeterminado y Toro® de hábito determinado concluyeron que la técnica de injertación más adecuada es la de aproximación. Habrá que buscar los mecanismos necesarios para mejorar los porcentajes de sobrevivencia hasta ahora obtenidos en plántulas de nochebuena. Pero, con base en estos y a la experiencia obtenida en el presente trabajo las mejores técnicas para injertar plántulas de nochebuena de sol son las técnicas de adosado y empalme. El Cuadro 2 muestra los cuadrados medios del análisis de varianza y coeficientes de variación para las variables.

**Cuadro 1.** Porcentaje de marchitez en *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch tres días después de injertado.

Nivel de marchitez	Marchitez por técnica de injerto (%)			
	Adosado	Empalme	Cuña	Aproximación
Sin marchitez	30.0	60.0	20.0	100.0
Ligera	40.0	20.0	70.0	0.0
Mediana	30.0	10.0	10.0	0.0
Total	0.0	10.0	0.0	0.0

**Cuadro 2.** Cuadrados medios y coeficiente de variación de variables registradas en evaluación de técnicas de injerto en *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch.

Característica	Cuadrados medios	Coefficiente de variación (%)
Inicio de pigmentación de brácteas (IDP)	369.88*	21.8
Pigmentación de brácteas al 50% (PB5)	362.90*	16.6
Pigmentación de brácteas al 100% (PBC)	349.07*	13.7
Diámetro basal del patrón [DBP (mm)]	6.81 <sup>ns</sup>	15.2
Diámetro basal del injerto [DBI (mm)]	7.30 <sup>ns</sup>	17.4
Altura a última bráctea de transición [ABT (cm)]	392.69*	19.0
Altura total de planta [ATP (cm)]	440.33*	18.1
Altura de púa [ADP (cm)]	613.04**	19.7
Número de nudos (NDN)	34.9 <sup>ns</sup>	18.7
Diámetro de ciatio [DMC (cm)]	38.32 <sup>ns</sup>	54.5
Diámetro de bráctea [DMB (cm)]	36.74 <sup>ns</sup>	26.6
Largo de bráctea [LDB (cm)]	10.10 <sup>ns</sup>	25.8
Ancho de bráctea [ANB (cm)]	2.68 <sup>ns</sup>	32.1
Luminosidad del haz de la bráctea <sup>1</sup> (LUM)	35.00**	5.1
Cromaticidad del haz de la bráctea <sup>2</sup> (CRO)	94.47**	6.8
Matiz del haz de la bráctea <sup>3</sup> (HDB)	29.40**	7.7

<sup>ns</sup>: Diferencias no significativas; \*: Diferencias significativas  $P \leq 0.05$ ; \*\*: Diferencias altamente significativas  $P \leq 0.01$ ; <sup>1</sup>: 0: (blanco, 100: negro); <sup>2</sup>: (del gris); <sup>3</sup>: 0: rojo, 90: amarillo.

Una característica principal del ideotipo de planta de nochebuena, es que debe ser compactas (Canul et al., 2010), si se considera que su porte o altura debe ser de 2 a 3 veces la altura de la maceta (Martínez, 1995; Wilfret y Bell 1998; Pérez et al., 2005), el porte de injerto que se presentó en cuña cumple con esta condición, más no así las demás técnicas, al emplearse en este trabajo macetas de terracota de 8" (3.50 L) con 14 cm de altura.

### CONCLUSIONES

Es factible la aplicación de la técnica de injerto en plántulas de nochebuena. Con la técnica de cuña se obtuvieron los mejores resultados en las variables relacionadas a altura. Con fines prácticos se recomienda aplicar las técnicas de adosado y empalme, más no así la técnica de aproximación.

### LITERATURA CITADA

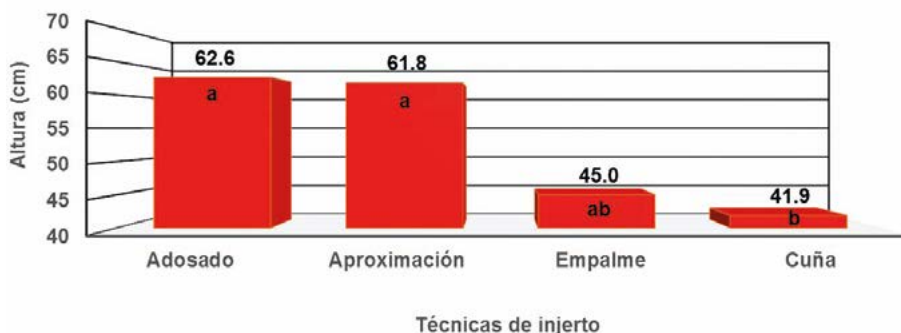
Abd E., Mona M., Amin A. W., Abdel R. T. 2013. Evaluation of some cucurbitaceous rootstocks 2-effect of cucumber grafting using some rootstocks on growth, yield and its relation with root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and fusarium wilt, infection. Egypt. J. Agric. Res. 91:235-257.

Camacho F. F., Fernández R. E. 2000. El cultivo de sandía apirena injertada, bajo invernadero, en el litoral mediterráneo español. Ed. Caja Rural de Almería. Madrid, España. 312 p.

Canul K. J., García P. F., Ramírez R. S., Osuna C. F. 2010. Programa de mejoramiento genético de nochebuena en Morelos. Publicación Especial núm. 49. SAGARPA, INIFAP. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Zacatepec. 34 p.

Cartagena V. J. 2010. Relaciones agua suelo planta. Universidad Nacional de Medellín. Colombia. [http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/relacion\\_suelo\\_agua\\_planta.pdf](http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/relacion_suelo_agua_planta.pdf). Fecha de consulta: 24 de marzo del 2015.

Los coeficientes de variación son aceptables al considerar que estos se presentan desde 5.1% en LUM hasta 32.1% en LDB, salvo en DMC con valor de 54.5%, estos resultados son similares a los reportados por Montoya (2011), Galindo (2012) y García et al. (2015) con la misma especie ornamental, nochebuena. Se presentaron diferencias altamente significativas para la variable ADP y las relacionadas a color del haz de la bráctea LUM, CRO y HDB. Mostraron diferencias significativas las de pigmentación IPB, PB5, PBC, y las de altura ABT y ATP, en estas dos últimas la prueba de medias indica que estas son estadísticamente iguales. No hubo diferencias significativas en el resto de ellas: DBP, DBI, NDN, DMC, DMB, LDB y ANB. En la Figura 2 se observa tres grupos estadísticamente diferentes con la variable ADP en técnicas de injerto adosado, aproximación, empalme y cuña, siendo este último con la menor altura, con diferencias de 20.7, 19.9 y 3.1 cm respectivamente, con relación al resto de ellas.



**Figura 2.** Grupos estadísticamente diferentes con la variable altura de púa en técnicas de injerto adosado, aproximación, empalme y cuña de *Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch.

- Chandler W. H. 1962. Frutales de hoja perenne. Editorial U.T.E.H.A. 169 p.
- Ecke Jr. P. 1988. Process for altering poinsettia growth characteristics. United States Patent. Patent number 4,724,276. 7 p.
- Galindo G. D. 2012. Diversidad genética de nochebuena de sol (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en Morelos. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 119 p.
- Hartmann T. H., Kester E. D. 1991. Propagación de plantas. Principios y prácticas. Compañía Editorial Continental México. 493 p.
- León N. P., Rabelo O. R. 2005. Fitotecnia General. Aplicada a las condiciones tropicales. Universidad Agraria de la Habana, Facultad de Agronomía. Habana, Cuba. 310 p.
- López E. J., Romo A. A., Domínguez S. J. 2008. Evaluación de métodos de injerto en sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matzum. & Nakai) sobre diferentes patrones de calabaza. IDESIA 26:13-18.
- Martínez M. F. 1995. Manual práctico de producción de nochebuena. Ed. Consultoría Oasis. Jiutepec, Morelos. México. 87 p.
- Martínez P. M. 2009. Evaluación de métodos de injertación en genotipos de tomate (*Lycopersicon* spp.). Tesis de Maestría. IPN, Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional – Unidad Oaxaca. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca. 61 p.
- Montoya C. R. 2011. Diversidad morfológica de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) en México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Facultad de Ciencias Agropecuarias. 84 p.
- Ozores-Hampton M., Zhao X., Ortez M. 2014. Introducción a la tecnología de injertos a la industria de tomate en Florida: Beneficios potenciales y retos. Universidad de Florida. Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas: Extensión. 6 p.
- Pérez L. J., Carrillo S. A., Colinas L. M., Sandoval V. M. 2005. Regulación del crecimiento de nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Willd. ex Klotzsch) con etefón. Agrociencia 39:639-646.
- Raigón J. M. 2012. Injertos en frutales. <http://www.calidadsj.com.ar/v3/images/doc/injertos.pdf>. Fecha de consulta: 24 de marzo del 2015.
- Rojas P. L., Riveros B. F. 2001. Efecto del método y edad de las plántulas sobre el prendimiento y desarrollo de injertos en melón (*Cucumis melo*). Agricultura Técnica 61:262-274.
- Rojas G. S., García L. J., Alarcón R. M. 2004. Propagación asexual de plantas: Conceptos básicos y experiencias con especies amazónicas. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPORICA), Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Caquetá, Colombia. 55 p.
- Sakata Y., Ohara T., Sugiyama M. 2008. The history of melon and cucumber grafting in Japan. Acta Horticulturae 63:31-33.
- Taiz L., Zeiger E. 2010. Plant Physiology. Ed. Sinauer Associates Inc, Sunderland, MA. 782 p.
- Wilfret G. J., Bell M. L. 1998. Effect of paclobutrazol drenches on height of nine poinsettia cultivars. Proc. Fla. State Hort. Sci. 111:17-19.





# CAMBIOS FISICOQUÍMICOS POSCOSECHA EN FRUTOS DE AGUACATE "HASS" (*Persea americana* Mill) CULTIVADOS A DIFERENTE ALTITUD

## POST-HARVEST PHYSICAL CHEMICAL CHANGES IN "HASS" AVOCADO (*Persea americana* Mill) CULTIVATED AT DIFFERENT ALTITUDE

Moreno-Velázquez, D.<sup>1\*</sup>; Ruíz-Parra, V.<sup>1</sup>; Ibáñez-Martínez, A.<sup>1</sup>; Torres-Fernández, C.D.<sup>1</sup>; Tobar-Reyes, J.R.<sup>1</sup>; Enríquez-García, F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ingeniería Agro hidráulica. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. Universidad S/N, San Juan Acateno, C.P.73800, Teziutlán, Puebla, México.

\*Autor de correspondencia: demove91@hotmail.com

### RESUMEN

La comercialización de aguacate (*Persea americana* Mill.) con fines de exportación, exige calidad; y en el manejo poscosecha, la madurez al momento de recolectar el fruto es determinante para el proceso de maduración final. En Teziutlán, Puebla, México, se produce aguacate "Hass" para exportación, sin embargo, debido a la variabilidad de altitud, se desconoce la calidad del fruto que se obtiene. Se evaluaron cambios fisicoquímicos poscosecha de frutos de aguacate "Hass" cultivados a diferente altitud en Teziutlán, procedentes de tres huertas comerciales con altitudes de 1957 m, 1447 m. y 1800 m respectivamente. La cosecha de frutos se realizó al momento de cambiar la tonalidad de la cáscara de verde claro a verde oscuro. Se seleccionaron 106 frutos de cada huerta y almacenaron a 20 °C  $\pm$ 2 por tres semanas. Se determinó el calibre de los frutos al momento de la cosecha y evaluó el porcentaje de materia seca, pérdida de peso, firmeza, sólidos solubles totales y color de cáscara, al tiempo 0, 4, 8, 12, 15, 18 y 20 días de almacenamiento. Los resultados se analizaron como un diseño completamente al azar, con tres tratamientos, diez repeticiones para pérdida de peso y cuatro para el resto de las variables; se consideró un fruto como unidad experimental. Se realizó una comparación múltiple de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ), para los tratamientos que resultaron significativos. El contenido de materia seca y sólidos solubles totales fue mayor en los frutos cultivados a 1957 m.

**Palabras clave:** materia seca, calibre, pérdida de peso.

### ABSTRACT

Avocado (*Persea americana*) commercialization with export purposes demands quality; and in the post-harvest management, maturity at the time of collecting the fruit is defining for the final maturation process. In Teziutlán, Puebla, México, "Hass" avocado is produced for export; however, due to the variability in altitude, the quality of the fruit obtained is unknown. Post-harvest physical chemical changes of "Hass" avocado fruits grown at different altitudes in Teziutlán were evaluated, from three commercial plantations with altitudes of 1957 m, 1447 m and 1800 m, respectively. The fruit harvest was carried out at the moment when the skin changed from light green to dark green color. 106 fruits were collected from each plantation and stored at 20 °C  $\pm$ 2 for three weeks. The caliber of the fruits was determined at the moment of the harvest, and the percentage of dry matter, weight loss, firmness, total soluble solids, and skin color were determined at the times of 0, 4, 8, 12, 15, 18 and 20 days of storage. The results were analyzed as a completely random design, with three treatments, ten repetitions for weight loss and four for the rest of the variables; one fruit was considered as experimental unit. A multiple means comparison was carried out with Tukey ( $P \leq 0.05$ ), for the treatments that were significant. The content of dry matter and total soluble solids was higher in the fruits cultivated at 1957 m.

**Keywords:** dry matter, caliber, weight loss.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto, 2017, pp. 24-28.

**Recibido:** noviembre, 2015. **Aceptado:** abril, 2017.

## INTRODUCCIÓN

El aguacate es originario de las áreas montañosas del centro y este de México, así como, de las partes altas de Guatemala (Williams, 1977), de donde se ha distribuido al resto del mundo (Barrientos y López, 2002). En la actualidad se reconocen tres razas, la Mexicana (*Persea americana* var. *drymifolia*), la Guatemalteca (*P. americana* var. *guatemalensis*) y la Antillana (*P. americana* var. *americana*). La mayoría de los cultivares comerciales de aguacate son híbridos interraciales (Bernal y Díaz, 2005). El cultivar "Fuerte" es el más difundido en el mundo por la excelente calidad del fruto; en México es el segundo en importancia después del "Hass", por presentar éste mayor resistencia al ataque de plagas (Rodríguez, 1992). La FAO en el año 2012, registró como principales países productores de aguacate a México, Chile, República Dominicana, Indonesia y Colombia. En ese mismo año, México exportó a Estados Unidos de América (EUA), Japón y Canadá. La producción en México procede principalmente de Michoacán, Jalisco, Morelos, Nayarit, México, Guerrero, Veracruz y Puebla (SIAP, 2012). El fruto se consume principalmente en fresco, y actualmente, revisa gran importancia socioeconómica (Macías, 2011). La comercialización de los frutos, con fines de exportación, exige calidad, y en el manejo poscosecha, la etapa de madurez al momento de recolectar el fruto, es determinante en el proceso de maduración, lo que repercute en las condiciones de almacenamiento, vida de anaquel y comercialización. Las propiedades químicas del fruto, más que las físicas, son afectadas por las diferencias en el ambiente dado por diversas microrregiones (Izhaki *et al.*, 2002). En el municipio de Teziutlán, Puebla, donde predomina el aguacate criollo, actualmente se está introduciendo planta de aguacate "Hass" proveniente principalmente del estado de Michoacán, con la finalidad de producir fruto para exportación; sin embargo, debido a la variabilidad de altitud, se desconoce la calidad del fruto que se obtiene. Por lo anterior, se evaluaron cambios fisicoquímicos poscosecha de frutos de aguacate "Hass" cultivados a diferente altitud en Teziutlán, Puebla, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de usos múltiples de la Facultad de Ingeniería Agrohídrica de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, en San Juan Acateno, Teziutlán, Puebla. Frutos de aguacate "Hass" fueron cosechados de tres huertas comerciales a diferente altitud, a 1957 m, 1447 m y a 1800 m. La cosecha

de frutos se realizó conforme al criterio del productor, al momento de cambiar la tonalidad de la cáscara de verde claro a verde oscuro. Se seleccionaron 106 frutos de cada una de las huertas y se almacenaron a 20 °C  $\pm$  2 por 20 días. Se determinó el calibre de los frutos al momento de la cosecha y evaluó el porcentaje de materia seca, pérdida de peso, firmeza, sólidos solubles totales y color de cáscara, a los tiempos de 0, 4, 8, 12, 15, 18 y 20 días de almacenamiento. El calibre y porcentaje de materia seca se evaluó de acuerdo a la norma mexicana NMX-FF-016-SCFI-2006. La pérdida de peso de acuerdo a la fórmula descrita por López y Cajuste (2004), reportando los resultados en g. La firmeza se determinó mediante la compresión de la pulpa en dos puntos equidistantes, con el equipo medidor de textura brookfield, utilizando un puntal plano de 2 mm de diámetro y una compresión de 5 mm de profundidad a una velocidad de 0.5 mm s<sup>-1</sup>, los resultados se reportaron como g<sub>f</sub>. Los sólidos solubles totales se midieron utilizando la metodología propuesta por la Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C, 1998), los resultados se expresaron en °Bx. El color de cáscara se midió con el colorímetro KONICA MINOLTA y se reportó en ángulo Hue (h°), L y C, propuesto por McGuire (1992) y Cox *et al.* (2004). Los resultados se analizaron bajo un diseño completamente al azar, con tres tratamientos, diez repeticiones para pérdida de peso y cuatro repeticiones para el resto de las variables; se consideró un fruto como unidad experimental. Se realizó una comparación múltiple de medias por Tukey (P $\leq$ 0.05), para aquellos tratamientos que resultaron significativos.

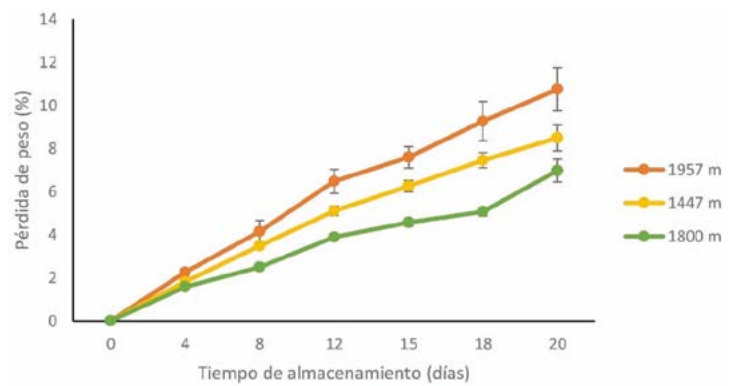
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El calibre de los frutos de aguacate Hass cultivados 1800 m, fue el mayor (254.67 g) y a 1447 m el menor (192.87 g). De acuerdo con las especificaciones de la norma mexicana NMX-FF-016-SCFI-2006, los frutos cultivados a 1957 y 1800 m, se clasifican de calibre extra 213.22 y 254.67 respectivamente) y los frutos cultivados a 1447 m, como clase 1. Si se consideran, las especificaciones con fines de exportación, de la marca oficial México Calidad Suprema en Aguacate (PC-001-2004), los frutos se encontraron en los calibres para ser exportados a Estados Unidos, Japón, Canadá y Centro América, y Europa. Al momento de la cosecha (Figura 1), los frutos de las tres altitudes no registraron el porcentaje mínimo de materia seca (21%), señalado por la norma mexicana NMX-FF-016-SCFI-2006, como indicativo de inicio de madurez fisiológica; no obstante, los frutos cultivados a 1957 y a 1447 m, del cuarto al

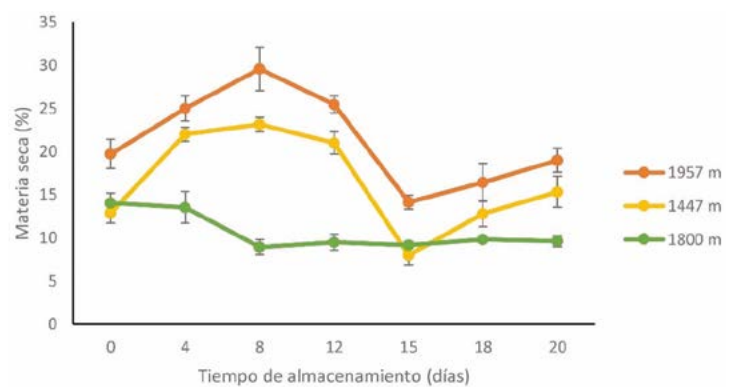
doceavo día de almacenamiento alcanzaron contenidos de materia seca de 25% y 23% respectivamente, lo cual indica que la madurez fisiológica y de consumo ocurrió durante el periodo de almacenamiento. Rocha-Arroyo *et al.* (2011) mencionan que la variabilidad climática origina que la fruta alcance su madurez fisiológica en periodos de tiempo diferentes dependiendo de las condiciones particulares de clima que prevalezcan en cada uno de los huertos. Kruger *et al.* (1999) mencionan que las condiciones climáticas y geográficas pueden influir en las características de calidad de las frutas, registrando variaciones por la temperatura y pluviometría en la acumulación de aceite.

La pérdida de peso acumulada a los 20 días de almacenamiento (Figura 2) fue mayor en los frutos cultivados a 1957 m (10.74%) y menor a una altitud de 1800 m (6.97%). Herrera-González *et al.* (2013) mencionan que los frutos de aguacate "Hass" que más peso pierden son aquellos que contienen menor porcentaje de materia seca. Lo anterior no sucedió, debido probablemente a las diferencias de altitud y clima predominante en cada una de las huertas. Osuna *et al.* (2005) reportan en frutos de aguacate 'Hass' con 21.8% de materia seca al momento del corte, pérdidas de peso de 16% después de 12 días de almacenamiento a temperatura ambiente ( $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ). Lo anterior indica que la transpiración de los frutos de aguacate 'Hass' fue diferente.

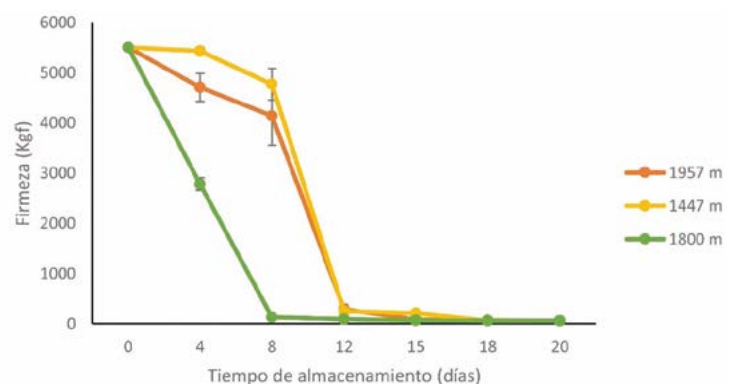
La firmeza de los frutos para las tres altitudes registraron valores superiores a 5500 gf (Figura 3), conforme transcurrió el tiempo de almacenamiento, la firmeza fue en descenso y al finalizar los 20 días, los frutos cultivados a 1957 m mostraron 67.4 gf, superior a los frutos cultivados a 1447 y 1899 m. Fuchs *et al.* (1995), comprobaron que para frutos almacenados a temperatura ambiente de  $25^\circ\text{C}$  y 60% H.R. durante 10 días y con mediciones diarias hasta madurez de consumo, la firmeza cambió de 4000 a 1500 gf. Osuna *et al.* (2005) señalan que los frutos de aguacate 'Hass' a los nueve días de almacenamiento se alcanza la madurez de consumo con firmeza de 10 N (1020.40 gf), y aproximadamente 8% de pérdida de peso. Ochoa-Ascencio *et al.* (2009) mencionan que el ablandamiento es el rasgo más característico del proceso de maduración de un fruto de aguacate 'Hass' y se considera como un criterio de referencia para evaluar



**Figura 1.** Porcentaje de materia seca en frutos de aguacate "Hass" (*Persea americana* Mill.) cultivados a diferente altitud y almacenados a  $20^\circ\text{C}$  por 20 días.



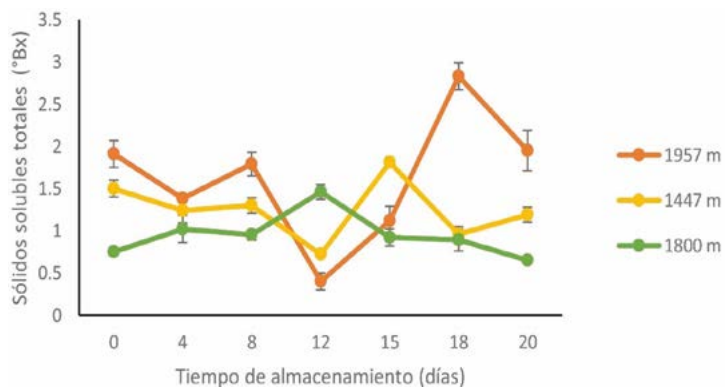
**Figura 2.** Porcentaje de pérdida de peso en frutos de aguacate "Hass" (*Persea americana* Mill.) cultivados a diferente altitud y almacenados a  $20^\circ\text{C}$  por 20 días.



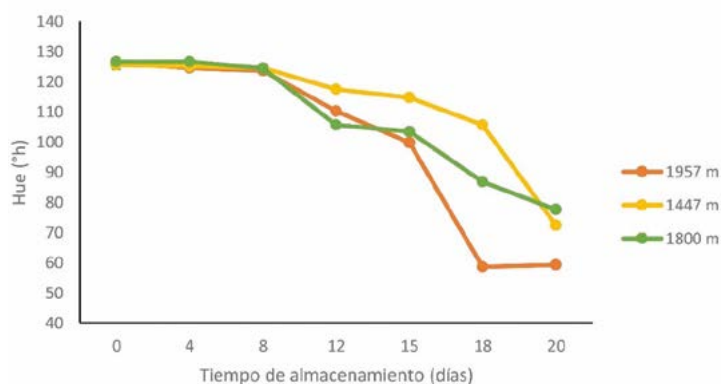
**Figura 3.** Firmeza en frutos de aguacate "Hass" (*Persea americana* Mill.) cultivados a diferente altitud y almacenados a  $20^\circ\text{C}$  por 20 días.

la vida postcosecha potencial. De acuerdo a lo anterior, los frutos cultivados a 1957 y 1447 m alcanzaron firmeza entre 1000 y 1500 gf a los 11 días de almacenamiento, y los frutos a 1800 m después de los seis días. Los sólidos solubles totales, expresados como grados Brix ( $^\circ\text{Bx}$ ) fueron mayores en los frutos cultivados a 1957 m ( $1.62^\circ\text{Bx}$ ) y menores en los cultivados a 1800 m ( $0.95^\circ\text{Bx}$ ). Durante el periodo de almacenamiento (Figura 4), los  $^\circ\text{Bx}$

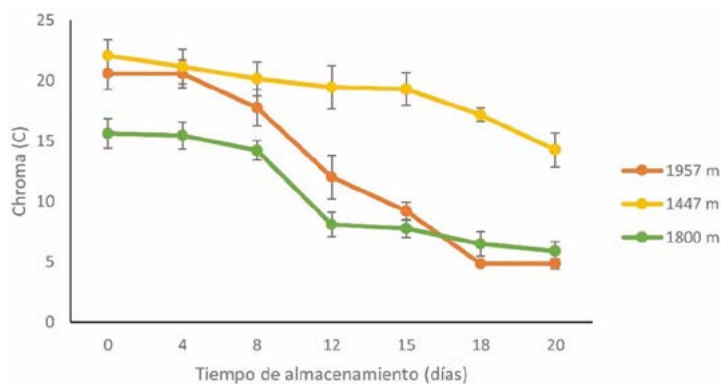




**Figura 4.** Sólidos solubles totales (°Bx) en frutos de aguacate "Hass" (*Persea americana* Mill.) cultivados a diferente altitud y almacenados a 20 °C por 20 días.



**Figura 5.** Color de cáscara expresado en ángulo Hue (°h) en frutos de aguacate "Hass" (*Persea americana* Mill.) cultivados a diferente altitud y almacenados a 20 °C por 20 días.



**Figura 6.** Color de cáscara expresado en L en frutos de aguacate "Hass" (*Persea americana* Mill.) cultivados a diferente altitud y almacenados a 20 °C por 20 días.

de los frutos cultivados a los 1957 y 1447 m registraron descenso a los 12 días e inmediatamente un incremento hasta alcanzar el máximo valor a los 18 días y 15 días, respectivamente; en los frutos cultivados a 1800 m, el valor mínimo ocurrió a los ocho días y el máximo a los 12 días. Buelvas et al. (2012), en frutos de aguacate "Hass"

registraron aumento progresivo de los grados Brix en el proceso de maduración, debido a menor cantidad de agua por efecto de la transpiración y mayor concentración de azúcares producto de una mayor velocidad de respiración, originado por su carácter climatérico.

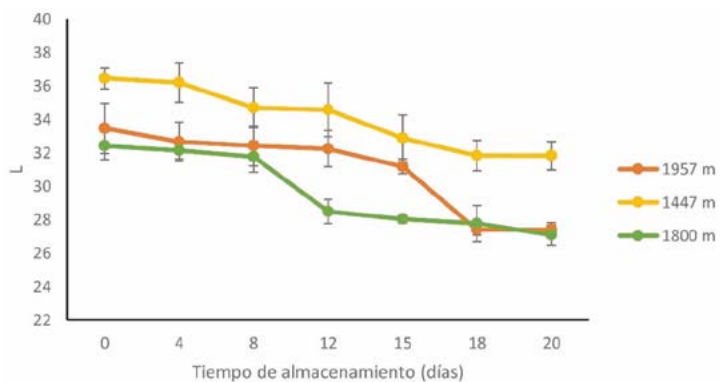
El color de cáscara expresado en valores de Hue (°h), L y Chroma (C) fue mayor ( $P \leq 0.05$ ) en los frutos cultivados a 1447 m (112.20, 34.06 y 19.05, respectivamente), lo que indica que éstos frutos fueron más verdes y brillosos. Conforme transcurrió el periodo de almacenamiento, el ángulo Hue (Figura 5), L (Figura 6) y Chroma (Figura 7) disminuyó en los frutos cultivados en las tres altitudes, y a los 20 días de almacenamiento fue menor en los frutos cultivados a 1957 y 1800 m. Lo anterior indica que los frutos presentaron coloración más oscura y con menor brillo. Woolf et al. (2004) señalan que el desarrollo de color púrpura oscuro de la cáscara es un indicador de que el aguacate 'Hass' ha alcanzado la madurez de consumo (Figura 8).

## CONCLUSIONES

La madurez fisiológica y cambios postcosecha de los frutos de aguacate Hass se ve afectada por el cambio de altitud. Los frutos procedentes de áreas a 1957 m de altura, presentan mayor contenido de materia seca y contenido de sólidos solubles totales durante los 20 días de almacenamiento.

## LITERATURA CITADA

- A.O.A.C. 1998. Official methods of analysis. 16 th (Ed.). William, S. (Ed). Published by the Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C. USA. CD-Room.
- Barrientos P.A.F., López L.L. 2002. Historia y genética del aguacate. Memoria 2002 de la Fundación Salvador Sánchez Colín. Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas del Aguacate en el Estado de México. Coatepec de Harinas, México. pp: 100-121
- Bernal J.A., Díaz C.A. 2005. Manual Técnico No. 5. Tecnología para el cultivo del aguacate. Colombia. Ed. Produmedios. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA. Centro de Investigación La Selva, Rio Negro, Antioquia. 241 p.
- Buelvas S.G.A., Patiño G.J.H., Cano-Salazar J.A. 2012. Evaluación del proceso de extracción de aceite de aguacate Hass (*Persea americana* Mill.) utilizando tratamiento enzimático. Revista Lasallista de Investigación 9(2): 138-150.
- Cox A.K., McGhie K.T., White A., Woolf B.A. 2004. Skin color and pigment changes during ripening of 'Hass' avocado fruit. Postharvest Biology and Technology 31:287-294.



**Figura 7.** Color de cáscara expresado en C en frutos de aguacate "Hass" (*Persea americana* Mill.) cultivados a diferente altitud y almacenados a 20 °C por 20 días.



**Figura 8.** Color inicial y final de frutos de aguacate "Hass" (*Persea americana* Mill.) cultivados a diferente altitud y almacenados a 20 °C por 20 días.

Fuchs Y., Zauberman G., Lederman E.I. 1995. Effect of postharvest treatments and storage conditions on avocado fruit ripening and quality. Israel. Proceedings World Congress III. 323-330 pp.

Herrera-González J.A., Salazar-García S., Gutiérrez-Martínez P., González-Durán I.J.L. 2013. El comportamiento poscosecha de frutos de aguacate 'Hass' influenciado por el portainjerto. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 4(1):19-32.

Izhaki I., Tshagar E., Paluy O., Friedman J. 2002. Within population variation and interrelationship between morphology, nutritional content, and secondary compounds of *Rhamnus alaternus* fruits. New Phytol. 156(2): 217-223.

Kruger F.J., Claassens N.J.F., Kritzing M.Y., Claassens V.E. 1999. A short review of recent research of the impact of climatic conditions on the postharvest quality of South African export avocados. Revista Chapingo. Serie Horticultura 58(5): 339-345.

López L. L. y Cajuste B. J. F. 2004. Comportamiento poscosecha de fruto de aguacate cv. Hass con base en la altitud de producción y tipo de floración. Revista Chapingo Serie Horticultura 5:365-371.

Macías M.A. 2011. México en el mercado internacional de aguacate. Revista de Ciencias Sociales 17(3): 517-532.

McGuire G. R. 1992. Reporting of objective color measurements. HortScience 27(12):1254-1255.

México Calidad Suprema en Aguacate (PC-001-2004)

NMX-FF-016-SCFI-2006. Productos alimenticios no industrializados para uso humano-Fruta fresca- Aguacate (*Persea americana* Mill.)-Especificaciones.

Ochoa-Ascencio S., Hertog M.M.L.A.T., Nicolaï M.B. 2009. Modelling the transient effect of 1-MCP on 'Hass' avocado softening: a Mexican comparative study. Postharvest Biology and Technology 51:62-72.

Osuna G.J.A., Beltrán J.A. y Vázquez V.V. 2005. Efecto del 1-Metilciclopropeno sobre el comportamiento poscosecha del aguacate 'Hass'. Rev. Fitotec. Mex. 28(1):1-8.

Rocha-Arroyo J.L., Salazar-García S., Bárcenas-Ortega A.E., González-Durán I.J.L., Cossio-Vargas L.E. 2011. Fenología del aguacate 'Hass' en Michoacán. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 2(3):303-316.

Rodríguez S.F. 1992. El Aguacate. SAGAR-INIFAP.1996. Programa Nacional de Investigación de Aguacate. Grupo Interdisciplinario de aguacate (GIA). En el Campo Experimental de Uruapan, Michoacán, México. Documento interno. A.G.T. Editor S.A. México, D.F. 167 p.

SIAP. 2012. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>. Consultado el 20 de octubre 2014.

Williams L.O. 1977. The avocados, a synopsis of the genus *Persea* subg. *Persea*. Econ. Bot. 31:315-320

Woolf A., White A., Arpaia M.L., Gross K. 2004. Avocado sp. In: USDA. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables and Florist and Nursery Stocks. Agriculture Handbook Number 66. Disponible en línea: <http://www.ba.ars.usda.gov/hb66/034avocado.pdf>

# DISTRIBUCIÓN DEL *Abies religiosa* (Kunth) Schltld. & Cham. BAJO ESCENARIOS DE CAMBIO CLIMÁTICO EN EL EJE NEOVOLCÁNICO, MÉXICO

## DISTRIBUTION OF *Abies religiosa* (Kunth) Schltld. & Cham. UNDER SCENARIOS OF CLIMATE CHANGE IN THE NEOVOLCANIC AXIS, MEXICO

Pérez-Miranda, R.<sup>1\*</sup>; Romero-Sánchez, M.E.<sup>1</sup>; González-Hernández, A.<sup>1</sup>; Pérez-Sosa, E.<sup>2</sup>; Flores-Ayala, E.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, Inifap. Av. Progreso #5, Colonia Barrio de Santa Catarina, Delegación Coyoacán, Ciudad de México, CP. 04010. <sup>2</sup>Facultad de Filosofía y Letras, Colegio de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México. <sup>3</sup>Centro Experimental Valle de México, INIFAP. Km.13.5 de la Carretera los Reyes-Texcoco, Coatlínchan, Texcoco, Estado de México, C.P. 56250.

\*Autor de correspondencia: perez.ramiro@inifap.gob.mx.

### RESUMEN

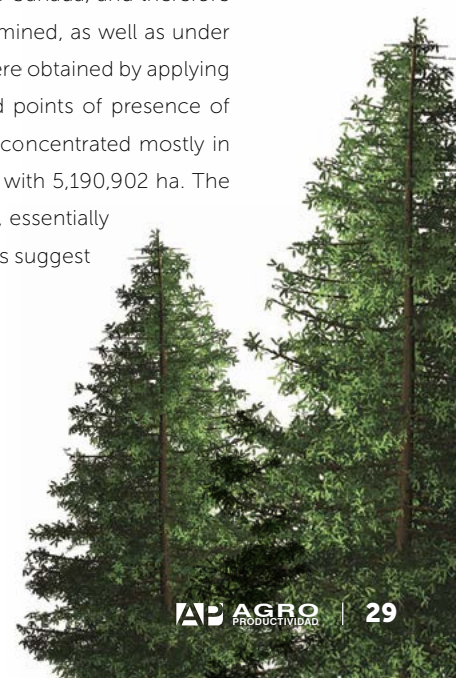
El oyamel (*Abies religiosa*) es una especie de clima templado de altas montañas, localizado en estados centrales de México. La especie sirve de alojamiento de la mariposa monarca, que proviene de Estados Unidos y Canadá, y por ello su importancia ecológica. Se determinó la distribución potencial actual y bajo escenarios de cambio climático (CC) de los bosques de oyamel en el Eje Neovolcánico Transversal. Los modelos de distribución se obtuvieron aplicando el algoritmo GARP en combinación con coberturas climáticas, topográficas, de vegetación, edafológicas y puntos de presencia de la especie. De acuerdo a los resultados, el área de distribución potencial actual del oyamel se concentra principalmente en los estados de México, Morelos, Michoacán, Querétaro, Ciudad de México y Puebla con 5,190,902 ha. La posible distribución bajo escenarios de CC RCP4.5 para el año 2039 sería de 8,060,023.10 ha, esencialmente en Hidalgo, Estado de México, Morelos, Michoacán, Querétaro y Ciudad de México. Los resultados sugieren un incremento potencial de la distribución de la especie en los escenarios actuales y con CC.

**Palabras clave:** oyamel, distribución potencial, modelado espacial, cambio climático.

### ABSTRACT

The sacred fir (*Abies religiosa*) is a species of high mountain temperate climate, found in the central states of México. The species serves as shelter for the monarch butterfly, which travels from the United States and Canada, and therefore has ecological importance. The current potential distribution of the sacred fir forests was determined, as well as under scenarios of climate change (CC), in the Transversal Neovolcanic Axis. The distribution models were obtained by applying the GARP algorithm in combination with climate, topographic, vegetation, soil coverages, and points of presence of the species. According to the results, the current potential distribution area of the sacred fir is concentrated mostly in the states of Estado de México, Morelos, Michoacán, Querétaro, Ciudad de México and Puebla with 5,190,902 ha. The possible distribution under scenarios of CC RCP4.5 for the year 2039 would be 8,060,023.10 ha, essentially in Hidalgo, Estado de México, Morelos, Michoacán, Querétaro and Ciudad de México. The results suggest a potential increase in the species distribution under the current scenarios and with CC.

**Keywords:** sacred fir, potential distribution, spatial modelling, climate change.





## INTRODUCCIÓN

El *A. religiosa* conocida como oyamel, es una especie forestal nativa de las altas montañas de México (2100 a 3500 m) (Conafor, 2014; Farjon, 2013), y crece en suelos de buen drenaje de origen volcánico. Predomina en climas frescos, con precipitaciones media anual mayores a 1000 mm. En elevaciones altas se encuentra en masas puras, pero a veces se mezclan con *Pinus montezumae*, *P. hartwegii*, *Pseudotsuga menziesii* var. *glauca*; en elevaciones bajas con *Quercus* spp., *Alnus acuminata*, *Prunus serotina*, y *Arbutus* spp. (Farjon, 2013). La distribución geográfica de los oyametales es dispersa y localizada. En la mayor parte de los casos la comunidad se presenta en forma de manchones aislados. Los bosques de oyamel se ubican en áreas confinadas en laderas de cerros, por lo regular protegidas de vientos fuertes e insolación intensa. Se hallan en microclimas especiales formadas por cañadas o barrancas más o menos profundas (Rzedowski, 2006). Los bosques de mayor extensión se presentan en el Eje Neovolcánico Transversal, en la Sierra Madre del Sur, y en pequeñas regiones de la Sierra Madre Occidental y escasamente en la Sierra Madre Oriental (Rzedowski, 2006). Ecológicamente, es una especie de gran importancia ya que sirve como árbol de hibernación anual (en la zona centro de México) de la mariposa monarca (*Danaus plexippus*). De acuerdo con la Lista Roja de Especies Amenazadas, se ubica en la categoriza como Preocupación Menor

debido a que aún es una especie extendida y abundante; no obstante, ha tenido una disminución continua de individuos maduros y una población severamente fragmentada (Farjon, 2013). Los trabajos de modelación de la distribución del *A. religiosa* con escenarios de cambio climático como de Gómez *et al.* (2008), Sáenz *et al.* (2012), Pérez *et al.* (2014) Martínez *et al.* (2016) indicando una reducción en su superficie. Con base en lo anterior, se realizó el estudio para conocer la distribución espacial actual del bosque de *Abies religiosa* en el Eje Neovolcánico Transversal y con los nuevos escenarios de cambio climático RCP4.5 aplicados para México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La provincia fisiográfica Eje Neovolcánico (ENV) comprende porciones de los estados de Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guanajuato Querétaro, México, Hidalgo, Distrito Federal, Morelos, Tlaxcala, Puebla, Veracruz y pequeñas fracciones de Colima, Aguascalientes, Guerrero, Oaxaca y Zacatecas, México (Figura 1), sus coordenadas extremas de 21° 22' 12" L. N, 18° 23' 24" S, 96° 22' 12" E, y 105° 45' 00" L. O. (Gómez *et al.*, 2005).

En el sistema montañoso del ENV destacan elevaciones como el Citlaltépetl, Cofre de Perote, Iztaccíhuatl, Popocatepetl, Telapón, Tláloc, Xinantécatl, Nevado de Coliman (Yarza, 2003). Los climas que predominan son las variantes de los semicálidos ((A)C), templado subhúmedo C(w), semiárido (BS<sub>0</sub>), templado (C), semifrío (Cb) y frío (E(T)) (García y CONABIO, 1998). La vegetación dominante son la selva baja caducifolia, bosque de pino, bosque de encino, bosque mixto, bosque de oyamel, bosque mesófilo de montaña, táscate, matorral cracicaule, chaparral, mezquital xerófilo, matorral submontano, matorral desértico rose-tófilo, pastizal natural y manglar (INEGI, 2013). Los ríos más importantes están el Lerma, Tula, Necaxa, Armería, Aguascalientes, Tilostoc, Jama-

pa, Verde, Moctezuma,



Figura 1. Localización del Provincia Fisiográfica Eje Neovolcánico Transversal.

Zitácuaro y Cazones (Maderey y Torres, 1990). El bosque de oyamel se encuentra básicamente en el Estado de México, Ciudad de México, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Puebla, Tlaxcala y Veracruz, que en su conjunto suman 124,323.23 ha (INEGI, 2013).

### Generación de variables ecológicas digitales

Se emplearon coberturas topográficas (altura, exposición y pendientes), climáticas (precipitación promedio anual y temperatura media anual), edáfica (pH). Las topográficas se generaron a partir del Continuo Elevación Mexicano 3.0 (CEM) (INEGI, 2014); las climáticas se bajaron del Atlas Climático Digital de México, se usaron interpolaciones por el método inversa a la distancia (Fernández *et al.*, 2016); la edáfica se obtuvo a partir del Conjunto de Datos de Perfiles de Suelos Serie II (INEGI, 2010) y se aplicó interpolación por el método Kriging. El escenario RCP 4.5 de cambio climático usado es de la "Actualización de Escenarios de Cambio Climático para México como parte de los productos de la Quinta Comunicación Nacional", para el horizonte 2039 (Cavazos *et al.*, 2013). Los datos espaciales del escenario se interpolaron por el método de Inversa a la Distancia. Todas las operaciones de coberturas, transformaciones e interpolaciones se llevaron a cabo en el sistema de información geográfica (SIG) ArcGis 10.2.1™; las resoluciones de salida de las coberturas de salida fueron de 100 m. (ESRI, 2016). Se usó el sistema de coordenadas geográficas y datum WGS84.

### Distribución potencial del oyamel mediante el algoritmo GARP

La cobertura de las variables ambientales: climática (actual y con escenarios RCP4.5), topográficas y edáficas, así como una capa de 199 puntos geo referenciados de presencia de *Abies religiosa* de la región bajo estudio, se cargaron en el programa GARP (Programa algoritmo genético basado en reglas). Se hicieron pruebas de los modelos con todas las variables; ejecutando los modelos con diferentes valores de los parámetros de acuerdo a Soberon (2011).

Se consiguió los modelos mejor ajustados utilizando un límite de convergencia de 0.001 y con un valor máximo de iteraciones de 3000. Se mantuvieron las 100 corridas para generar los modelos y se dejó que el programa utilizara los cuatro tipos de reglas. Se empleó la herramienta "Best Subset" para encontrar los mejores modelos con una baja omisión (Soberon, 2011). Los mejores modelos se multiplicaron para obtener un mapa que mostró la presencia/ausencia de la especie.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Distribución potencial de oyamel con escenario actual

Las condiciones ambientales que permitirían la distribución de la especie se encuentran en su mayoría en los estados de México, Morelos, Michoacán, Querétaro, Distrito Federal, Puebla, Hidalgo y Tlaxcala y en menor medida en algunas zonas de Veracruz, Jalisco y Colima. Las áreas con presencia del oyamel bajo este escenario coinciden con las zonas de bosque de oyamel en la región, aunque las áreas con las condiciones óptimas sobrepasan los lugares donde se encuentra la especie (Figura 2).

La Figura 2 muestra el área actual donde la especie se presenta de manera natural (color rojo) que coincide con los resultados obtenidos por el modelo generado en GARP (color verde). A ello le denominan el área de "Movilidad" de los tres factores que intervienen en la dis-

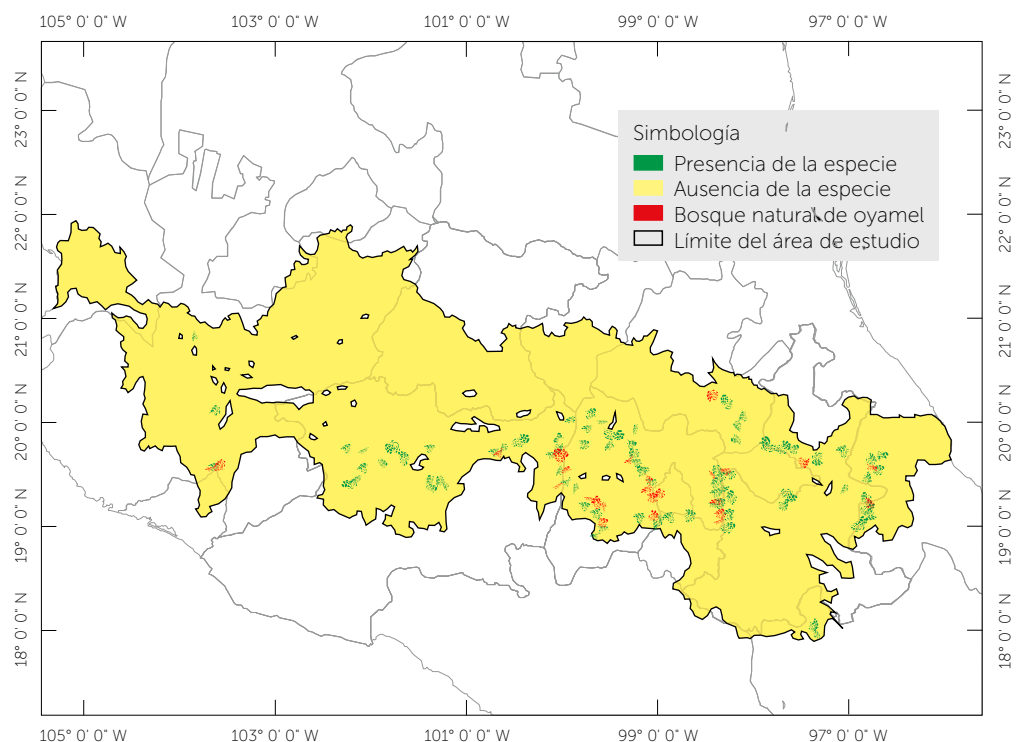


Figura 2. Distribución potencial actual de presencia de *A. religiosa* en el ENT.

tribución de una especie: Biótico, Abiótico y Movilidad (BAM; Soberón y Peterson (2005). Es decir, son lugares con ambientes adecuados para que la especie esté presente, pero se restringe por factores abióticos como el uso del suelo y otros bióticos. De acuerdo al modelo, la superficie con condiciones de presencia de la especie prospere es de 5,190,902 ha (Cuadro 1), de las cuales destacan los estados de México, Morelos, Michoacán, Querétaro, Ciudad de México y Puebla.

**Distribución potencial de oyamel con escenario RCP4.5**

Bajo el escenario de cambio climático RCP4.5 en el año 2039 las entidades con mayor superficie donde se pueden encontrar las condiciones óptimas para *Abies religiosa* son los estados de Hidalgo, México, Morelos, Michoacán, Querétaro, Distrito Federal, Puebla, Tlaxcala y Veracruz y en menor superficie las entidades de Oaxaca, Jalisco, Aguascalientes, Guanajuato, Guerrero y Colima (Figura 3).

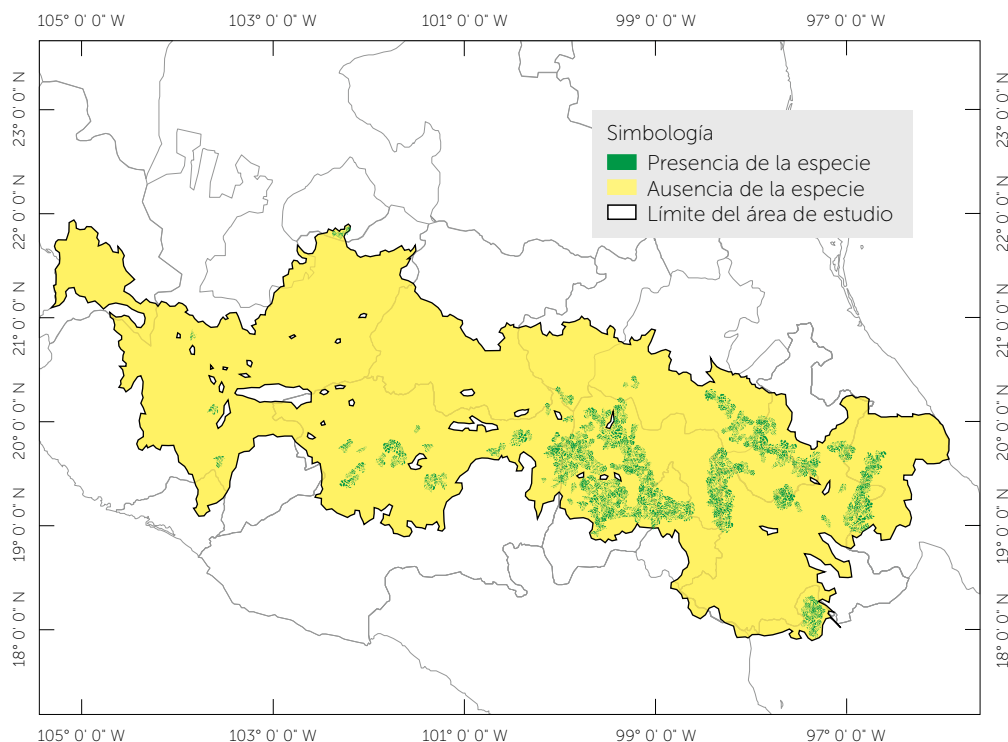
La superficie total donde la especie estaría presente son 8,060,023.10 ha (Cuadro 2).

**Cuadro 1.** Superficie de distribución potencial actual de *Abies religiosa* en el EVT.

Entidad	Escenario Actual (ha)	%	Entidad	Escenario Actual (ha)	%
Colima	12,183.20	0.23	Morelos	813,880.00	15.68
Ciudad de México	637,708.90	12.29	Puebla	545,379.50	10.51
Hidalgo	360,900.90	6.95	Querétaro	638,936.40	12.31
Jalisco	17,307.70	0.33	Tlaxcala	358,528.80	6.91
Estado de México	857,695.10	16.52	Veracruz	171,911.30	3.31
Michoacán	776,470.70	14.96	Total	5,190,902.50	100.00

La superficie de distribución aumentaría considerablemente en todas las entidades bajo estudio, habiendo mayor notoriedad en los estados de Hidalgo, México, Morelos, Michoacán, Querétaro y Ciudad de México. Los estados con baja presencia son en las entidades de Nayarit, Zacatecas, Guerrero, Colima, Guanajuato y Aguascalientes. Los resultados de la distribución potencial bajo escenarios de cambio climático obtenidos coinciden con los de Sáenz *et al.* (2012), ya que la presencia del oyamel con el escenario RCP4.5 tiende a distribuirse hacia las partes altas. Estos autores encontraron en sus modelos que habrá un desplazamiento del *A. religiosa*; de acuerdo al gradiente térmico, alrededor de 0.5 °C cada 100 m de altitud. Situación que ya está sucediendo con otras especies reportadas por Lenoir *et al.* (2008), Parolo y Rossi (2008) y Telwala *et al.* (2013). Los resulta-

dos de distribución espacial generadas en este trabajo, demuestran que la especie efectivamente contará con mayor superficie de extensión, incluyendo zonas de mayor altitud en el ENT y en donde no está presente actualmente, lo cual coincide el modelado de nicho ecológico (Soberón y Peterson (2005), sin embargo, hace falta incluir más variables en el modelo que influyen en el desarrollo natural del oyamel. El área de presencia del oyamel coincide con el espacio que ocupa actualmente, presentándose en general en los lugares de mayor altitud, esto confirma que los modelos generados tuvieron un funcionamiento



**Figura 3.** Distribución de la presencia de *A. religiosa* con escenario de cambio climático RCP4.5 año 2039.



**Cuadro 2.** Superficie de distribución potencial de *Abies religiosa* bajo escenario de cambio climático RCP4.5 horizonte 2039 en el ENT.

Entidad	Escenario RCP4.5 (ha)	%	Entidad	Escenario RCP4.5 (ha)	%
Aguascalientes	23,503.40	0.29	Michoacán	1,058,313.50	13.13
Colima	12,522.80	0.16	Morelos	1,090,639.80	13.53
Ciudad de México	869,629.30	10.79	Oaxaca	71,261.90	0.88
Guanajuato	17,828.70	0.22	Puebla	795,469.80	9.87
Guerrero	14,188.50	0.18	Querétaro	889,755.80	11.04
Hidalgo	1,347,703.90	16.72	Tlaxcala	513,454.80	6.37
Jalisco	48,894.10	0.61	Veracruz	183,133.60	2.27
Estado de México	1,123,723.20	13.94	Total	8,060,023.10	100.00

adecuado, ya que se sabe que la especie está presente en los espacios que generaron los modelos del algoritmo GARP. Los resultados indican que la distribución potencial actual del *Abies religiosa* en el ENV es una superficie mayor que la que existe de manera natural. Todo indica que las variables empleadas para generar el modelo prometen mayor territorio para el establecimiento del oyamel, sin embargo, se tiene que generar información cartográfica de escala menor para poder representar la realidad de manera regional actual, y posteriormente bajo escenarios de cambio climático. Ante el cambio de distribución potencial del oyamel a nuevos sitios en un corto tiempo, Sáenz *et al.* (2012) propone realizar una "migración asistida" o "colonización asistida" hacia altitudes mayores; no obstante, implica riesgos de tipo climático, tales como afectaciones de heladas a las plantas, el relieve y calidad de los suelos, entre otros factores. Por lo anterior, merece especial atención las posibles medidas de mitigación y adaptación forestal ante las modificaciones condiciones climáticas. Otro aspecto importante en la distribución actual y futura de *A. religiosa* es justamente su relación con la mariposa monarca, siendo la Reserva de la Biósfera Mariposa Monarca donde ocurre la hibernación invernal de ésta. Si el desplazamiento de *A. religiosa* por efecto del cambio climático es inminente, la respuesta de las mariposas será probablemente benéfico según Sáenz *et al.* (2012) sólo si en el nuevo hábitat se adaptan los árboles. El desarrollo y uso de los modelos predictivos de distribución de especies ha ido en aumento, ya que es la herramienta disponible que permite estimar lo que se puede encontrar en la realidad (Martínez *et al.*, 2004). El desempeño del algoritmo GARP en distintos estudios ha sido catalogado como aceptable por lo que se ha convertido en uno de los modelos más utilizados para el modelado de distribución de especies. No obstante, se tiene que tener

presente que se trata de un modelo, puesto que los resultados pueden ser preliminares en función a la calidad y resolución cartográfica, datos geográficos de presencia, y optimización de los parámetros en el programa GARP. Así como el conocimiento previo de la especie y de los factores que influyen en su distribución son importantes en la intervención del modelo predictivo del nicho ecológico de la especie.

## CONCLUSIONES

**Actualmente** existe un mayor potencial de distribución actual del oyamel en los estados de Colima, Ciudad de México, Hidalgo, Jalisco, México, Michoacán, Morelos, Puebla, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz, superior a la existente de bosques naturales. De acuerdo a las condiciones climáticas futuras, en el escenario de CC RCP4.5 para el horizonte 2039, se aumenta el potencial hasta 64.40% más que el actual, localizándose en los mismos estados mencionados, adicionalmente en Aguascalientes, Guanajuato, Guerrero y Oaxaca.

## LITERATURA CITADA

- Cavazos T., Salinas J. A., Martínez B., Colorado G., Grau P., Prieto G. R., Conde Á. A. C., Quintanar I. A., Santana S. J. S., Romero C. R., Maya M. M. E., Rosario C. J. G., Ayala E. M. R., Carrillo T. H., Santiesteban O., Bravo M. E. 2013. Actualización de escenarios de cambio climático para México como parte de los productos de la Quinta Comunicación Nacional. Informe Final del Proyecto al INECC, 150 p.
- CONAFOR. 2014. *Abies religiosa* (Kunth Schltld. et Cham.), Reforestación-Fichas técnicas. En línea: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/873%20Abies%20religiosa.pdf>. Consultado en: marzo de 2016.
- ESRI. 2016. ArcGIS Desktop. En línea: <http://www.esri.com/software/arcgis/arcgis-for-desktop>. Consultado en: enero de 2016.
- García E., y CONABIO. 1998. Climas (Clasificación de Köppen, modificado por García). Cobertura digital escala 1:1 000 000. México. En línea: <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/> Consultado en: marzo de 2016.
- Farjon A. 2013. *Abies religiosa*. The IUCN Red List of Threatened Species. En línea: <http://www.iucnredlist.org/details/39592/0>. Consultado en línea: marzo de 2016.
- Fernández E. A., Zavala H. J., Romero C. R. 2016. Atlas Climático Digital de México. Centro de Ciencias de la Atmósfera. Universidad Nacional Autónoma de México. En línea: <http://uniatmos.atmosfera.unam.mx/>. Consultado en: marzo de 2016.

- Gómez T. A., Orozco E. M. T., Ferrari L. 2005. Petrogénesis ígnea de la faja volcánica transmexicana. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana* 2 (3): 227-285.
- Gómez D. J. D., Monterroso R. A. I., Tinoco R. J. A., Toledo M. M. L. 2008. Impactos del cambio climático en el sector forestal a nivel país. En línea: [http://www.inecc.gob.mx/descargas/cclimatico/2008\\_ecc\\_inf\\_forestal.pdf](http://www.inecc.gob.mx/descargas/cclimatico/2008_ecc_inf_forestal.pdf). Consultado en línea: mayo de 2016.
- INEGI. 2010. Conjunto de Datos de Perfiles de Suelos, escala 1:250,000. Serie II (Continuo Nacional). En línea: [http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/reclnat/edafolegia/vectorial\\_serieii.aspx](http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/reclnat/edafolegia/vectorial_serieii.aspx). Consultado en: marzo de 2016.
- INEGI. 2013. Conjunto de datos vectoriales de uso del suelo y vegetación escala 1:250 000, Serie V (Capa Unión). En línea: <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/reclnat/ususuelo/> Consultado en: enero de 2016.
- INEGI. 2014. Continúo de Elevaciones Mexicano 3.0. En línea: <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/datosrelieve/continental/Descarga.aspx>. Consultado en: enero de 2016.
- Lenoir J., Gegout J. C., Marquet P. A., de Ruffray P., Brisse H. 2008. A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. *Science* 320:1768-1771.
- Maderey R. L. E., Torres R. C. 1990. Hidrografía. Extraído de Hidrografía e hidrometría, IV.6.1 (A). Atlas Nacional de México. Vol. II. Escala 1: 4000000. Instituto de Geografía, UNAM. México. En línea: <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/>. Consultado en: marzo de 2016.
- Martínez M. N., Aguirre P. E., Eguiarte L. E., Jaramillo C. J. P. 2016. Modelado de nicho ecológico de las especies del género *Abies* (Pinaceae) en México: Algunas implicaciones taxonómicas y para la conservación. *Botanical Sciences* 94(1): 5-24.
- Martínez M. E., Peterson A. T., Hargrove W. W. 2004. Ecological niches as stable distributional constraints on mammal species, with implications for Pleistocene extinctions and climate change projections for biodiversity. *Global Ecology and Biogeography* 13:305-314.
- Pérez M. R., Moreno S. F., González H. A., Arriola P. V. J. 2014. Distribución de *Abies religiosa* (Kunth) Schlttdl. et. Cham. y *Pinus montezumae* Lamb. ante el cambio climático. *Revista mexicana de ciencias forestales* 5(25):18-33.
- Parolo G., Rossi G. 2008. Upward migration of vascular plants following a climate warming trend in Alps. *Basic and Applied Ecology* 9:100-107.
- Rzedowski J. 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. En línea: [http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx\\_Cont.pdf](http://www.biodiversidad.gob.mx/publicaciones/librosDig/pdf/VegetacionMx_Cont.pdf). Consultado en: marzo de 2016.
- Sáenz R. C., Rehfeldt G. E., Duval P., Lindig R. A. 2012. *Abies religiosa* habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology and Management* 275:98-106.
- Soberón J., Peterson A. T. 2005. Interpretation of models of fundamental ecological niches and species' distributional areas. *Biodiversity Informatics* 2: 1-10.
- Soberón J. 2011. Nichos y áreas de distribución. En línea: <http://nicho.conabio.gob.mx/la-calibracion-del-modelo/garp>. Consultado en: marzo de 2016.
- Telwala Y., Brook B. W., Manish K., Pandit M. K. 2013 Climate-induced elevational range shifts and increase in plant species richness in a Himalayan biodiversity epicenter. *PLoS ONE* 8(2) e57103. e57103. doi:10.1371/journal.pone.0057103
- Yarza de T. E. 2003. Los volcanes del Sistema Volcánico Transversal. *Investigaciones Geográficas* 50:221-234.



# CARACTERIZACIÓN DE ZONAS AFECTADAS POR EL AGENTE CAUSAL DE LA CAIDA FOLIAR DE PINO EN PUEBLA, MÉXICO

## CHARACTERIZATION OF ZONES AFFECTED BY THE CAUSAL AGENT OF PINE LITTER FALL IN PUEBLA, MEXICO

Pichardo-Segura, L.A.<sup>1</sup>; Pérez-Miranda, R.<sup>1\*</sup>; Ramírez-Huerta, L.<sup>1</sup>; Arriola-Padilla, V.J.<sup>1</sup>; Ramírez-García, A.G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Ave. Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina, Coyoacán, Cd. de México. C. P.: 04010. <sup>2</sup>Centro Regional Universitario del Noroeste, Universidad Autónoma Chapingo. Calle Colima 163 Norte, Ciudad Obregón, Sonora, México. C.P. 85000.

\*Autor de correspondencia: perez.ramiro@inifap.gob.mx

### RESUMEN

Puebla es un estado biodiverso ubicado en la parte central de México, se caracteriza por tener una amplia heterogeneidad de altitudes con extensa diversidad de climas y tipos de vegetación, predominando los bosques de coníferas y encino. Durante 2011 se detectaron defoliaciones en diferentes especies de pino en la región de la Sierra Norte de Puebla, por lo que se determinaron las características que presentan los sitios afectados por la caída foliar del pino con la finalidad de contribuir a la toma de decisiones en los planes de manejo. Asimismo, se caracterizaron las condiciones climáticas de los sitios afectados del 2011 al 2014, determinando que los sitios con exposición al sur, con pendientes de entre 24% y 87%, distribución altitudinal entre 1969 y 2835 m fueron los de mayor afectación, registrando a *Pinus pseudostrabus* con la de mayor caída de hojas.

**Palabras clave:** bosque templado, coníferas, defoliación, *Lophodermium* spp.

### ABSTRACT

Puebla is a biodiverse state located in the central part of México, characterized by having broad heterogeneity of altitudes with extensive diversity in climates and types of vegetation, with predominance of conifer and red oak forests. During 2011, defoliations were detected in different pine species in the Sierra Norte region of Puebla, so that the characteristics presented by the sites affected by the pine litter fall were defined with the purpose of contributing to decision making in management plans. Likewise, the climate conditions of the sites affected from 2011 to 2014 were characterized, finding that the sites facing south, with slopes of between 24 % and 87 %, altitudinal distribution between 1969 and 2835 m, were the ones with greatest affectation, finding *Pinus pseudostrabus* as the species with highest litter fall.

**Keywords:** temperate forest, conifers, defoliation, *Lophodermium* spp.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto. 2017. pp: 35-41.

**Recibido:** agosto, 2016. **Aceptado:** abril, 2017.





## INTRODUCCIÓN

# En Puebla

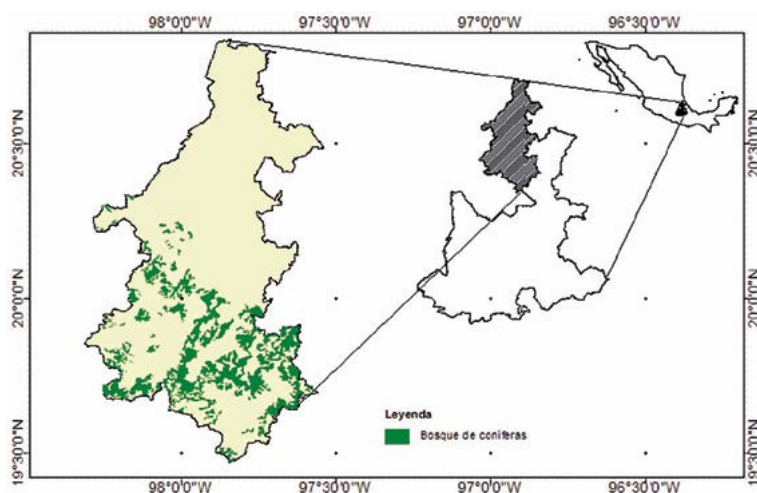
los bosques de pinos presentan daños debido a una gran variedad de factores bióticos, abióticos y antrópicos (Cibrián *et al.*, 2007; Conabio, 2011; Ruiz *et al.*, 1998). El principal problema biótico es el ataque por escarabajos descortezadores que son capaces de matar incluso árboles sanos (Cibrián *et al.*, 1995), seguido de las plantas parásitas, de las cuales las especies de mayor importancia son: *Arceuthobium globosum* Hawksw & Wiens subsp. *grandicaule*, *A. nigrum* Hawksw & Wiens y *A. vaginatum* (Willd) Presl. subsp. *vaginatum* (Cibrián, 2011; Hernández *et al.*, 1992). De acuerdo con Conafor, 2015, los hongos de los géneros *Lophodermium* spp., *Dothistroma* spp. y *Botryosphaeria* spp. son los causantes principales de la caída foliar del pino y su distribución abarca 18 municipios del estado de Puebla, México. A partir del año 2011 se empezó a manifestar un factor que originaba la caída foliar en los bosques de pino en la parte norte de estado en los municipios de Zautla y Xochiapulco. En el 2014 a la fecha se observaron fuertes defoliaciones sobre *Pinus patula*, *P. pseudostrobus*, *P. oaxacana*, *P. teocote*, *P. leiophylla* y *P. montezumae* y en menor grado *P. greggii* y *P. ayacahuite* en aproximadamente 14 municipios entre los que destacan: Zacatlán, Tetela de Ocampo, Aquixtla, Zautla, Xochiapulco y Zacapoaxtla pertenecientes al estado de Puebla (Carrillo com. pers.<sup>3</sup>). Durante 2015 se detectaron alrededor de 3,000 ha, por lo que se estima que de no atender este problema podría extenderse a diferentes estados de la república mexicana. De acuerdo con los signos y síntomas observados durante diversos recorridos se ha determinado la presencia de micromicetos del género *Lophodermium* sp. (Rhytismatales: Rhytismataceae), *Pestalotiopsis* spp. (Melaconiales: Melaconiaceae), y *Coleosporium* sp. (Uredinales: Coleosporiaceae) (Arriola *et al.*, 2015) e insectos del género *Ocoaxo*

sp. (Hemiptera: Cercopidae) (Cibrián com. pers.4). La evolución de la enfermedad que presentan los árboles de coníferas infectados inician con la presencia de manchas cloróticas en las agujas, en estado avanzado el color de las hojas se vuelve café-rojizo con pequeñas manchas de color negro y en estado avanzado del daño el pino sufre defoliación en diferentes niveles (Conafor, 2015). Por lo anterior, se realizó la caracterización física, dasométrica y climática de las áreas afectadas por el secamiento de las acículas y caída foliar de pino en la Región de la Sierra Norte de Puebla, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó el estudio en la Sierra Norte de Puebla (19° 30' 00" a 20° 20' 00" L. N. y 97° 32' 00" a 98° 20' 00" L. O.) (Figura 1). La topografía varía de 200 a 3400 m (Conabio, 1998). El clima predominante en la parte alta son los templados: C<sub>(w1)</sub>, C<sub>(w2)</sub>, C(m)(f), C<sub>(w0)</sub>, y en la parte baja semi cálidos: C(f), A(f), Am(f) (García-Conabio, 1998). Las precipitaciones varían desde 500 mm en la parte altas hasta 1500 mm en las bajas, predominando en promedio 700 mm (Conabio, 2015). En la región se originan los ríos tributarios del Tecolutla, Cazonos y Tuxpan (Maderey *et al.*, 1990). Los suelos que se desarrollan son Luvisoles, Litosol, Feozems, Andosoles, Cambisoles, Regosoles, Nitosoles (Inifap-Conabio, 1995). El tipo de vegetación que se desarrolla son los bosques de tipo templado: pino (*Pinus* spp.), encino (*Quercus* spp.), mixto, táscate (*Juniperus* spp.), mesófilo de montaña, principalmente (INEGI, 2013).

Durante noviembre y diciembre de 2015 se realizaron recorridos en zonas afectadas para localizar los pinares con señales visibles de secamiento y caída foliar. Se eligieron cinco rodales al azar distribuidos en diferentes municipios; en cada uno se trazó una circunferencia con un radio



**Figura 1.** Localización del área de estudio: Región Sierra Norte de Puebla, México.

<sup>3</sup> Juan Carlos Carrillo Fonseca. Analista técnico de sanidad. Gerencia Estatal de Puebla.

<sup>4</sup> Dr. David Cibrián Tovar. Profesor-Investigador en Fitosanidad de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo.

de 11.28 m (400 m<sup>2</sup> de superficie) para delimitar los sitios de monitoreo. Posteriormente, se marcaron dos sitios adicionales sobre un transecto con rumbo fijo variable y con una distancia de 100 m entre sí a partir del centro (Figura 2 y Cuadro 1). Se realizó el levantamiento ecológico y dasométrico de cada sitio, donde se registraron los siguientes datos: coordenadas geográficas, tipo de vegetación, pendiente, exposición, altitud y estado fitosanitario del arbolado; diámetro a la altura del pecho (DAP) y altura.

### Caracterización Climática

Se utilizaron bases de datos de 2011 a 2014 de estaciones meteorológicas automatizadas cercanas al área de estudio, de los estados de Hidalgo, Puebla, Tlaxcala y Veracruz, proporcionadas por el Sistema Meteorológico Nacional y la Comisión Nacional del Agua. Posteriormente se depuraron y analizaron para procesarlas en valores de temperatura promedio, máxima y mínima, precipitación acumulada y humedad relativa promedio, a nivel anual. Los valores se procesaron en el software ArcMap 10.3<sup>TM</sup> con el sistema de coordenadas UTM y Datum WGS84; y con ello se efectuó la interpolación de los datos en formato raster. El método de interpolación utilizado fue el IDW recomendado por Kravchenko (2003) para bases de datos pequeñas en donde los parámetros del variograma no son conocidos, cuando la distancia de muestreo es muy grande e incluso para cuando la distancia de muestreo es mayor al rango de correlación espacial.



**Figura 2.** Ejemplo de transecto del muestreo del área afectada por el secamiento de las acículas y caída foliar de pino en Ayocuantla en Aquixtla, Puebla, México.

### Extracción de valores climáticas

Los valores climáticos del área de estudio se extrajeron con el módulo Extract by mask del SIG ArcMap 10.3<sup>TM</sup>. El polígono empleado se generó del buffer de 150 m del transecto de muestreo (200 m) de cada sitio.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El bosque de pino-encino (*Pinus* spp. y *Quercus* spp.) predominó, ya que este tipo de vegetación estuvo presente en las cinco áreas afectadas por el agente causal

de la caída foliar del pino. La exposición predominante fue la sur. En San Miguel Tenango, municipio de Zacatlán, la topografía es muy abrupta, presenta declives de 48% a 85% con una variación altitudinal entre 1923 y 1969 m. En dos sitios dominó el bosque de pino y en el tercero el de pino-encino. La exposición de las áreas experimentales fue sur. En Rancho Alegre, municipio de Tetela de Ocampo, se registró asociaciones de pino-encino-*Alnus* spp.-madroño (*Arbutus* sp.) en una parcela, y en las restantes solo pino-encino. La altitud varía de los 2160 a 2328 m. La pendiente fue de 65.90%

a 79% y con exposición sur. En Ayocuantla, municipio de Aquixtla, el tipo de vegetación observada fue de encino-pino en dos sitios en los cuales la exposición fue suroeste, y en el tercero, dominó el pino-encino con exposición sur. La pendiente varía de 36.1% a 65% y la topografía tuvo un rango de 2380 a 2445 m. En Almeya, municipio de Ixtacamaxtitlán la exposición se presentó hacia el sur y el oeste con una pendiente de 24.5% y 33%.

**Cuadro 1.** Ubicación de los sitios de estudio en el estado de Puebla, México.

Rodal	Localidad	Municipio	Latitud	Longitud
1	San Miguel Tenango	Zacatlán	19° 54' 11.3160"	97° 55' 51.6720"
2	Rancho Alegre	Tetela de Ocampo	19° 50' 32.2560"	97° 51' 29.2440"
3	Ayocuantla	Aquixtla	19° 46' 07.3560"	97° 52' 38.6640"
4	Almeya	Ixtacamaxtitlán	19° 42' 53.0400"	97° 52' 37.3380"
5	Buenavista	Zautla	19° 44' 00.2584"	97° 44' 22.1219"



**Cuadro 2.** Características físicas de las áreas evaluadas en Puebla, México.

Sitio	Localidad	Municipio	Pendiente (%)	Tipo de Vegetación	Altitud (m)	Exposición
1	San Miguel Tenango	Zacatlán	60.30	Pino	1969	Sur
1.2	San Miguel Tenango	Zacatlán	48.20	Pino-Encino	1966	Sur
1.3	San Miguel Tenango	Zacatlán	87.00	Pino	1923	Sur
2	Rancho Alegre	Tetela de Ocampo	65.90	Pino-Encino	2328	Sur
2.2	Rancho Alegre	Ocampo Tetela	79.00	Pino-Encino	2210	Sur
2.2	Rancho Alegre	Ocampo Tetela	79.00	Pino-Encino	2110	Sur
2.3	Rancho Alegre	Tetela de	77.00	Pino-Encino-Alnus- Madroño	2160	Sur
3	Ayocuantla	Aquixtla	36.10	Pino-Encino	2445	Oeste
3.2	Ayocuantla	Aquixtla	40.00	Encino-Pino	2397	Suroeste
3.3	Ayocuantla	Aquixtla	65.00	Encino-Pino	2380	Suroeste
4	Almeya	Ixtacamaxitlán	24.50	Pino	2835	Oeste
4.2	Almeya	Ixtacamaxitlán	33.00	Pino-Enebro	2796	Oeste
4.3	Almeya	Ixtacamaxitlán	33.00	Pino-Enebro-Encino	2782	Sur
5	Buenavista	Zautla	72.00	Pino	2457	Oeste
5.2	Buenavista	Zautla	60.00	Pino- Encino	2405	Norte

La altitud oscilo entre 2782 a 2835 m, y la vegetación que se presentó en los sitios fue la de pino enebro-encino, pino y pino-enebro (*Juniperus spp.*). En Buenavista que pertenece al municipio de Zautla, solo se realizó el levantamiento de dos sitios experimentales debido a que en el tercero no contó con árboles de pino. Las altitudes de las parcelas consideradas fueron de 2405 y 2457 m, con pendientes de 60% y 72% y el tipo de vegetación de las zonas fue pino-encino y pino con una exposición norte y oeste, respectivamente.

La especie de coníferas más abundante fue *Pinus pseudostrabus* Lindl. (Cuadro 3), y el rango altitudinal osciló entre 1923 y 2796 m, y el de la pendiente entre 24.50% y 87% de inclinación. En cuanto a la exposición, la más común se presentó hacia el Sur.

De los 253 pinos evaluados en el estudio, algunos alcanzan alturas de alrededor de 35 m, y el grado de infestación por el agente causal, fue: para Zacatlán y Tetela de Ocampo del 100 %; en Aquixtla e Ixtacamaxitlán de aproximadamente el 50 % y en Zautla del 12.24 %, y en

la mayoría de los árboles dañados se presentó del 50 % hasta el 100 % de amarillamiento del follaje. La densidad nos indica que en la localidad de Almeya es la que menos individuos por ha tuvo en comparación con la de Buenavista (Cuadro 4).

### Caracterización climática

#### Precipitación

Se registró un aumento en la precipitación durante el periodo evaluado en los sitios monitoreados (Cuadro 5). Los valores varían hasta un poco más de 800 mm anuales. Los sitios con menos lluvia observados en los diferentes años se presentaron en el siguiente orden: en el 2011 fue en San Miguel Tenango, en 2012 Buena vista, en 2013 San Miguel Tenango y en 2014 Almeya. Por el contrario, con mayor precipitación fueron, en el 2011 en Almeya, en 2012 San Miguel Tenango, en 2013 y 2014 Buenavista.

#### Temperatura máxima

Con respecto a la temperatura máxima, se observa que hubo variación en los cuatro años; no obstante,

**Cuadro 3.** Especies de *Pinus spp.*, identificados en los sitios de monitoreo.

Especie	Sitios													
	1	1.2	1.3	2	2.2	2.3	3	3.2	3.3	4	4.2	4.3	5	5.2
<i>P. greggii</i>				x			x							
<i>P. montezumae</i>					x									
<i>P. teocote</i>										x	x			
<i>P. pseudostrabus</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x



**Cuadro 4.** Área basal, densidad y afectación por agente causal de pinos por localidad

Localidad	Municipio	Afectación por agente causal (%)	Total de árboles	Densidad (Número de individuos ha <sup>-1</sup> )	Área basal superficie (m <sup>2</sup> )
San Miguel Tenango	Zacatlán	100.00	68	566.66	225.14
Rancho alegre	Tetela de Ocampo	100.00	53	441.66	253.21
Ayocuantla	Aquixtla	52.38	42	350.00	672.32
Almeya	Ixtacamaxitlán	51.22	41	341.66	919.43
Buenavista	Zautla	12.24	49	612.50	1501.88

**Cuadro 5.** Intervalos de precipitación anual en mm del periodo evaluado.

Localidad	2011	2012	2013	2014
San Miguel Tenango	429.0 - 432.2	411.5 - 412.1	476.8 - 479.3	1142.6 - 1147.9
Rancho Alegre	481.2 - 484.4	395.1 - 395.8	528.3 - 530.5	1184.0 - 1187.4
Ayocuantla	543.9 - 546.3	390.7 - 391.2	562.2 - 563.6	1117.1 - 1121.9
Almeya	597.4 - 600.4	364.2 - 364.6	592.2 - 593.7	1081.8 - 1086.1
Buenavista	578.2 - 581.3	310.2 - 310.7	593.1 - 594.8	1242.1 - 1247.8

la tendencia fue un incremento en el periodo evaluado (Cuadro 6), los valores variaron hasta un 1.0 °C. Los sitios con menos temperaturas máximas presentes observados en los diferentes años se registraron en el siguiente orden: en 2011 fue Almeya, en 2012 y 2013 Buenavista, y en 2014 Almeya. Por el contrario, con temperatura máximas mayores fueron, en 2011 en San Miguel Tenango, en 2012 Ayocuantla, en 2013 y 2014 San Miguel Tenango.

### Temperatura mínima

Las temperaturas mínimas en los sitios de monitoreo en su mayoría no presentaron intervalos en los cuatro años (Cuadro 7), sin embargo, en un panorama amplio se observaron cambios en aumento hasta de 1.8 °C. Los sitios con menos temperaturas mínimas presentes observados en los diferentes años fue el siguiente: en el 2011 y 2013 fue en San Miguel Tenango, en 2012 fue Buenavista, y en 2014

Ayocuantla. Por el contrario, con temperatura mínimas mayores fueron: en el 2011 en Almeya, en 2012 Ayocuantla, San Miguel Tenango y Rancho Alegre, en 2013 Almeya y 2014 San Miguel Tenango.

### Temperatura promedio

En relación a la temperatura promedio los sitios de monitoreo, al igual que la mínima, en su mayoría no presentaron intervalos en los cuatro años (Cuadro 8), en forma

**Cuadro 6.** Intervalos de temperatura máxima en centígrados del periodo evaluado.

Localidad	2011	2012	2013	2014
San Miguel Tenango	18.1	15.7	17.5	18.1
Rancho Alegre	17.8	15.7	17.2 - 17.3	17.9
Ayocuantla	17.4	15.8	17.1	17.4 - 17.5
Almeya	17.1	15.7	17	17.1
Buenavista	17.3	15.1	16.9	17.4 - 17.5

**Cuadro 7.** Intervalos de temperatura mínima en centígrados del periodo evaluado.

Localidad	2011	2012	2013	2014
San Miguel Tenango	9.2	9.9	9.3	11.0
Rancho Alegre	9.3	9.9	9.4 - 9.5	10.8 - 10.9
Ayocuantla	9.4	9.9	10.7	9.6
Almeya	9.5	9.7	9.8	10.7
Buenavista	9.4	9.4	9.5	10.6

general se observaron cambios en aumento hasta de 1.0 °C. Los sitios con menos temperaturas promedio presentes observados en los cuatro años se presentaron en el siguiente orden: en 2011 fue en Almeya, Buenavista y Ayocuantla, en 2012 y 2013 en Buenavista y en el 2014 Almeya. Por el contrario, con temperatura máxima promedio fue en el 2011 en San Miguel Tenango, en 2012 en Ayocuantla, San Miguel Tenango y Rancho Alegre, en 2013 en San Miguel Tenango y Rancho Alegre, y 2014 en San Miguel Tenango.

### Humedad relativa

La humedad relativa en los sitios de monitoreo, en forma general en los cuatro años, se observó con aumentos de hasta 12.6% (Cuadro 9). Los sitios con valores menores de humedad relativa observados en el periodo evaluado se registraron en el siguiente orden: en 2011 fue San Miguel Tenango, en 2012 y 2013 en Almeya, y en 2014 en San Miguel Tenango. Por el contrario, la humedad relativa máxima presente fue: en el 2011 y 2012 en

Rancho Alegre, en 2013 y 2014 en Buenavista.

De manera general, las variables climáticas observadas mostraron variaciones al alza de los valores de precipitación, temperaturas y humedad relativa desde el año 2011 hasta el 2014. Ello indica que los cambios de las variables climáticas se han modificado durante el periodo analizado, lo cual existe la posibilidad que el agente o agentes causales, que ocasiona la caída foliar en arboles de coníferas se halla visto favorecido por el aumento de los valores de la variables climáticas; como lo indica González (2004) quien apunta que la humedad relativa, precipitación y temperatura, fueron variables que influyeron en el desarrollo y crecimiento del hongo de desecamiento, que ocasiona la caída foliar.

En forma particular, un factor importante que incide en el desarrollo del agente o agentes causales es el microclima. Ello se observó en la localidad de San Miguel Tenango y

Rancho Alegre, lugares con árboles que presentaron 100% de afectación, el cual la exposición sur pudo ser un factor que favoreció el desarrollo o crecimiento. Lo anterior concuerda con Raven *et al.* (1992) y Azcárate y Sánchez (2013) que indican que en el hemisferio norte las vertientes sur y oeste de las montañas son más secas que el norte y es debido a que las laderas septentrionales no reciben luz directa. Contrario a las vertientes meridionales, donde la radiación favorece un ambiente con menor humedad, lo cual beneficia a patógenos de la flora, como lo que sucede específicamente en la región evaluada. Más aun en los meses de la temporada de no lluvia, cuando los pinos se exponen mayormente a las plagas y enfermedades porque se crean mejores condiciones de propagación de los agentes causales de la caída foliar del pino, debido al estrés hídrico del arbolado y viento como medio de dispersión.

### CONCLUSIONES

La afectación del pino se observó principalmente en

**Cuadro 8** Intervalos de temperatura promedio en centígrados del periodo evaluado.

Localidad	2011	2012	2013	2014
San Miguel Tenango	14.0	12.9	13.9	14.7
Rancho Alegre	13.9	12.9	13.8 - 13.9	14.5
Ayocuantla	13.7 - 13.8	12.9	13.8	14.2
Almeya	13.7	12.6	13.8	14.1
Buenavista	13.7	12.2	13.7	14.2

**Cuadro 9** Intervalos de humedad relativa anual en porcentaje del periodo evaluado.

Nombre del sitio	2011	2012	2013	2014
San Miguel Tenango	64.9	67.8	73.7 - 73.8	74.3 - 74.4
Rancho Alegre	65.9	67.9	74.3	75.4
Ayocuantla	65.2	67.2	73.2 - 73.3	74.8 - 74.9
Almeya	65.4 - 65.5	65.8 - 65.9	72.6 - 72.7	74.5 - 74.6
Buenavista	65.4	68.4	75.5 - 75.6	77.4 - 77.5

exposiciones sur a una altitud que oscila entre 1969 y 2782 m. Los valores de las variables climáticas observadas presentaron variaciones durante el periodo analizado, la precipitación, temperaturas y humedad relativa se incrementaron desde el año 2011 al 2014.

## AGRADECIMIENTOS

A la Comisión Nacional Forestal por el financiamiento del proyecto "Determinación, distribución y control del agente causal denominado Caída Foliar del Pino en Puebla" (Anexo 02/2015). Al Sistema Meteorológico Nacional y a la Comisión Nacional del Agua por las facilidades de proporcionar las bases de datos de las estaciones meteorológicas localizadas en la región bajo estudio.

## LITERATURA CONSULTADA

- Arriola P., V. J., A. R. Gijón H., R. Pérez M. y J. F. Reséndiz M. 2015. Determinación, distribución y control del agente causal denominado Caída Foliar del Pino en Puebla. Informe Final. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Comisión Nacional Forestal. Ciudad de México. 54 p.
- Azcárate-Luxán M. V., Sánchez J. S. 2013. Geografía de Europa. Editorial Universidad Nacional de Educación a Distancia. Madrid, España. 394 p.
- Cibrián T. D., Méndez M. J., T., Campos B. R., Tates I. H. O., Flores L. J. E. 1995. Insectos forestales de México/Forest Insects of Mexico. Chapingo, Universidad Autónoma de Chapingo/Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos/Subsecretaría Forestal y de Fauna Silvestre/ United States Department of Agriculture Forest Service. Chapingo, Estados de México, México. 453 p.
- Cibrián T. D., Alvarado R. D., García D. S. E. (Eds.) 2007. Enfermedades forestales en México/Forest diseases in Mexico. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de America del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, México. 587 p.
- Cibrián T. D. 2011. Insectos y patógenos que afectan a las áreas arboladas de Puebla. In: Amenazas a la biodiversidad. Yanes G. G. (Coord.). La Biodiversidad en Puebla: Estudio de Estado. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (Comp.). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), Gobierno del Estado de Puebla, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. pp: 285-309.
- CONABIO. 1998. Cobertura digital de curvas de nivel para la república mexicana. Escala 1:250000. Extraído del Modelo Digital del Terreno. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEG). México, D. F. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/> (febrero 2016).
- CONABIO. 2011. La Biodiversidad en Puebla: Estudio de Estado. México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Puebla, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla. 440 p.
- CONABIO. 2015. Cobertura digital de precipitación anual en México (1910-2009). Escala: 1:1000000. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/> (febrero 2016).
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2015. Enfermedad de caída Foliar de los pinos. Secretaría de Medio Ambiente Recursos Naturales. CONAFOR. Desplegable. Zapopan, Jalisco, México. 2 p.
- García E.-CONABIO. 1998. Climas (clasificación de Köppen, modificado por García). Escala 1:1000000. México. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/> (enero 2016).
- González S. M. L. 2004. Caracterización del complejo de patógenas causales del tizón de la acícula del pino en la finca Saquichai, Cobán, Alta Verapaz. Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos Guatemala, Guatemala. 42 p.
- Hernández C. L. V., Acosta-Pérez R., Galindo-Flores G. L. 1992. Los muérdagos enanos (*Arceuthobium* spp.) en bosques de pino del volcán La Malintzi, Estados de Tlaxcala y Puebla. Folleto Divulgativo No. 15. Jardín Botánico-Gobierno del Estado de Tlaxcala. Tlaxcala, México. 58 pp.
- INIFAP (Instituto Nacional de investigaciones Forestales y Agropecuarias)-CONABIO. 1995. Edafología. Escalas 1:250000 y 1:1000000. México. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/> (enero 2016).
- INEGI. 2013. Conjunto de datos vectoriales de uso del suelo y vegetación. Escala 1:250 000, Serie V (Capa Unión). Formato vectorial. Disponible en <http://www.inegi.org.mx/geo/contenidos/reclnat/usuarios/Default.aspx> (diciembre 2015).
- Kravchenko A. 2003. Influence of spatial structure on accuracy of interpolation methods. Soil Science Society of American Journal 67:1564-1571.
- Maderey R L. E., Torres-Ruata C. 1990. Hidrografía. Extraído de Hidrografía e hidrometría, IV.6.1 (A). Atlas Nacional de México. Vol. II. Escala 1: 4000000. Instituto de Geografía, UNAM. México. Disponible en <http://www.conabio.gob.mx/informacion/gis/> (noviembre 2015).
- Raven P. H., Eichhorn S. E., Evert R. F. 1992. Biología de las plantas. Tomo 2. Editorial Reverté S. A. Barcelona, España. 773 p.
- Ruiz J., Tamariz V., Calderón E., Ticante J. A., Cruz A. 1998. La desertificación en el Estado de Puebla. Elementos 32:51-55.

# EFFECTO DEL CAMBIO CLIMÁTICO A NIVEL LOCAL EN LA DISTRIBUCIÓN POTENCIAL DE CUATRO ESPECIES FORESTALES DE LA CUENCA RÍO BRAVO-SAN JUAN, COAHUILA, MÉXICO

## EFFECT OF CLIMATE CHANGE AT THE LOCAL LEVEL ON THE POTENTIAL DISTRIBUTION OF FOUR FOREST SPECIES IN THE RÍO BRAVO-SAN JUAN BASIN, COAHUILA, MEXICO

Romero-Sánchez, M.E.<sup>1\*</sup>; González-Hernández, A.<sup>1</sup>; Pérez-Miranda, R.<sup>1</sup>; Velasco-Bautista, E.<sup>1</sup>; Moreno-Sánchez, F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales. INIFAP. Ave. Progreso No. 5, Barrio de Santa Catarina, Delegación Coyoacán, Ciudad de México. C.P.: 04010.

\*Autor de correspondencia: romero.martin@inifap.gob.mx

### RESUMEN

Se evaluó el posible efecto del cambio climático, a nivel local, sobre la distribución potencial de cuatro especies forestales (*Pinus arizonica* Engelman, *P. cembroides* Zucc, *Juniperus fláccida* Schlechtendal y *Quercus* spp.) dentro de la cuenca del río Bravo-San Juan, Coahuila, México. Se utilizaron técnicas de modelado espacial y estadísticas para la simulación de las distribuciones potenciales futuras. De acuerdo a los resultados, la distribución potencial actual concuerda con lo reportado por el Inventario Nacional Forestal y de Suelos (INFyS). En la modelación realizada para los años 2050 y 2080 se muestra un aumento en la distribución de las especies, siendo los pinos las que registrarán mayor afectación por cambio climático en el área de estudio. Los resultados sugieren cambios importantes en la distribución potencial de estas especies dentro de la cuenca para los próximos años.

**Palabras clave:** modelado espacial, especies forestales, distribución potencial.

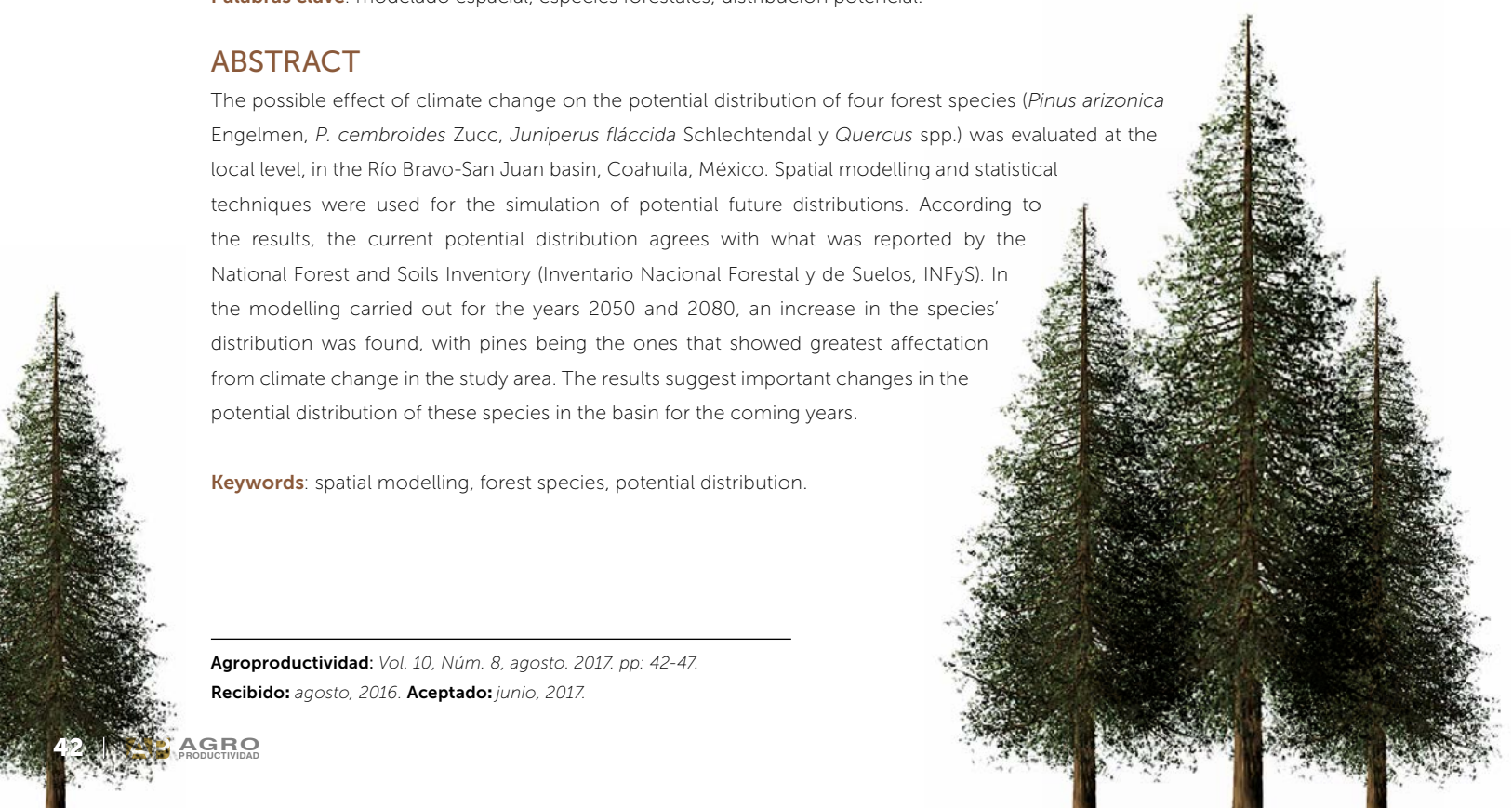
### ABSTRACT

The possible effect of climate change on the potential distribution of four forest species (*Pinus arizonica* Engelman, *P. cembroides* Zucc, *Juniperus fláccida* Schlechtendal y *Quercus* spp.) was evaluated at the local level, in the Río Bravo-San Juan basin, Coahuila, México. Spatial modelling and statistical techniques were used for the simulation of potential future distributions. According to the results, the current potential distribution agrees with what was reported by the National Forest and Soils Inventory (Inventario Nacional Forestal y de Suelos, INFyS). In the modelling carried out for the years 2050 and 2080, an increase in the species' distribution was found, with pines being the ones that showed greatest affectation from climate change in the study area. The results suggest important changes in the potential distribution of these species in the basin for the coming years.

**Keywords:** spatial modelling, forest species, potential distribution.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto. 2017. pp: 42-47.

**Recibido:** agosto, 2016. **Aceptado:** junio, 2017.





## INTRODUCCIÓN

El cambio climático y sus consecuencias son innegables (IPCC, 2014), sin embargo, es necesario especificar las afectaciones que las alteraciones climáticas están teniendo sobre los ecosistemas terrestres. Variaciones en la distribución de la precipitación y en los patrones de temperatura sugieren que algunas especies forestales tendrán que cambiar su rango de distribución actual hacia nuevas áreas de distribución (Sáenz-Romero *et al.*, 2012). Se ha documentado que algunas especies de alta montaña están desapareciendo, incapaces de adaptarse a los cambios drásticos de sus ambientes naturales (González, 2008). El cambio climático afecta la temperatura del ambiente lo que provoca sequías que inciden en el crecimiento y distribución de las especies forestales (Altieri y Nicholls, 2013; Maldonado y Juan, 2000), además de provocar que los factores (condiciones) edafoclimáticos se vean afectados, puesto que en algunas regiones aumenta la cantidad de precipitación, y con ello se disminuyen los nutrientes del suelo, también aumenta la humedad lo que provoca que el área del crecimiento forestal se modifique (Sáenz-Romero *et al.*, 2012). Ante los efectos del cambio climático es importante considerar medidas de adaptación y mitigación por parte del sector forestal por lo que es importante la aplicación de modelos para simular los posibles efectos que el cambio climático tendrá sobre los ecosistemas forestales (Pérez-Miranda *et al.*, 2013). La modelación de la influencia que el cambio climático tendrá sobre especies forestales se ha basado principalmente en modelos de escala regional (Gómez-Díaz *et al.*, 2007; Monterroso *et al.*, 2010; Pérez-

Miranda *et al.*, 2013), por lo que es importante explorar métodos de reducción de escala que permitan estimación a nivel local. En el presente estudio, se evaluó el efecto que el cambio climático tendrá en la distribución espacial de cuatro especies forestales en comparación con su distribución actual, mediante el método estadístico de reducción de escala (SDMS) para obtener escenarios de cambio climático a nivel de cuenca hidrológica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se ubicó en la cuenca Río Bravo-San Juan (12,155 km<sup>2</sup>), localizada al sureste del estado de Coahuila, México. El límite de la cuenca Río Bravo-San Juan (Figura 1) se delimitó a partir de información vectorial de la Comisión Nacional del Agua (Conagua). Se utilizaron datos de uso de suelo y vegetación actualizados al 2008 estimados a partir de imágenes de satélite de la plataforma SPOT 5 HRG (Pérez Miranda *et al.*, 2012) para seleccionar las áreas forestales donde se distribuyen las especies de interés y para definir áreas de exclusión (no forestales), independientemente de la aptitud del terreno, ya sea actual o futuro. Para determinar áreas potenciales, se tomaron requerimientos edafoclimáticos de cada

una de las especies; principalmente los factores de temperatura máxima, mínima, precipitación, altitud, profundidad, pH y textura. Se establecieron rangos sobre los cuales la especie presenta su mejor adaptabilidad al medio.

Los requerimientos ambientales (Cuadro 1) fueron extraídos de fichas técnicas publicadas por la Comisión Nacional Forestal (Conafor). Adicionalmente se verificaron las condiciones edafoclimáticas reportadas en los conglomerados del Inventario Nacional Forestal y Suelos. Se asignaron grados de aptitud de acuerdo a los requerimientos de cada especie y generaron mapas de cada variable edafoclimática con información de diferentes bases de datos. Los datos sobre los requerimientos ambientales se reclasificaron en función del grado de aptitud, para cada requerimiento: temperatura anual (media, mínima y máxima), precipitación anual, pH del suelo y la altitud media de la cuenca. Los mapas de distribución para cada especie y para cada condición, tal como, temperatura media anual, precipitación anual, pH del suelo y altitud media de la cuenca, funcionaron como parámetros de exclusión. De esta manera se obtuvieron los rangos de distribución según las

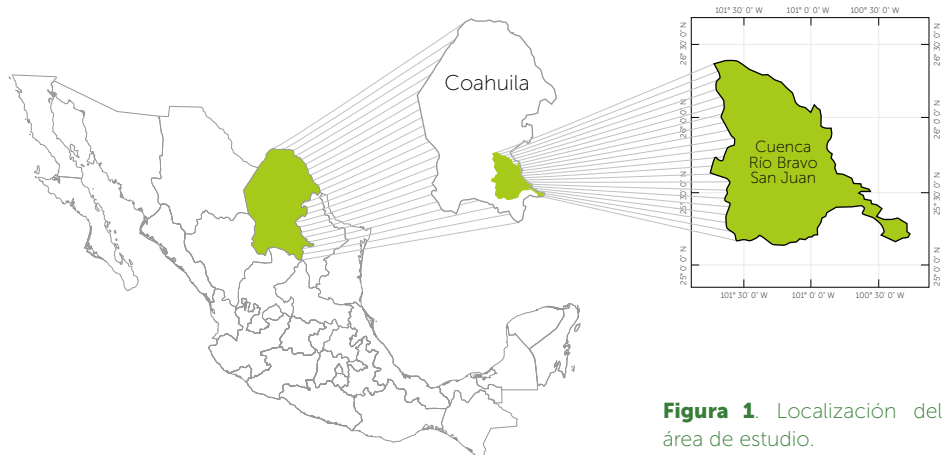


Figura 1. Localización del área de estudio.

**Cuadro 1.** Requerimientos ambientales por especie

Especie	Altitud (m)			Suelo	Temperatura (°C)			Precipitación (mm)		
	Med.	Mín.	Máx.		Med.	Mín.	Máx.	Med.	Mín.	Máx.
<i>Juniperus flaccida</i> Schlechtendal (Cedro blanco)	1900	900	2900	Someros a medio profundos; con pH muy extenso, prefiere los calcáreos	21.9 (20-24)	6.5	30.1	700	600	800
<i>Pinus arizonica</i> Engelm (Pino blanco)	2250	2100	2400	Profundidad moderada a profunda; Textura: migajón-arcillosa; bien drenados; pH entre 5.5 y 6.5	15	-23*	40*	650	500	900
<i>Pinus cembroides</i> Zucc. (Pino Piñonero)	2500	800	3200	De someros a profundos. Textura: de areno-arcillosa a migajón-arenosa; pedregosos; bien drenados; pH: de 4 a 8; MO: porcentajes medios en el horizonte "A", y pobres en "B"; calcáreos y con alto contenido de yeso y con pobre fertilidad	17.9 (16-20)	-7	42	550	365	800
<i>Quercus</i> spp. (Encino)	2000	1200	2800	Crece en suelos ácidos, neutros o alcalinos, planos y con pendientes pronunciadas textura: franco-limosa-arenosa, franco-arcillosa y franco-arcilla-limosa; son frecuentemente profundos, pero se pueden encontrar someros; pH de 5.9 – 7.1; altos contenidos de M.O.	22 (19-26)	5	39	610	400	820

Fuente: <http://www.conafor.gob.mx/portal/index.php/temas-forestales/reforestacion/fichas-tecnicas>.

condiciones que se presentan en la zona de estudio y los requerimientos ambientales de cada especie. Finalmente, el mapa de uso de suelo y vegetación, de la zona de estudio, fue reclasificado para excluir zonas no forestales. Como estrategia de validación de la distribución potencial actual se utilizaron datos de presencia de las especies tomados del inventario nacional forestal y de suelos (INFyS) 2004-2009. Además, se calculó el índice Kappa (Congalton y Kass, 2009) para determinar el grado de acuerdo/desacuerdo de la distribución potencial actual de cada especie con respecto a los registros en campo del INFyS.

### Generación de Escenarios Futuros

Para la generación de escenarios futuros a nivel de cuenca se utilizó el modelo estadístico de reducción de escala (*Statistical Downscaling Model, SDSM*). El SDSM genera funciones de transferencia que relacionan un predictando (valores climáticos diarios) y los predictores (valores climáticos futuros) mediante el ajuste de modelos de regresión lineal múltiple (Wilby and Dawson, 2013). La estructura del modelo de regresión lineal múltiple se describe a continuación:

$$y_i = \beta_0 + \sum_{j=1}^p \beta_j x_{ij} + e_i \quad (1); \quad e_i \sim N(0, \sigma^2) \quad i = 1, \dots, n$$

Donde  $y_i$  es el valor del predictando en el día  $i$  ( $n$  es el número de días del periodo considerado para el ajuste del modelo),  $x_{ij}$  es el valor del predictor  $j$  en el día  $i$ .

Los datos diarios (temperaturas y precipitación) que alimentan el modelo SDMS se obtuvieron de cinco estaciones meteorológicas del área en estudio con datos diarios de más de 30 años a partir de 1961. Los predictores del modelo fueron descargados de la Red Canadiense de Escenarios de Cambio Climático (CCCSN por sus siglas en inglés). y estuvieron basados en el modelo de circulación general CGCM2 con los escenarios de emisiones A2 y B2 descritos por el Panel Intergubernamental de Cambio Climático (IPCC) (Griggs and Noguera, 2002). Para validar el desempeño del SDMS, se utilizaron datos observados independientes y datos estimados por el modelo. El estadístico correlación de Pearson ( $r$ ) fue usado para determinar el grado de asociación del modelo. Los predictandos se generaron del periodo que va del año 1961 al año 2100. Para la selección de las áreas potenciales futuras se sustituyeron los valores de precipitación y temperatura generados por el modelo SDMS y se modeló su distribución potencial de la misma forma que se usó para el modelo de la distribución potencial actual. Se estimó la superficie potencial futura de cada especie y comparó respecto a la distribución actual.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Áreas potenciales de distribución actual

De acuerdo a las condiciones climáticas actuales en la cuenca del Río Bravo-San Juan, es factible el desarrollo de las especies forestales analizadas (*Pinus arizonica* Engelman, *P. cembroides* Zucc, *Juniperus fláccida* Schlechtendal y *Quercus* spp.), dentro del rango de necesidades de cada una de las especies (Cuadro 2). Según datos del Inventario Nacional Forestal y de Suelos 2004-2009, las especies objeto del estudio se distribuyen en el sur de la cuenca (Figura 2) donde se encuentran las áreas forestales más importantes de la cuenca: sierra de Arteaga y sierra de Zapaliname (CONAFOR, 2012).

Los escenarios de cambio climático sugieren aumentos tanto en el promedio de temperatura máxima como en el promedio de la temperatura mínima de las estaciones de la cuenca para los próximos 100 años. En general, la media entre los datos observados para validación y los estimados con el SDSM no difieren, sin embargo, la desviación estándar de los datos estimados fue menor que la de los datos reales. Se observa que en el caso de la temperatura máxima los histogramas son casi idénticos en las estaciones que están dentro de la cuenca (Figura 3), que es donde los modelos de regresión tuvieron mejor ajuste.

### Áreas potenciales de distribución futura

De acuerdo a las condiciones previstas por los modelos de circulación general de la atmósfera y los escenarios de cambio climático utilizados, los factores que mayormente influirán en la distribución potencial de las especies forestales analizadas serán la distribución espacial y cantidad de precipitación en la cuenca, lo cual repercute principalmente en

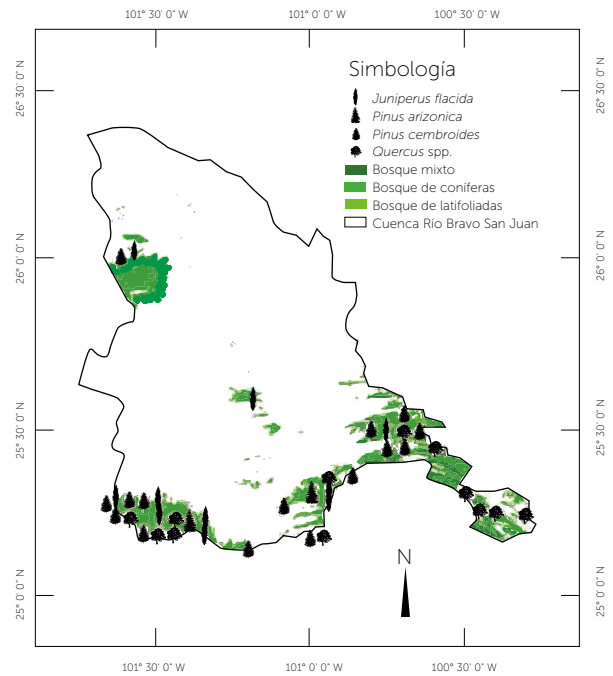


Figura 2. Distribución actual de las especies forestales estudiadas.

la cantidad de humedad disponible para el desarrollo de estas especies. Al estimar un aumento en la disponibilidad de agua, se registraron áreas de distribución potencial futura mayores a la actual (Cuadro 3).

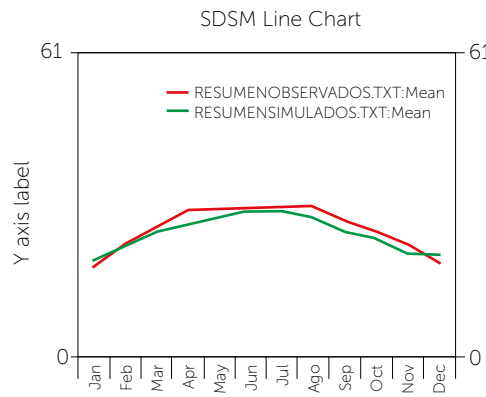


Figura 3. Comparación de valores estimados y observados de temperatura máxima (Tmax) para la estación meteorológica 5011, Ejido Reata, Ramos Arizpe, Coahuila.

Aun cuando los procesos naturales determinan la distribución de las especies, es necesario hacer notar que pueden estar siendo acelerados por efectos del aumento de la temperatura y cambios en la distribución y cantidad de precipitación, producto del cambio climático global (Pérez-Miranda et al., 2013; Sáenz-Romero et al., 2012). Es necesario establecer mecanismos de monitoreo y seguimiento de las diferentes especies forestales no solo de Coahuila, sino de todo el

Cuadro 2. Superficie potencial de distribución actual de las especies forestales diagnosticadas.

Especie	Zona de Distribución	Superficie estimada de la cuenca (%)
<i>Pinus arizonica</i>	Sierra de Zapaliname y en la zona serrana del municipio de General Cepeda	23,206 ha (2.30)
<i>Pinus cembroides</i>	Sierra de Zapaliname, Sur de la cuenca	42210 ha (4.19)
<i>Juniperus flaccida</i>	Sierra de Zapaliname, Sur de la cuenca	70622 ha (7)
<i>Quercus</i> spp.	Sureste de la cuenca, en los municipios de Arteaga y Saltillo	51051 ha (4.20)

Especie	Superficie (ha) 2050	Superficie (ha) 2080	% respecto a la cuenca	diferencia promedio (ha)
<i>Pinus arizonica</i>	35342.72	35797.44	3.53	12363.68
<i>Pinus cembroides</i>	61606.72	62249.60	6.14	19717.60
<i>Juniperus flacida</i>	78596.00	82884.48	8.01	10117.52
<i>Quercus spp</i>	45370.08	46483.36	4.56	3559.36

país ante el cambio climático, para determinar las mejores prácticas de manejo que garanticen su continuidad en las áreas de distribución natural, así como también explorar la pertinencia del desplazamiento hacia áreas donde antes no se distribuían, como se observa en la Figura 4.

En general las distribuciones potenciales de las especies forestales utilizadas en el presente estudio en el escenario actual concuerdan con la distribución reportada por el Inventario Nacional Forestal y de Suelos 2004-2009. Lo cual permite tener un punto de referencia válido para evaluar las posibles distribuciones futuras. El resultado posible de las afectaciones por el cambio climático podría verse reflejadas en la humedad antes o durante un cierto período de crecimiento que a su vez afectaría el crecimiento de la planta, asimismo el desarrollo radicular es dependiente de la disponibilidad de la humedad del suelo (Funk y Lerdau, 2004). Los bosques del área de estudio mostraron tendencia al aumento en su área

de distribución con presencia del cambio climático, esto debido a la modificación de la temperatura y la precipitación. De acuerdo a los resultados, la presencia de *Pinus* en el área de estudio se verá beneficiada, como se muestra en los escenarios sobre los períodos de estudio (2050 y 2080). Dentro de las alteraciones climáticas pronosticadas es muy importante tomar en cuenta la sucesión vegetal y la tolerancia de las especies forestales ante el cambio. Con la afectación del cambio climático se presentan modificaciones en el área de distribución de las especies forestales haciendo que aumenten o disminuyan; de esto dependen la sucesión y la tolerancia que se tenga para cada uno de los individuos, puesto que algunas especies son intolerantes a la radiación solar en exceso y por ende no tienen la misma posibilidad de crecer en su ambiente natural por las condiciones adversas que se presentan, para ello es necesario que se desarrolle el primer estrato en el suelo y pastos, que ayudan al mejor desarrollo de los árboles en el bosque (Pérez-Miranda et al., 2013).

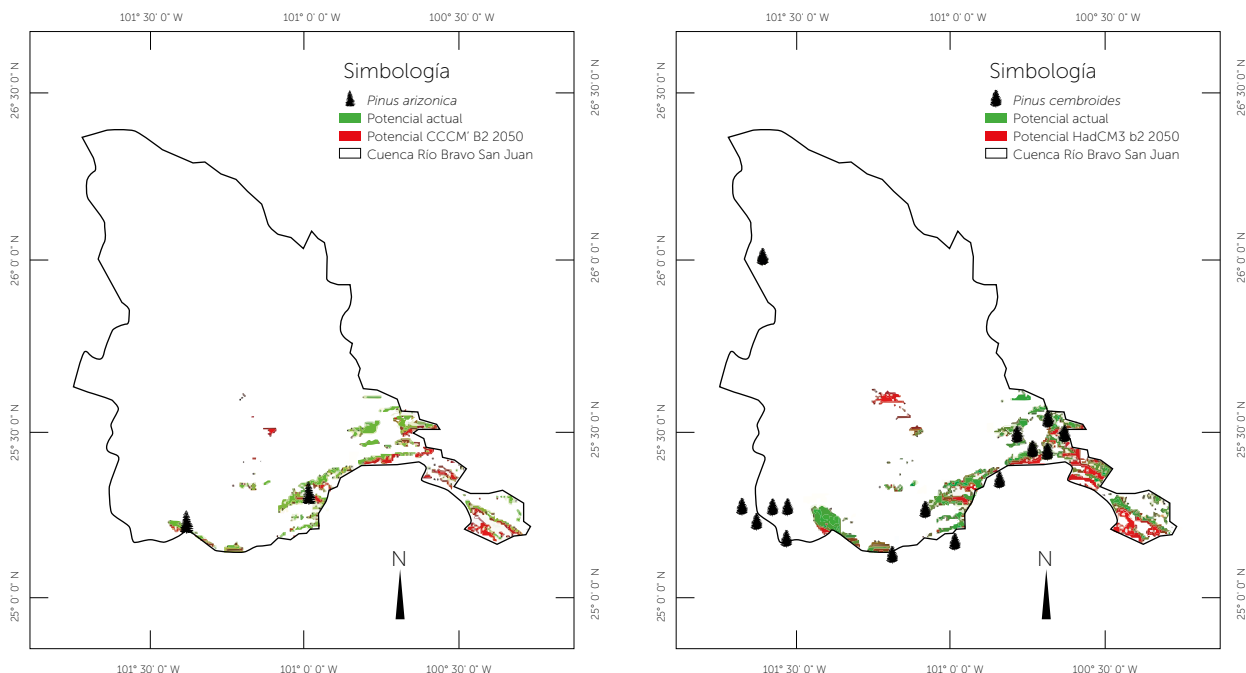


Figura 4. A: Distribución potencial futura de *Pinus arizonica*. B: *Pinus cembroides* bajo un escenario de cambio climático.



## CONCLUSIONES

La modelación climática es una base firme para la generación de propuestas para la prevención y manejo de áreas forestales afectadas por el cambio climático. En todos los casos, la modelación de distribución potencial futura de las especies forestales mostró valores superiores con respecto a la distribución actual. Este estudio sugiere que, aunque las alteraciones del clima a nivel global pueden ser negativas, el análisis a nivel local de los efectos del cambio climático puede ser benéfico para algunas especies, tal como fue el caso de las especies analizadas en este estudio.

## AGRADECIMIENTOS

Al Fondo Mixto Conacyt-Coahuila como parte del proyecto "Perspectivas sobre la climatología y disponibilidad de los recursos hídricos del estado de Coahuila para los próximos años", convenio COAH-2008-CO7-93005.

## LITERATURA CITADA

- Altieri M. A. Nicholls C.I. 2013. Agroecología y resiliencia al cambio climático: principios y consideraciones metodológicas. *Agroecología* 8: 7–20.
- CONAFOR. 2012. Sistema Nacional de Información Forestal. Inventario Nacional Forestal y de Suelos. Gerencia de Monitoreo y Evaluación. Comisión Nacional Forestal.
- Congalton R. Kass G. 2009. Assessing the accuracy of remotely sensed data: Principles and practices. Ed. CRC Press, Taylor & Francis Group. Boca Raton, Fl. 183 p.
- Funk J.L. Lerdau M.T. 2004. Photosynthesis in forest canopies, in: *Forest canopies*. Second Edition. Elsevier Inc. p 335–358.
- Gómez D. J. Monterroso R. A. Tinoco R. J. 2007. Distribución del cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) en el estado de Hidalgo, bajo condiciones actuales y escenarios de cambio climático. *Madera y Bosques* 13: 29-49.
- Griggs D. J. Noguera M. 2002. Climate change 2001: The scientific basis. Contribution of Working Group I to the Third Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. *Weather* 57: 267–269.
- IPCC. 2014. Intergovernmental Panel on Climate Change. *Climate Change 2014: Synthesis Report*. 80 p.
- Maldonado F. D. Juan S. 2000. Caracterización de cambios e influencia climática sobre la cobertura vegetal en el semiárido brasileño mediante Análisis de Componentes Principales (ACP). *Revista de Teledetección* 13:1–9.
- Monterroso R. A. Gómez D. J. Tinoco J.A. 2010. Potential distribution of two dominant species in the National Park "Nevado de Toluca", central México, current and future climate change scenarios. *Journal of Natural and Environmental Sciences* 1: 27–34.
- Pérez M. R. Cruz B. G. Moreno S. F. González H. A. Romero S. M. 2012. Cambios de vegetación y uso de suelo en la cuenca río Bravo-San Juan, Coahuila (1993 a 2008). *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 3: 25–40.
- Pérez M. R., Moreno S. F. González H. A. Arreola P. V. 2013. Escenarios de la distribución potencial de *Pinus patula* Schlttdl. et Cham. y *Pinus pseudostrabus* Lindl. con modelos de cambio climático en el estado de México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 4: 73–86.
- Sáenz-Romero, C. Rehfeldt, G. E. Duval, P. Lindig-Cisneros R.A. 2012. Abies religiosa habitat prediction in climatic change scenarios and implications for monarch butterfly conservation in Mexico. *Forest Ecology Management* 275: 98–106.
- Wilby R.L. Dawson C.W. 2013. Statistical Downscaling Model SDSM-Decision Centric Version 5.1. Supplementary Note. 9 p.



# ESTUDIO FENOLÓGICO DE *Licania arborea* Seem (CHRYSOBALANACEAE) EN JIQUIPILAS, CHIAPAS; MÉXICO

## PHENOLOGICAL STUDY OF *Licania arborea* Seem (CHRYSOBALANACEAE) IN JIQUIPILAS, CHIAPAS, MÉXICO

Ríos-García, C.A.<sup>1\*</sup>; Orantes-García, C.<sup>1</sup>; Verdugo-Valdez, A.G.<sup>1</sup>; Sánchez-Cortés, M.S.<sup>1</sup>; Farrera-Sarmiento, O.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Libramiento Norte Poniente N°1155, Colonia Lajas Maciel, Código Postal 29039, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

<sup>2</sup>Jardín botánico Faustino Miranda, SEMAHN, Calzada de los Hombres Ilustres, Parque Madero, edificio Museo Botánico S/N, colonia Centro Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

\*Autor de correspondencia: carlos\_garcia2009@hotmail.com

### RESUMEN

Los estudios fenológicos permiten conocer los periodos de tiempo de aparición y permanencia de las etapas de vida de una planta y su relación climática, siendo las más importantes la floración y fructificación, las cuales aseguran conocer la extensión de los fenómenos con fines de manejo y propagación. Se evaluaron los eventos de floración y fructificación de *Licania arborea* y su relación con la precipitación y temperatura. Durante el periodo del 2013 a 2014 se realizó la observación de los eventos, en 10 árboles localizados en el municipio de Jiquipilas, Chiapas, México, aplicando la escala numérica de Fournier (1974), los datos climatológicos fueron obtenidas en la estación bioclimática Las Flores (CONAGUA), y se realizó un análisis de regresión simple, ajustado a un modelo de Y cuadrada-inversa de X, registrando que los eventos fenológicos ocurren una vez al año, donde la floración se presenta de octubre a marzo, mientras que la fructificación se extiende de enero a julio. La floración se relaciona con la temperatura ( $p=0.0006$ ) ( $r^2=0.70$ ) y coeficiente de correlación de 0.84, demostrando que la temperatura juega un papel muy importante en la producción de flores.

**Palabras claves:** ecofisiología, especie amenazada, flora nativa, relación climática.

### ABSTRACT

Phenological studies allow understanding the periods of time of appearance and permanence of the life stages of a plant and their climatic relationship, with flowering and fructification being the most important, which ensure understanding the range of the phenomena with the purpose of management and propagation. The flowering and fructification events of *Licania arborea* were evaluated, as well as their relation with precipitation and temperature. Events were observed during the period of 2013 to 2014 on 10 trees located in the municipalities of Jiquipilas, Chiapas, México, applying Fournier's numerical scale (1974); the climate data were obtained at the Las Flores bioclimate station (CONAGUA), and a simple regression analysis was performed, adjusting a model of Y square-inverse of X, finding that the phenological events take place once a year, where the flowering is seen from October to March, while the fructification extends from January to July. The flowering is related to the temperature ( $p=0.0006$ ) ( $r^2=0.70$ ) and correlation coefficient of 0.84, proving that temperature plays an important role in the production of flowers.

**Keywords:** ecophysiology, threatened species, native flora, climate relationship.

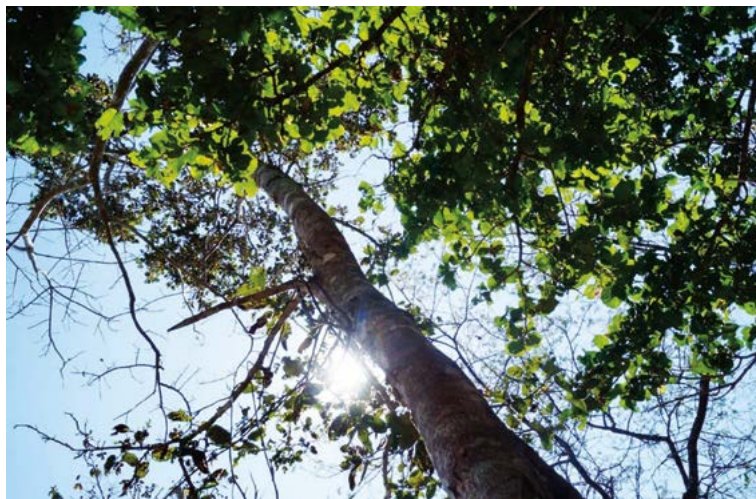
**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto, 2017, pp: 48-52.

**Recibido:** septiembre, 2016. **Aceptado:** mayo, 2017.

## INTRODUCCIÓN

La fenología es una rama de la ecofisiología vegetal, que aborda el estudio y conocimiento de las adaptaciones fisiológicas de los organismos vegetales, que están acomodados a ritmos estacionales influidos por el medio ambiente y la relación con el clima en el curso anual del tiempo atmosférico, en un determinado lugar (Lambers *et al.*, 1998; López-Ríos, 2005; Solarte *et al.*, 2010). Se trata de una disciplina fundamentalmente descriptiva, basada en la observación, que requiere método y precisión en el trabajo de campo sobre el ciclo de vida de las plantas y su variación temporal a lo largo del año (Mantovani *et al.*, 2003). Estos fenómenos abarcan eventos, tales como la brotación, floración, fructificación e incluso senescencia en caso de plantas anuales, las cuales responden directamente a cambios macro y micro climáticos (Sparks *et al.*, 2009; Badeck *et al.*, 2004), constituyendo una valiosa fuente de información en la investigación de la relación existente entre el clima, ambiente y desarrollo de la planta (Kramer *et al.*, 2000; Ahas *et al.*, 2002). Estos eventos son muy variables en duración (breve, intermedia y extendida), y frecuencia (continua, subanual, anual y supranual); además pueden presentar un patrón de duración y frecuencia regular o irregular (Zárate *et al.*, 2006). Actualmente los estudios fenológicos han tomado mayor importancia debido al proceso de calentamiento global,

se ha observado que los procesos biológicos de supervivencia y éxito reproductivo expresados en función de la fenología pueden mejorar la precisión de los modelos de predicción de la distribución futura de las especies (Chuine y Beaubien, 2001), principalmente en aquellas que destacan por ser multipropósito y son aprovechadas para la obtención de madera. *Licania arborea* Seem (Figura 1), conocida comúnmente como totoposte, cacahuanantzin, juijui, rabiseco, toposcahuite y madercita del cacao (Gispert-Cruells *et al.*, 2002; Palacios, 2006; Ríos-García, 2014), es una especie multipropósito que registra diversos usos, tales como medicinales, maderable e industrial para la construcción de casas (Pennington y Sarukhan, 2005), así como sombra, leña, poste, cerco vivo (Ríos-García *et al.*, 2014) teniendo mayor impacto en comunidades campesinas; sin embargo, las poblaciones silvestres



**Figura 1.** Árbol de totoposte (*L. arborea*), se aprecia el tallo grisáceo, una de las características que distingue esta especie.

de *L. arborea* han disminuido en los últimos años, por lo que su hábitat natural está viéndose reducido por la actividad antropogénica por el cambio de uso de suelo, tala y actividades agropecuarias, además

de la poca información acerca de la especie, lo que hace importante generar investigaciones acerca de la función ecofisiológica de esta especie. Se estudió la fenología del árbol tropical *L. arborea*, considerando principalmente las etapas reproductivas, para conocer la durabilidad de los eventos de floración y fructificación, y su relación con la temperatura y precipitación, para ser utilizada como base para promover la obtención de semillas y establecer alternativas de propagación de la especie que se encuentra en estado amenazado según la NOM-059-SEMARNAT-2010 (Diario Oficial de la Federación, 2010).

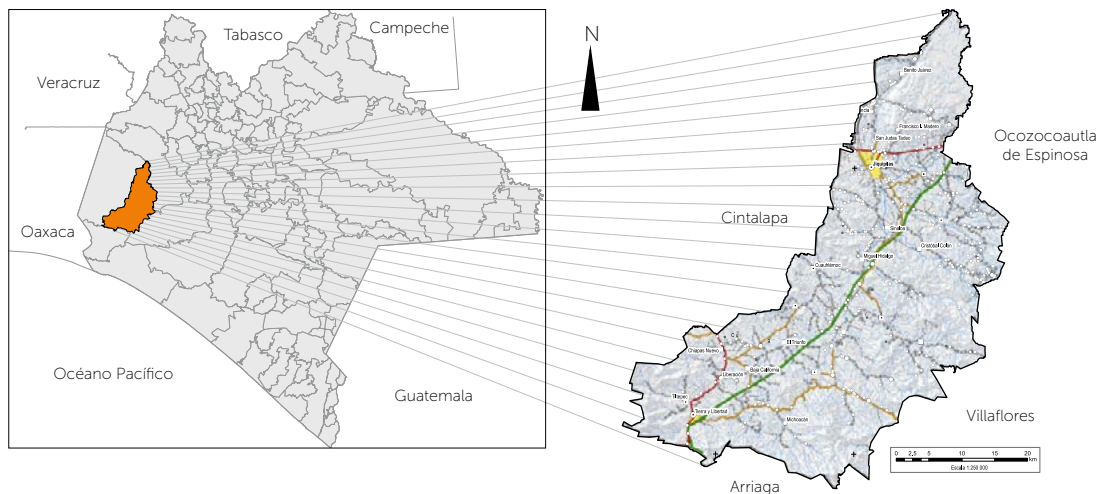
## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El municipio de Jiquipilas, Chiapas (Figura 2) se ubica a 64 Km de la capital Tuxtla Gutiérrez, en el estado de Chiapas, México (INEGI, 2010), se ubica en la Depresión Central de Chiapas, dentro de un valle con lomeríos (INEGI, 2005), situado a 93° 34' 48" O y 16° 36' 48" N, a una altitud de 560-600 m (FORTAM, 1984). El tipo de vegetación dominante es Pinares (Bosque de pino) (32.34%) y selva baja caducifolia (18.71%) (Miranda y Hernández-X, 1963), clima cálido-subhúmedo con lluvias veraniegas, una temperatura media anual de 25.4 °C y precipitación pluvial de 1 018 mm al año (INEGI, 2005).

Se realizaron observaciones mensuales del árbol de totoposte





**Figura 2.** Ubicación del municipio de Jiquipilas, Chiapas.

durante un año (del 15 de septiembre de 2013 al 15 de agosto de 2014) a los alrededores de Jiquipilas, en un perímetro de 300 hectáreas aproximadamente. Para determinar las fases de floración y fructificación, se localizaron de manera dirigida 10 individuos del árbol por accesibilidad de muestreo (Ramírez-González, 2006). Para la evaluación fenológica, se determinó el porcentaje de presencia de cada carácter fenológico por cada individuo a través de la escala numérica propuesta por Fournier (1974), en la que se identificaron cuatro categorías de aparición del carácter como sigue: Ausencia del fenómeno a observar; Presencia del fenómeno a observar 1-25%; Presencia del fenómeno con una magnitud entre 26-50%; Presencia del fenómeno con una magnitud de 51-75%; Presencia del fenómeno con una magnitud de 76-100%. Se considera que la información fenológica debe tener carácter cuantitativo y cubrir todo el período de manifestación de la característica, tanto el inicio, la plenitud como la declinación. Las observaciones de campo llevaron a la construcción de un fenograma con ayuda del progra-

ma Microsoft Excel<sup>®</sup>, el cual permitió datar las fenofases de esta especie (Orantes-García *et al.*, 2011). Los datos de temperatura y precipitación fueron obtenidas de la estación Las Flores, ubicada en Jiquipilas, Chiapas. Mediante un análisis de regresión simple, ajustado a un modelo de Y cuadrada-inversa de X con el programa estadístico Statgraphics<sup>®</sup>, se determinó la influencia del clima con la fenología, usando la categoría de aparición de cada evento (floración y fructificación) y la temperatura/precipitación presentada durante el año de muestreo obteniendo el coeficiente de correlación,  $R^2$  y valor de P mediante un análisis de varianza (ANOVA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se encontró que los eventos fenológicos se presentan una vez al año, es decir el árbol es una especie anual, donde la floración (Figura 3A) da inicio en el mes de octubre con una presencia del 50% y se extiende hasta marzo con 25%, dónde enero es el mes que presenta el mayor porcentaje de flores con un 100%. En enero inicia la fructificación extendiéndose hasta el mes de julio con un 25% de presencia, el mes de abril presentó la mayor cantidad de frutos en el árbol con 100% (Figura 3B), coincidiendo con lo mencionado por Palacios (2006), donde tanto el fenómeno de floración y fructificación se presentan una vez al año,



**Figura 3.** A: Inflorescencia. B: Frutos de *L. arborea*.



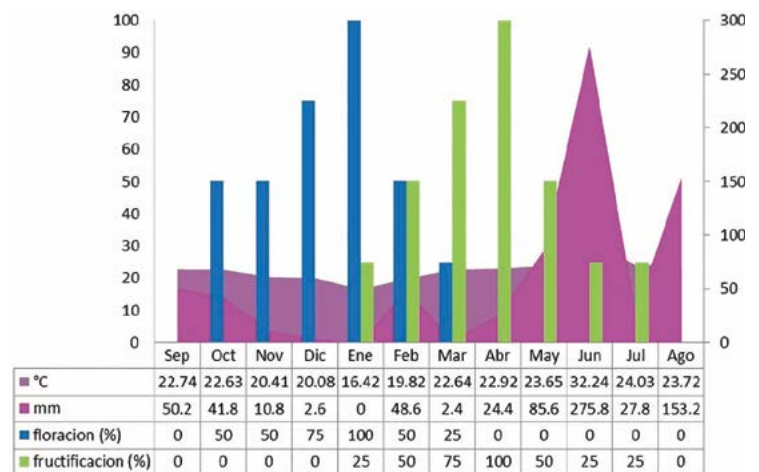
con duración de seis meses aproximadamente. Por su parte Peñuela y Castro (2013), presentan un estudio acerca de la fenología de árboles maderables, entre ellos seis especies de la familia Chrysobalanaceae, de las cuales cuatro fueron del género *Licania*, y la floración en éstas tuvo duración de septiembre a enero, mientras que la fructificación se presentó de abril a Julio.

De acuerdo al registro de temperatura y precipitación obtenidas del centro climatológico Las Flores, se observó que la floración ocurre en meses donde las precipitaciones son menores a los 50 mm o son ausentes (0-48.6 mm), mientras que la fructificación aparece durante la temporada de secas, disminuyendo conforme las lluvias se presentan (Figura 4), en los meses de agosto y septiembre no hubo registro de algún evento fenológico. En cuanto al evento de defoliación, se observó que no es común en esta especie. Villasana y Suárez-de Jiménez (1997), mencionan que el período de fructificación en selva baja ocurre durante la temporada de sequía, donde se encuentran los más bajos porcentajes tanto de precipitación como de humedad relativa, caso contrario en la floración, ubicados en los meses más húmedos del año. Por otro lado, también se registró que los árboles de totoposte abortan frutos por lo menos dos veces durante el período inicial de fructificación, las cuales quedan dispersas en el territorio que ocupa la especie, con una sobrevivencia germinativa de una semilla por cada 100, las cuales se desarrollan bajo la sombra del árbol, sirviéndoles como nodriza (árbol que facilita el crecimiento y desarrollo de otras especies de plantas que crecen bajo su copa). En cambio cuando las semillas permanecen en los árboles, son consumidas por algunas especies de murciélagos, los cuales destacan por ser los principales dispersores, principalmente donde hay presencia de especies de la familia Moraceae, como *Ficus glabrata* y *Ficus benjamina*, que de igual manera son utilizadas como refugio y puntos de alimentación de los quirópteros; y en estos puntos, las semillas germinan y dan origen a plántulas.

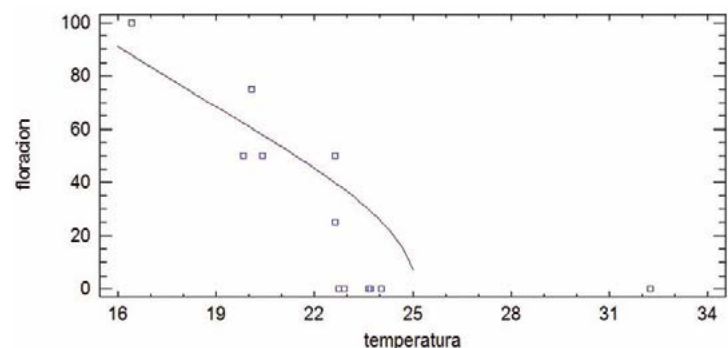
Se registró que el evento de floración se relaciona con la temperatura, y el análisis de correlación mostró una  $R^2=0.70$  y un coeficiente de correlación de 0.84, indicando una relación moderadamente fuerte entre las variables, por otro lado el análisis de varianza (ANOVA) arrojó una  $p=0.0006$ , lo cual indica que existe una relación estadísticamente significativa entre ambas variables, comprobando así la dependencia entre floración y variación de la temperatura en un año (Figura 5). Caso contrario en la relación entre la producción de frutos y temperatura, y al igual que los fenómenos de floración y fructifi-

cación no están relacionados con la precipitación, lo que indica que no existe una relación estadísticamente posible entre el fenómeno a observar y la precipitación presente en un año (Cuadro 1).

Marcos (2012), menciona que el estudio de la fenología en cualquier planta tiene especial interés por su relación con el clima en general y el microclima en particular en el que se desarrolla, actuando en este caso como indicador biológico del mismo como son la perturbación natural e influencia antropogénica. La temperatura juega un papel muy importante en la producción de frutos, y Vélchez *et al.* (2004) mencionan que el porcentaje de flores producidas por los árboles



**Figura 4.** Fenograma de *Licania arborea*, basado en observaciones de campo, de acuerdo a la escala de Fournier (1974).



**Figura 5.** Correlación entre temperatura y porcentaje de floración. La relación dependiente entre el fenómeno a observar y la temperatura ( $p=0$ ).

depende en mayor medida del calor, y en acuerdo al trabajo consultado por George y Erez (2000), quienes mencionan que es muy importante que las lluvias no sean en plena floración para evitar la caída y el daño de los frutos, además de la infección por hongos en los órganos reproductivos.

## CONCLUSIONES

**La floración** en *Licania arborea* se presentó de octubre a marzo, teniendo su pico máximo en el mes de enero (100%) y la fructificación de enero a julio, teniendo su pico máximo en el mes de abril (100%), donde presentó sus niveles máximos de floración y fructificación coincidiendo con los meses donde las lluvias disminuyen considerablemente, registrando que es tiempo adecuado para la colecta de semillas con fines de manejo y propagación. La temperatura presentó relación media positiva con la producción de flores en el árbol de totoposte ( $R^2=0.70$ ), lo que hace que ambas variables sean dependientes.

## LITERATURA CITADA

Ahas R., Aasa A., Menzel A., Fedotov, V. G., Scheifinger H. 2002. Changes in European spring phenology. *International Journal of Climatology* 22: 1727-1738.

Badeck F., Bandeau A., Böttcher K., Doktor D., Lucht W., Schaber J. y Sitch S. 2004. Responses of spring phenology to climate change. *New Phytologist* 162: 295-309.

Chuine I., Beaubien E.G. 2001. Phenology is a major determinant of tree species range. *Ecology Letters* 4: 500-510.

Diario oficial de la federación, 2010. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental - Especies nativas de México de flora y fauna silvestres - Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio - Lista de especies en riesgo. 30 de Diciembre, 2010. México. 78 p.

FORTAM, 1984. Jiquipilas: Diagnostico Municipal. Gobierno del Estado de Chiapas. México. 10 p.

Fournier L.A. 1974. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba* 24 (4): 422-423.

George A., Erez A. 2000. Stone fruit species under warm subtropical and tropical climates. In: Erez, A. (ed). *Temperate fruit crops in warm climates*. Kluwer Academic Publ., Dordrecht. Netherlands. 231- 265 p.

Gispert-Cruells M., Rodríguez-González H., González-Esquinca A.R. 2002. Los diversos y floridos árboles de los parques de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. Universidad Nacional Autónoma de México, Gobierno del estado de Chiapas. México. 102 p.

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. 2005. Marco Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. 9 p. (PDF). <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/07/07046.pdf> (Consulta: 20 Febrero 2015).

Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. 2010. Información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. <http://www.inegi.org.mx/> (Consulta: 20 Febrero 2015).

**Cuadro 1.** Valores obtenidos en cada relación, de floración y fructificación contra la temperatura y precipitación de *Licania arborea*.

Relación	R <sup>2</sup>	Coefficiente de correlación	Valor de p
Temperatura-floración	0.70	0.84	0.0006
Temperatura-fructificación	0.24	0.04	0.8793
Precipitación-floración	25.76	-0.50	0.0922
Precipitación-fructificación	1.984	-0.14	0.6623

Kramer K., Leinonen I., Loustau D. 2000. The importance of phenology for the evaluation of impact of climate change on growth of boreal, temperate and mediterranean forests ecosystems: an overview. *International Journal of Biometeorology* 44: 67-75.

Lambers H., Chapin F. S., Pons T. L. 1998. *Plant physiological ecology*. Springer Verlag. Berlin. 540 p.

López-Ríos G. F. 2005. *Ecofisiología de árboles*. Universidad Autónoma Chapingo. México. 480 p.

Marcos D. 2012. El ciclo del olivo. *Rioja, España. Provedo* 21. 1-9.

Mantovani M., Ruschel A. R., Sedrez Dos Reis M., Puchalski A., Nodari R. O. 2003. Fenología reproductiva de especies arbóreas. *R. Árvore, Vicosa-MG* 27(4): 451-458.

Miranda F., Hernández-X. E. 1963. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Boletín de la sociedad Botánica de México*. 29-176.

Orantes-García C., Pérez-Farrera M. A., Rioja-Paradela T. M., Garrido-Ramírez E. R., Del Carpio-Penagos C. U. 2011. Fenología de dos especies arbóreas nativas de la selva tropical en Chiapas, México. *Lacandonia* 2 (5): 81-86.

Palacios E., 2006. Ficha técnica de *Licania arborea*. Cuarenta y ocho especies de la flora de Chiapas incluidas en el PROY-NOM-059-ECOL-2000. Instituto de historia natural y ecología, Base de datos SNIB-CONABIO, Proyecto No. W008, México, D.F. 6 p.

Pennington T. D., Sarukhán J. 2005. *Árboles tropicales de México: manual para la identificación de las principales especies*. Fondo de cultura económica. México. 523 p.

Peñuela L., Castro F. 2013. *Calendario Fenológico de especies nativas maderables con potencial para el Vichada*. Ministerio de ambiente y desarrollo sostenible. Colombia. 2 p.

Ramírez-González A. 2006. *Ecología: métodos de muestreo y análisis de poblaciones y comunidades*. Editorial Pontificia universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 271 p.

Ríos-García C. A., Orantes-García C., Sánchez-Cortés M. S. 2014. Aprovechamiento del árbol tropical *Licania arborea* Seem (Chrysobalanaceae) en una comunidad campesina de Chiapas, México. *Revista iberoamericana de ciencias* 6 (1): 27-31.

Solarte M. E., Pérez L. V., Melgarejo, L. M. 2010. *Ecofisiología vegetal*. Universidad Nacional de Colombia. Colombia. 137- 166 p.

Sparks T. H., Menzel A., Stenseth N. C. 2009. European cooperation in plant Phenology introduction. *Climate Research* 39: 175-177.

Vílchez B., Chazdon R., Redondo A. 2004. Fenología reproductiva de cinco especies de bosque secundario tropical. *Kurú: revista tropical* 1 (2): 1-10.

Villasana R. A., Suárez-de Jiménez A. 1997. Estudio fenológico de 16 especies forestales presentes en la reserva foresta Itamaca estado Bolívar-Venezuela. *Revista Forestal Venezolana* 41 (1): 13-21.

Zárate R., Amasifuen C., Flores M. 2006. Floración y fructificación de plantas leñosas en bosques de arena blanca y de suelo arcilloso en la Amazonía Peruana. *Revista Perú Biología* 13 (1): 95-102.

# GERMINACIÓN *in vitro* DE SEMILLAS DE *Cedrela odorata* L. DE GENOTIPOS EXTINTOS

## *In vitro* GERMINATION OF *Cedrela odorata* L. SEEDS FROM EXTINCT GENOTYPES

Sampayo-Maldonado, S.<sup>1</sup>; Castillo-Martínez, C.R.<sup>2\*</sup>; Jiménez-Casas, M.<sup>1</sup>; Sánchez-Monsalvo, V.<sup>3</sup>; Jasso-Mata, J.<sup>1</sup>; López-Upton, J.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Posgrado en Ciencias Forestales, Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. Km 36.5 carretera México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. CENID-COMEF. Av. Progreso No. 5, Colonia Barrio de Santa Catarina, Delegación Coyoacán, Ciudad de México. <sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental El Palmar, km 16 Carretera Tezonapa-El Palmar Grande. Tezonapa, Veracruz, México. C.P. 95096.

\*Autor de correspondencia: castillo.carlos@inifap.gob.mx

### RESUMEN

La especie más importante para la industria forestal de México, es *Cedrela odorata* L., sin embargo, los problemas con plagas, baja producción de semillas y baja viabilidad durante el almacenamiento ponen en riesgo a la especie. Es necesario evaluar técnicas para la germinación *in vitro* para obtener material aséptico para generar protocolos para la propagación masiva de materiales selectos de cruza controladas y ganancia genética. Se evaluó el efecto de la escarificación en semillas de nueve familias superiores de un huerto semillero sexual extinto y su germinación en diez medios de cultivo. Se prepararon cinco medios: Murashigue y Skoog (MS), Medio Woody Plant (WPM), Medio Gambor (B5), Medio Schenk y Hildebrand (SH) y Agua destilada (AD). De los cuales se preparó una réplica a lo que se les adicionó carbón activado para obtener diez medios. La escarificación de semillas fue el mejor tratamiento con 52.8% de germinación y menor contaminación. El medio MS más carbón activado registró la mayor germinación (59.5%). Se presentaron diferencias significativas entre familias para germinación y contaminación. En las interacciones entre factores, la escarificación de las semillas en el medio MS con carbón activado fue la mejor para germinación; representado en tres familias.

**Palabras clave:** propagación, carbón activado, multiplicación.

### ABSTRACT

The most important species for the forestry industry in México is *Cedrela odorata* L., however, the problems with pests, low seed production and low viability during storage place the species at risk. It is necessary to evaluate techniques for *in vitro* germination to obtain aseptic material to generate protocols for the massive propagation of select materials of controlled crosses and genetic gain. The effect of scarification on seeds from nine superior families from an extinct seed garden and their germination in ten growth media was evaluated. Five media were prepared: Murashigue and Skoog (MS), Woody Plant Medium (WPM), Gambor Medium (B5), Schenk and Hildebrand Medium (SH) and distilled water (AD). With these, a copy was prepared to which activated carbon was added to obtain ten media. The scarification of seeds was the best treatment with 52.8 % of germination and less contamination. The MS medium plus activated carbon showed the highest germination (59.5 %). Significant differences were found between families for germination and contamination. In the interactions between factors, seed scarification in MS medium with activated carbon was the best for germination, represented in three families.

**Keywords:** propagation, activated carbon, multiplication.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto. 2017. pp: 53-58.

**Recibido:** septiembre, 2016. **Aceptado:** junio, 2017.



## INTRODUCCIÓN

**Cedrela** *odorata* L. es una de las especies más atractivas por su rentabilidad económica (Ramírez *et al.*, 2008), lo que la convierte en la de mayor importancia comercial para la industria forestal de México (Quinto *et al.*, 2009). Actualmente se encuentra incluida en la lista de especies en riesgo sujeta a protección especial en la NOM. 059 (SEMARNAT, 2010), razón por la cual su conservación, propagación y uso sustentable cobra especial importancia (Muellner *et al.*, 2009). Rodríguez y Díaz (2011) mencionan que los principales problemas que limitan el éxito de ésta especie son: baja producción de semillas, susceptibilidad al ataque de *Hypsipyla grandella* Zeller, dispersión corta de sus semillas y baja viabilidad durante el almacenamiento; ya que se propaga principalmente por semillas (Magnitskiy y Plaza, 2007). La cubierta seminal protege a la semilla de los factores ambientales adversos y puede inhibir la germinación al impedir la entrada de agua y oxígeno (Ribeiro y Costa, 2015). Para romper la latencia de tipo física, acelerar la germinación y lograr mayores porcentajes de germinación se utilizan técnicas de escarificación (Wada y Reed, 2011), para algunas especies, la germinación *in vitro* es la única forma de originar plántulas normales (Damon *et al.*, 2004). Según Bueno *et al.* (2009) la germinación *in vitro* permite obtener material vegetal para el establecimiento de protocolos de propagación masiva. Donde a partir de estos explantes se pueden generar plántulas sanas, libres de patógenos (Gutiérrez *et al.*, 2008). La importancia de realizar la germinación *in vitro* en *C. odorata* es la conservación de la variación genética, la propagación de genotipos seleccionados y la multiplicación de individuos superiores. Se utilizan los explantes estériles para probar niveles de auxinas para la realizar embriogénesis somática y organogénesis directa e indirecta, para generar los protocolos para la especie (Hartmann *et al.*, 2001). La respuesta de las semillas a las condiciones *in vitro* son muy diferentes a la respuesta a las condiciones naturales (Damon *et al.*, 2004), por lo que es necesaria la evaluación de diferentes medios de cultivo para encontrar los requerimientos óptimos de nutrientes necesarios, particularmente para ciertos genotipos que han mostrado superioridad, como es el caso de materiales selectos. Con base en lo anterior, se evaluó el efecto del medio de cultivo para la germinación *in vitro* de semillas de nueve familias de *C. odorata* a las que se les aplicó tratamientos de escarificación, para la generación de protocolos de propagación masiva y conservación de germoplasma selecto a

corto y mediano plazo. Con la técnica se están conservando genotipos de materiales ya extintos.

## MÉTODOS Y MATERIALES

Se evaluaron semillas de nueve familias del Huerto Semillero de *Cedrela odorata* L. que se encontraba dentro del Campo Experimental El Palmar (18° 32' N, 96° 47' W; 180 m), del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), que se localiza en el Municipio de Tezonapa, Veracruz, México (Sánchez *et al.*, 2003). El clima es cálido húmedo con lluvias en verano, con una precipitación media de 2,888 mm anuales, y temperatura media anual de 24.4 °C. Los suelos son de tipo Acrisol, profundos y de buen drenaje, poseen una textura de migajón arcillo-arenoso y pH de 4.8 (Sánchez y Velázquez, 1998). Las semillas se recolectaron en marzo del 2014 de genotipos que se obtuvieron a partir de un ensayo de procedencias-progenie. Este experimento formó parte de una estrategia de mejoramiento genético de *Cedrela odorata* L. del INIFAP. Los tratamientos de desinfección y siembra de las semillas se realizaron en las instalaciones del laboratorio de cultivo *in vitro* del Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG) del INIFAP, en Tepatlán de Morelos, Jalisco.

Se seleccionaron cinco medios de cultivo, de uso común para especies forestales; 1) agua destilada (AD) (Bueno *et al.*, 2009), 2) medio B5 (Gambor *et al.*, 1968), 3) medio Woody plant (WPM) (Smith y McCown, 1982), 4) medio Schenk y Hildebrand (SH) (1972) y 5) medio Murashigue y Skoog (MS) (1962). A los cinco medios se les adicionó 9 g L<sup>-1</sup> de agar y 30 g L<sup>-1</sup> de sacarosa. Se preparó una réplica de estos cinco medios de cultivo a los cuales se les adicionó carbón activado (CA), para obtener diez medios de cultivo. El pH de los medios se niveló a 5.7 y mediante un despachador se depositaron 10 ml de medio a los tubos de ensayo, los cuales después fueron esterilizados.

### Tren de desinfección de semillas

Las semillas fueron puestas con jabón en agua corriente por 10 minutos, se enjuagaron tres veces con agua destilada. Después se dejaron 60 minutos en Captan® (3 g L<sup>-1</sup>) y se enjuagaron tres veces con agua destilada. Se trataron con etanol al 70% durante un minuto, después se enjuagaron tres veces con agua destilada. Posteriormente se dejaron en inmersión durante 15 minutos en cloro al 30%, y ya en la campana de flujo laminar se les dio tres enjuagues con agua estéril. La siembra se realizó en condiciones asépticas en la campana de flujo



laminar. Para el tratamiento de escarificación, las semillas se disectaron en cajas petri con bisturí estériles. Se sembró una semilla en cada tubo de ensayo, después fueron sellados con parafilm y se etiquetaron. Posteriormente fueron colocados en la cámara de incubación a  $24 \pm 2$  °C con fotoperiodo de 16 horas luz, usando lámparas de alógeno con intensidad lumínica de  $28.05 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y 8 horas de oscuridad, y durante un mes se realizaron conteos y se determinó el porcentaje de semillas germinadas y porcentaje de contaminación. Para el análisis de datos, se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de  $2 \times 10 \times 9$  (dos tratamientos de escarificación, 10 medios de cultivo y nueve familias) con 10 repeticiones. Al analizar los datos estos no cumplieron con los supuestos de normalidad. Previo al análisis de varianza las variables en porcentaje (Y) fueron transformadas con la función arcoseno de la raíz cuadrada del valor original expresado en fracción decimal [ $T = \arcseno(\sqrt{Y})$ ]. Posteriormente los valores promedio fueron retransformados a las unidades originales, con la función [ $Y = 100 \text{seno}^2(T)$ ]. Se realizó una comparación múltiple de medias de Tuckey ( $p \leq 0.05$ ); estos análisis se realizaron con el programa estadístico SAS para computadora personal (SAS, 2004). De acuerdo con el diseño experimental, para el análisis se utilizó el modelo lineal siguiente (1):

$$Y_{ijkl} = \mu + M_i + F_j + E_k + MF_{ij} + ME_{ik} + FE_{jk} + MFE_{ijk} + \varepsilon_{ijkl}$$

Donde:  $Y_{ijkl}$ =variable respuesta del  $j$ -ésimo genotipo, con el  $k$ -ésimo tratamiento de escarificación, en el  $i$ -ésimo medio de cultivo;  $\mu$ =media general;  $M_i$ =efecto aleatorio del  $i$ -ésimo medio de cultivo (diez medios);  $F_j$ =efecto aleatorio del  $j$ -ésimo genotipo (nueve familias);  $E_k$ =efecto aleatorio del  $k$ -ésimo tratamiento de escarificación (con escarificación y sin escarificación);  $MF_{ij}$ =efecto de la interacción entre el  $j$ -ésimo genotipo en el  $i$ -ésimo medio de cultivo;  $ME_{ik}$ =efecto de la interacción entre el  $k$ -ésimo tratamiento de escarificación en el  $i$ -ésimo medio de cultivo;  $FE_{jk}$ =efecto de la interacción entre el  $k$ -ésimo tratamiento de escarificación en el  $j$ -ésimo genotipo;  $MFE_{ijk}$ =efecto de la interacción entre el  $k$ -ésimo tratamiento de escarificación en

el  $j$ -ésimo genotipo en el  $i$ -ésimo medio de cultivo y  $\varepsilon_{ijkl}$ =error aleatorio correspondiente a la observación  $Y_{ijkl}$ . Con este modelo se obtuvieron los estimadores de varianza y del error para cada característica de interés.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del tratamiento de escarificación en semillas, el medio de cultivo usado y el origen genético (familias) de las semillas resultaron significativos ( $p \leq 0.05$ ) para la germinación y contaminación de semillas germinadas *in vitro*, pero sus interacciones no fueron significativas, solo en el caso del tratamiento de escarificación y el medio de cultivo (Cuadro 1).

El tratamiento de escarificación tuvo un efecto significativo en las semillas germinadas y en la contaminación ( $p \leq 0.05$ ). La escarificación en semillas de *C. odorata* L. es el mejor tratamiento para lograr una germinación mayor a 52%, siendo superior en 9% al tratamiento testigo. Mientras que las semillas sin escarificación se contaminaron más y su porcentaje de germinación fue inferior a 45% (Cuadro 2).

Los resultados indicaron que escarificar las semillas de *C. odorata* es el mejor tratamiento para obtener la mejor germinación *in vitro*. Esto puede ser explicado por que según Wada y Reed (2011) la escarificación permite el paso de agua que inmediatamente hidratará el embrión, iniciando el proceso

**Cuadro 1.** Valor de P del análisis de varianza para las variables evaluadas en la germinación *in vitro* de semillas de *Cedrela odorata* L.

Fuente de variación	Germinación	Contaminación
Escarificación	0.0040**	0.0029**
Medio	0.0397**	0.1492
Familia	0.0001**	0.0001**
Escarificación*Medio	0.0001**	0.0001**
Escarificación*Familia	0.3620	0.6463
Familia*Medio	0.9997	0.9751
Escarificación*Medio*Familia	0.9999	0.9998

\*\* Con diferencias significativas ( $P \leq 0.05$ ).

**Cuadro 2.** Valores medio y error estándar del tratamiento de escarificación en los porcentajes de semillas *Cedrela odorata* L. germinadas y contaminadas.

Escarificación	Semillas (%)	
	Germinadas	Contaminadas
1	52.85 ± 2.47 a	20.4 ± 1.65 a
0	43.20 ± 2.60 b	26.4 ± 2.06 b
Promedio	48.02 ± 2.51	23.40 ± 1.92
CV (%)	5.5	6.2
Valor de F	8.54	9.12

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

1: Semillas con escarificación y 0: Semillas sin escarificación, CV: Coeficiente de variación.



de germinación. Lo cual coincide con Vilela y Ravetta (2001) que mencionan que todos los tratamientos de escarificación promovieron la germinación en *Prosopis* L. Mientras que Ribeiro y Costa (2015) encontraron que la escarificación aumentó el porcentaje de germinación en semillas de *Myrsine parvifolia* A. Chan et al. (2012) mencionan que la técnica de remojo en agua por 6 h de semillas de *Cedrela odorata* L. incrementa el porcentaje de germinación en un 15%.

El medio de cultivo usado en la germinación *in vitro* tuvo un efecto significativo en los porcentajes de germinación ( $p \leq 0.05$ ). El medio MS más carbón activado usado para germinar semillas de *C. odorata* *in vitro* fue el mejor tratamiento para lograr la mayor germinación, siendo superior al tratamiento testigo. Mientras que los medios de cultivo usados en la germinación de las semillas no tuvieron efectos significativos en los porcentajes de contaminación. Sin embargo, el medio MS y carbón activado presentó el menor porcentaje de contaminación (Cuadro 3).

Los resultados indicaron que el medio MS más carbón activado fue el que presentó la mayor germinación de semillas y menor contaminación. Para Flores et al. (2011) esto puede deberse a que el medio MS presenta altos contenidos de nitrógeno y potasio que seguramente ayudaron a la germinación, ya que según Mitra (1987) durante la germinación la mejor fuente de nitrógeno es el nitrato de amonio. Además Flores et al. (2011) mencionan que el carbón activado fomenta mayor aireación, además de establecer un medio oscuro que propicia el desarrollo de las raíces y absorbe sustancias inhibitoras indeseables, tales como el etileno o pigmentos tóxicos. Las especies forestales tienen diferentes necesidades de nutrientes para su germinación y desarrollo, por lo que es necesario evaluar el medio de cultivo más adecuado para cada

una de ellas. Salazar et al. (2012) mencionan que el medio MS es el más utilizado con éxito en muchas especies. Sin embargo, Rodríguez et al. (2014) mencionan que por la presencia de sales en el medio MS, en varias especies provoca la disminución del vigor y baja germinación debido a efectos osmóticos y tóxicos. Un medio rico en sales disminuye el potencial hídrico, lo que provoca menor disponibilidad de agua para las semillas. Cadenas y Villegas (2012) señalan que el medio MS presenta el potencial osmótico de mayor negatividad, dificultando la estrada de agua a las semillas. Mientras que Righavendra et al. (2010) señalan que el estrés osmótico potencia la

síntesis de ácido abscísico (ABA), que es uno de los causantes de la latencia en semillas. El origen genético conocido de las semillas en la germinación *in vitro*, tuvo un efecto significativo en los porcentajes de germinación y contaminación ( $p \leq 0.05$ ). Las familias 1, 6 y 39 de semillas de *C. odorata* usadas en la germinación *in vitro*, fueron las de mayor porcentaje promediando los demás factores; mientras que las semillas de la familia 59 presentaron los menores porcentajes de contaminación (Cuadro 4).

En el estudio se encontraron diferencias entre la respuesta de las familias

de semillas de *C. odorata* a la germinación *in vitro*. Según Uribe et al. (2008) puede ser explicado por la interacción del genotipo con la disponibilidad de nutrientes cuya proporción y cantidad varían de acuerdo a la fisiología del genotipo en particular. Coincide con lo encontrado por Marín et al. (2009) en las respuestas *in vitro* que variaron de un clon a otro en yuca (*Manihot esculenta* Crantz), donde registraron un efecto de genotipo en condiciones *in vitro*. Además Marini et al. (2010) mencionan que para la germinación *in vitro* de granos de polen de *Cucurbita máxima* Duchesne está determinada por la composición genética. Mientras que Navarro et al. (2008) en la germinación de semillas de

**Cuadro 3.** Valores medio y error estándar de los medios de cultivo en los porcentajes de semillas de *Cedrela odorata* L. germinadas y contaminadas.

Medio	Semillas (%)	
	Germinadas	Contaminadas
MS + CA	59.5 ± 2.11 a	17.3 ± 6.84 a
WPM + CA	54.4 ± 2.20 ab	25.1 ± 1.65 a
MS	51.6 ± 2.68 ab	19.6 ± 2.01 a
B5 + CA	51.6 ± 2.53 ab	25.1 ± 2.12 a
AD + CA	51.1 ± 2.70 ab	24.5 ± 1.92 a
AD	47.2 ± 2.30 b	22.8 ± 1.78 a
SH + CA	45.5 ± 2.66 bc	20.7 ± 1.76 a
SH	45.0 ± 2.04 bc	22.3 ± 1.44 a
WPM	41.6 ± 2.48 bc	31.2 ± 5.40 a
B5	32.7 ± 2.63 d	25.7 ± 1.85 a
Promedio	48.02 ± 2.52	23.43 ± 2.48
CV (%)	8.4	2.6
Valor de F	2.02	1.51

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

MS: Murashigue y Skoog, WPM: Medio Woody Plant, B5: Medio B5 o Gambor, AD: Agua destilada, SH: Medio Schenk y Hildebrand, CA: Carbón activado, CV: Coeficiente de variación.

**Cuadro 4.** Valores medio y error estándar del origen genético de las semillas de *Cedrela odorata* L en la germinación *in vitro*.

Familias	Semillas (%)	
	Germinadas	Contaminadas
1	66.5 ± 3.23 a	14.0 ± 3.24 ab
6	62.5 ± 2.87 a	13.5 ± 3.17 ab
39	61.2 ± 2.39 a	21.0 ± 2.35 ab
5	57.5 ± 2.21 ab	17.5 ± 2.78 ab
59	47.5 ± 2.61 abc	4.0 ± 2.16 a
99	46.5 ± 2.43 abc	21.0 ± 2.13 ab
45	38.0 ± 3.85 bc	33.5 ± 3.79 c
26	36.5 ± 2.97 c	36.5 ± 3.18 c
110	16.0 ± 3.24 d	49.0 ± 4.21 d
Promedio	48.02 ± 2.51	23.33 ± 2.37
CV (%)	9.7	8.4
Valor de F	11.96	21.64

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

CV: Coeficiente de variación.

genéticos y las facilidades prestadas para la realización de la presente investigación.

## LITERATURA CITADA

- Bueno M., Alzugaray C., Giubileo G., Severin C., Carnevale N. 2009. Evaluación de la calidad fisiológica de semillas de *Maytenus vitis-idaea* cultivadas *in vitro*. *Bosque* 30(3): 146-150.
- Cárdenas-Lara M. A., Villegas-Monter A. 2002. Potencial osmótico del medio de cultivo con diferentes componentes para la propagación *in vitro*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(2): 213-217.
- Chan-Quijano J. G., Ochoa-Gaona S., Pérez-Hernández I. 2012. Germinación y sobrevivencia de especie arbóreas que crecen en suelos contaminados por hidrocarburos. *Teoría y Praxis* 12: 102-119.
- Damon A., Aguilar-Guerrero E., Rivera L., Nikolaeva V. 2004. Germinación *in vitro* de semillas inmaduras de tres especies de orquídeas de la región del Soconusco, Chiapas, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 10(2): 195-203.
- Flores-Escobar G., Gil-Vásquez I., Colinas-León M. T., Mata-Rosas M. 2011. Propagación *in vitro* de la orquídea *Brassia verrucosa* Bateman Ex.Lindl. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 17(1): 5-8.
- Gamborg O. L., Miller R. A., Ojima K. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research* 50(1): 151-158.
- Gutiérrez-Nicolás F., Ravelo Á. G., Zárate R. 2008. Seed germination and *in vitro* propagation of *Maytenus canariensis* through regeneration of adventitious shoots from axillary and apical buds. *Biologia Plantarum* 52(1): 173-176.
- ISTA. 2005. International Seed Testing Association. International Rules for Seed Testing. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. 243 p.
- Magnitskiy S. V., Plaza G. A. 2007. Fisiología de semillas recalcitrantes de árboles tropicales. *Agronomía Colombiana* 25(1): 96-103.
- Mamo N., Mihretu M., Fekadu M., Tigabu M., Teketay D. 2006. Variation in seed and germination characteristics among *Juniperus procera* populations in Ethiopia. *Forest Ecology and Management* 225: 320-327.

*Mammillaria* no encontró diferencias entre tratamientos de escarificación pero si entre genotipos.

En la interacción de los factores (Cuadro 1) en la germinación *in vitro* se encontraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) para la interacción del tratamiento de escarificación y medio de cultivo. El tratamiento de escarificación y el medio de cultivo MS más carbón activado fueron la mejor combinación de tratamientos para la germinación *in vitro* de semillas de *C. odorata*. A la vez que ésta misma interacción presentó el menor porcentaje de contaminación. Puede ser explicado por que al realizar un corte a la testa, ya no se impide el paso de agua y comienza la absorción por el embrión, con lo que se resuelven los problemas del potencial osmótico negativo del medio MS, debido a la presencia de sales. Además, si al medio se le adiciona carbón activado el embrión de la semilla estará hidratado y con buena aireación, que al estar en contacto con nitrógeno y potasio del medio, es probable que se potencie la germinación.

## CONCLUSIONES

La escarificación de las semillas de *C. odorata* puestas a germinar en el medio MS con carbón activado, fue el tratamiento más efectivo con los más altos porcentajes de germinación. La técnica de escarificación en la germinación *in vitro* con el medio MS con carbón activado es una opción viable para obtener material vegetal aséptico para generar protocolos para la propagación masiva de la especie.

## AGRADECIMIENTOS

Al Campo Experimental El Palmar, y al Centro Nacional de Recursos Genéticos (CNRG) del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) por los materiales

- Marín A., Albarrán J. G., Fuenmayor F., Perdomo D. 2009. Evaluación del efecto de los reguladores de crecimiento en la regeneración *in vitro* de cinco cultivares élites de yuca (*Manihot esculenta* Crantz). UDO Agrícola 9(3): 556-562.
- Marini G. V., Arenas R. O., Togno L. S. 2010. Efecto de los medios de cultivo sobre la germinación *in vitro* de granos de polen en poblaciones de *Cucurbita máxima*. Horticultura Argentina 29(70): 18-21.
- Mitra G. C. 1987. Some aspects of asymbiotic nutrition of orchid's embryos. Journal of the Orchid Society of India 1(1-2): 91-103.
- Muellner A. N., Pennington T. D., Chase M. W. 2009. Molecular phylogenetics of Neotropical Cedreleae (mahogany family, Meliaceae) based on nuclear and plastid DNA sequences reveal multiple origins of "*Cedrela odorata*". Molecular Phylogenetics and Evolution 52: 461-469.
- Murashige T., Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology 15: 473-497.
- Navarro-Carvajal M. C., Cervantes-Olvera G., Lázaro-Castellanos J. O. 2008. Efecto de la escarificación de semillas en la germinación de dos especies de *Mammillaria*. Zonas Áridas 12(1): 97-105.
- Quinto L., Martínez-Hernández P. A., Pimente-Bribiesca L., Rodríguez-Trejo D. A. 2009. Alternativas para mejorar la germinación de semillas de tres árboles tropicales. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 15(1): 23-28.
- Raghavendra A., Gonugunta V., Christmann A., Grill E. 2010. ABA perception and signalling. Trends in Plant Science 15(7): 395-401.
- Ramírez-García C., Vera-Castillo G., Carrillo-Anzures F., Magaña-Torres O. S. 2008. El cedro rojo (*Cedrela odorata* L.) como alternativa de reconversión en terrenos abandonados por la agricultura comercial en el Sur de Tamaulipas. Agricultura Técnica en México 34(2): 243-256.
- Ribeiro J. N. S., Costa C. S. B. 2015. The effect of temperatura regulation on seed germination of the tropical tree *Myrsine parvifolia* A. DC near its southern limit. South African Journal of Botany 98: 128-133.
- Rodríguez M., Chacón M., Carrillo R. 2014. Efecto de la concentración y de los componentes del medio de cultivo MS sobre la germinación *in vitro* de *Ugni molinae*. Bosques 35(1): 119-122.
- Rodríguez-Rodríguez L., Díaz-Ramos A. 2011. Introducción a la embriogénesis somática en cedro (*Cedrela odorata* L.). Cuba Tabaco 12(1): 8-15.
- Ruiz-García R., Vargas-Hernández J. J., Cetina-Alcalá V. M., Villegas-Monter A. 2005. Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. Revista Fitotecnia Mexicana 28(4): 319-326.
- Sánchez-Monsalvo V., Salazar-García J. G., Vargas-Hernández J. J., López-Upton J., Jasso-Mata J. 2003. Genetic parameters and response to selection for growth traits in *Cedrela odorata* L. Revista Fitotecnia Mexicana 26(1): 19-27.
- Sánchez-Monsalvo V., Velázquez-Estrada C. 1998. Evaluación de dos insecticidas biológicos en el control de *Hypsiphylia grandella* (Zeller). Barrenador de brotes de las Meliaceae. Ciencia Forestal en México 23(83): 33-39.
- Salazar-Mercado S. A., Orlando-Cancino G. 2012. Evaluación del efecto de dos suplementos orgánicos en la germinación *in vitro* de orquídeas nativas de la provincia de Pamplona, Colombia. Revista Colombiana de Biotecnología 14(1): 53-59.
- SAS Institute. (2004) SAS/STAT 9.1 Guide for Personal Computers. SAS Institute Inc. Cary, N.C. 378 p.
- Schenk R. U., Hildebrandt A. C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Canadian Journal of Botany 50(1): 199-204.
- SEMARNAT. 2010. NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental -Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario oficial. p. 67.
- Smith M. A. L., McCown B. H. 1982. A comparison of source tissue for protoplast isolation from three woody plant species. Plant Science Letters 28: 149-156.
- Uribe M. E., Delaveau C., Garcés M., Escobar R. 2008. Efecto de asepsia y fitohormonas en el establecimiento *in vitro* de *Berberidopsis corallina*, a partir de segmentos nodales. Bosque 29(1): 58-64.
- Vilela A. E., Ravetta D. A. 2001. The effect of seed scarification and soil-media on germination, growth, storage, and survival of seedlings of five species of *Prosopis* L. (Mimosaceae). Journal of Arid Environments 48: 171-184.
- Wada S., Reed B. M. 2011. Optimized scarification protocols improve germination of diverse *Rubus* germplasm. Scientia Horticulturae 130: 660-664.





# EFECTO DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* EN VIVERO SOBRE SU DESARROLLO MORFOFISIOLÓGICO EN CAMPO

## EFFECT OF THE PRODUCTION SYSTEM OF *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* IN GREENHOUSES ON MORPHOPHYSIOLOGICAL DEVELOPMENT IN THE FIELD

Sánchez-Vásquez, O.<sup>1</sup>; Cetina-Alcalá, V.M.<sup>1\*</sup>; López-López, M.A.<sup>1</sup>; Trejo-Téllez, L.I.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Postgrado en Ciencia Forestales. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. <sup>2</sup>Profesor-Investigador Postgrado en Edafología, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México.

\*Autor de correspondencia: vicmac@colpos.mx

### RESUMEN

Para mejorar el éxito de los trabajos de conservación y restauración forestal se debe tomar en cuenta en una planta su calidad morfológica y fisiológica antes de llevarla a campo. Se evaluaron los efectos del proceso de la producción de planta de *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* en vivero y desarrollo en campo. bajo un diseño experimental completamente al azar, con arreglo factorial, se evaluó la tasa de adición nutrimental, convencional (FC) y exponencial (FE), tipo de envase: negro con drenaje en la base (NB), blanco con drenaje en la base (BB), negro con drenaje en la base y lateral (NL) y blanco con drenaje en la base y lateral (BL), sustrato: peat moss (Pm), peat moss-corteza de pino (Pm-Cp) y corteza de pino (Cp). Las variables fueron la altura (H), diámetro al cuello de la raíz (D), índice de esbeltez (IE), concentraciones de nutrimentos (N, P, K). Los análisis de varianza indicaron que los tres factores afectan significativamente las variables morfológicas evaluadas excepto el peso seco de 100 acículas. El abastecimiento nutrimental, tipo de envase y mezcla de sustrato tuvieron efectos significativos en la concentración foliar de N, P y K al cabo de un año de establecida la planta. La mayor concentración de N, P, K se obtuvo con FE (0.180%, 825.480 mg kg<sup>-1</sup> y 1608.174 mg kg<sup>-1</sup>) contra FC (0.171%, 804.346 mg kg<sup>-1</sup> y 1590.026 mg kg<sup>-1</sup>, de N, P y K, respectivamente). Respecto al tipo de envase, NB y NL lograron igualmente mayores concentraciones para N (NB=0.183 %), P (NL=863.260 mg kg<sup>-1</sup>) y K (NL=1672.379 mg kg<sup>-1</sup>). De igual forma, la mezcla de sustrato Pm-Cp y Pm alcanzaron mayores concentraciones de N (Pm-Cp=0.188%), P (Pm=860.193 mg kg<sup>-1</sup>) y K (Pm=1721.741 mg kg<sup>-1</sup>). En conjunto los envases NL y BB, y mezclas de sustrato Pm y Pm-Cp tuvieron efectos significativos sobre concentraciones foliares de N, P, K. La sobrevivencia fue de mayor al 90% en el 50% de los tratamientos. FE produce planta de mejor calidad y mayor carga nutrimental para reforestar sitios degradados. El envase NL o BB y mezcla de sustrato Pm-Cp promovieron mayores concentraciones foliares de N y P por efecto de concentración.

**Palabras clave:** restauración, abasto nutrimental, calidad de planta, pinos, Oaxaca.

## ABSTRACT

To improve the success of the forest conservation and restoration efforts, the morphological and physiological quality of a plant should be taken into account before taking it to the field. The effects of the production process of plants of *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* in greenhouses and field development were evaluated. Under a completely random experimental design, with factorial arrangement, the following were evaluated: nutritional, conventional (FC) and exponential (FE) addition rate, type of container: black with drainage on the base (NB), white with drainage on the base (BB), black with drainage on the base and lateral (NL), and white with drainage on the base and lateral (BL), substrate: peat moss (Pm), peat moss-pine bark (Pm-Cp) and pine bark (Cp). The variables were height (H), diameter at the neck of the root (D), slenderness index (IE), nutrient concentrations (N, P, K). The variance analyses indicated that the three factors affect significantly the morphological variables evaluated except the dry weight of 100 needles. The nutritional supply, type of container, and mix of substrate had significant effects on the foliar concentration of N, P and K after one year since the establishment of the plant. The highest concentration of N, P, K was obtained with FE (0.180%, 825.480 mg kg<sup>-1</sup> and 1608.174 mg kg<sup>-1</sup>) against FC (0.171%, 804.346 mg kg<sup>-1</sup> and 1590.026 mg kg<sup>-1</sup>, of N, P and K, respectively). Regarding the type of container, NB and NL achieved equally higher concentrations for N (NB=0.183 %), P (NL=863.260 mg kg<sup>-1</sup>) and K (NL=1672.379 mg kg<sup>-1</sup>). Likewise, the mixture of Pm-Cp and Pm substrate reached higher concentrations of N (Pm-Cp=0.188%), P (Pm=860.193 mg kg<sup>-1</sup>) and K (Pm=1721.741 mg kg<sup>-1</sup>). Together, the containers NL and BB, and substrate mixtures of Pm and Pm-Cp had significant effects on foliar concentrations of N, P, K. The survival was higher than 90 % in 50 % of the treatments. FE produces better quality plant and higher nutritional load to reforest degraded sites. The NL or BB container and the mixture of Pm-Cp substrate promoted higher foliar concentrations of N and P resulting from the effect of the concentration.

**Keywords:** restoration, nutritional supply, plant quality, pines, Oaxaca.

miento de los recursos naturales es maderable, comestible, medicinal, construcción de viviendas y libre pastoreo. Desafortunadamente, lo referente a conceptos como conservación, extinción y pérdida de la diversidad vegetal se encuentra muy poco desarrollado, haciendo evidente la falta de un plan de manejo forestal. De esta manera surge el interés de su población, la búsqueda de preservar sus recursos naturales. Para mejorar el éxito los diferentes trabajos de la planificación y ejecución de los programas de conservación y restauración forestal, se debe tomar en cuenta que una planta de calidad es necesaria para ser llevada a campo, de la misma manera en la que debe ser adecuada para el sitio al que será llevada, esto implica características morfológicas y fisiológicas convenientes. En el presente trabajo se evaluaron los efectos del proceso de la producción de planta de *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* en vivero, sobre su desarrollo en campo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Etapas de vivero.** Se utilizaron plantas de *Pinus greggii* Engelm. var. *australis*. La planta se produjo durante ocho meses, fueron producidas en envases rígidos de 245 cm<sup>3</sup>, con dos diferentes colores y drenajes, negro con drenaje en la base (NB), blanco con drenaje en la base (BB), negro con drenaje en la base y lateral (NL) y blanco con drenaje en la base y lateral (BL), con mezclas de sustrato a base de peat moss (Pm) y corteza de pino (Cp). El experimento en la etapa de vivero se estableció bajo un diseño experimental completamente al azar (DCA), con arreglo factorial 2x4x3, correspondientes a las combinaciones de los tres factores de estudio: tasa de adición nutrimental, dos niveles,

## INTRODUCCIÓN

**En México** se encuentran representados prácticamente todos los tipos de vegetación terrestre natural conocidos, y el ecosistema de bosques templados ocupa el 24%. El ritmo de pérdida de superficie de bosques templados ubica a México entre los países con mayor índice de deforestación (CONAFOR, 2009). El estado de Oaxaca posee una extensión de 3.3 millones de bosques de clima templado (Biodiversidad de Oaxaca, 2004). Anualmente se reforestan cerca de 8,000 ha para lo cual se producen del orden de los 11,000,000 de plantas (Grupo Mesófilo A.C., 2013). El estado ha sido una de las entidades sobresalientes en el sector forestal de México; es pionero en muchas actividades relacionadas con el manejo sustentable de los bosques y la silvicultura comunitaria (PEFO, 2008). En el municipio de San Cristóbal Amoltepec, Oaxaca, el aprovecha-

convencional (FC) y exponencial (FE), tipo de envase, cuatro niveles, NB, BB, NL BL y sustrato, tres niveles, convencional (Pm): peat moss, agrolita y vermiculita (60:20:20), proporción 1 (Pm-Cp): peat moss, corteza de pino, agrolita y vermiculita (30:30:20:20) y proporción 2 (Cp): corteza de pino, agrolita y vermiculita (60:20:20). La FC consistió en un abasto constante de nutrimentos a lo largo del ciclo de producción y se determinó a partir de la referencia del programa de fertilización para coníferas de crecimiento rápido utilizando fertilizantes Peters<sup>®</sup>, propuesto por CONARE-CONAFOR (Aldana y Aguilera, 2003). La FE se diseñó en base a un análisis de contenido inicial de N en tejidos, (plántula de 6 a 8 semanas, cuando ésta se establece y el riesgo de mortalidad es relativamente bajo) y un contenido final (planta de tamaño adecuado para trasplante). El procedimiento para calcular la dosis de Peters<sup>®</sup> 20N-10P-20K a aplicar en cada fecha fue el siguiente: A partir de la fórmula del modelo exponencial descrita por Miller y Timmer (1994).

$$NT=NS(ert-1)$$

donde  $NT$ =Aumento deseado en el contenido del nutrimento en la plántula durante  $t$  aplicaciones (mg).  $NS$ =Contenido inicial del nutrimento en la plántula (mg).  $r$ =Tasa de adición nutrimental (% día<sup>-1</sup>).  $e$ =Constante,  $t$ =Número de aplicación en la secuencia de aplicaciones de material fertilizante.

**Etapas de campo.** El experimento se realizó en terrenos comunales del municipio de San Cristobal Amoltepec, Distrito de Tlaxiaco, Oaxaca (17° 17' N y 97° 34' O), a una altitud de 2,320 m. De acuerdo con siste-

ma Köppen, el clima es del tipo C (Wo) (w)b(1) g que corresponde a templado subhúmedo con un régimen de lluvias en verano, precipitación media anual de 1215 mm y temperatura media anual de 15 °C. El terreno registró pendiente de 15%, exposición oeste, suelo profundo, superior a 40 cm, de textura arenosa con rasgos de tepetate. La cubierta vegetal es secundaria, pasto y matorral de aile (*Alnus* sp.). Planta proveniente de cada uno de los 24 tratamientos probados en la etapa de vivero, fue establecida en campo bajo un diseño experimental completamente al azar con tres réplicas quedando la unidad experimental. Se tomaron datos mensuales, hasta la conclusión del mismo, de: altura (H), diámetro al cuello de la raíz (D), supervivencia de los individuos plantados. Con estos datos se calculó el índice de esbeltez (IE) (Cano y Cetina, 2004).

$$IE = [(Altura(cm)) / (Diámetro(mm))]$$

A un año de la plantación se tomaron muestras foliares para estimar concentraciones de nitrógeno (N, %) mediante el método Kjeldahl, fósforo (P, mg kg<sup>-1</sup>) y potasio (K, mg kg<sup>-1</sup>) por digestión húmeda con ácido nítrico/perclórico. Los promedios de los datos obtenidos se organizaron en tablas de Microsoft Excel y el análisis estadístico se realizó a través de análisis de varianza y correlación, además de comparaciones de medias con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ), utilizando el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS). En relación a la concentración y contenido de N, P y K, se evaluó mediante el método gráfico de vectores desarrollado por Timmer y Stone (1978), interpretando los monogramas conforme a lo sugerido por López y Alvarado (2010) y Haase y Rose (1995).

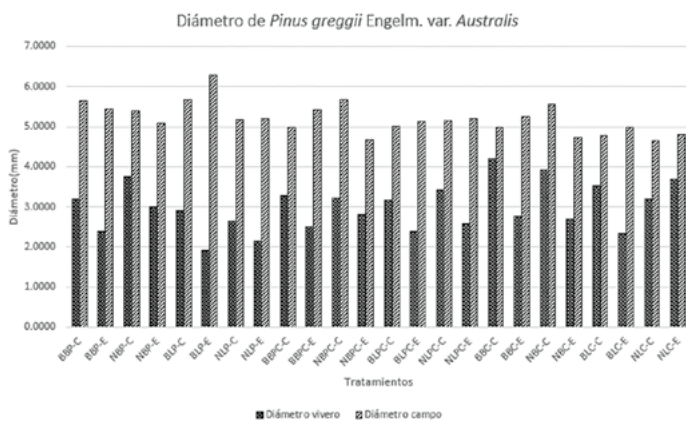
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las Figuras 1 y 2 muestran el incremento de las variables diámetro y altura a un año de establecida la plantación. Las combinaciones con sustrato Pm obtuvieron los diámetros más altos en campo, mientras que el tratamiento con combinación FC, NB y Cp, obtuvo una media mayor en altura respecto a campo (55.66).

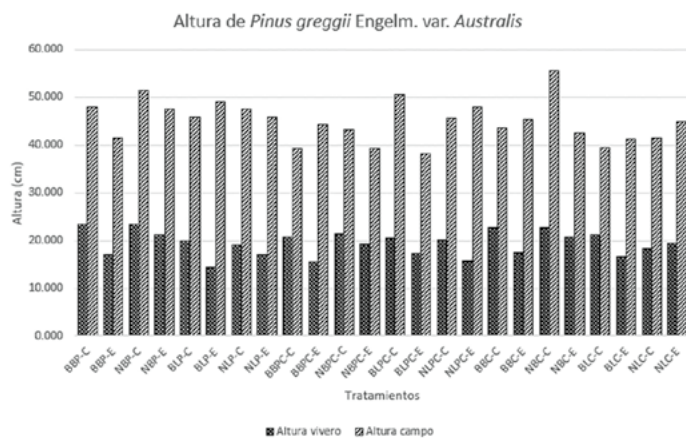
### Indicadores fisiológicos

Se analizaron los cambios inducidos por cada uno de los factores estudiados, sobre la concentración y contenido nutrimentales, así como la biomasa de 100 acículas. La Figura 3 muestra a la FE con mayor concentración de N y mayor biomasa en 100 acículas. Así también se muestra a los envases sobresalientes son NB con mayor concentración de N y el envase BB con una mayor acumulación de biomasa. En las mezclas de sustrato, resalta en la gráfica Pm-Pc, pues tiene una alta concentración de N y de los tres utilizados es el segundo en acumulación de biomasa, el valor más alto en biomasa lo obtuvo Cp.

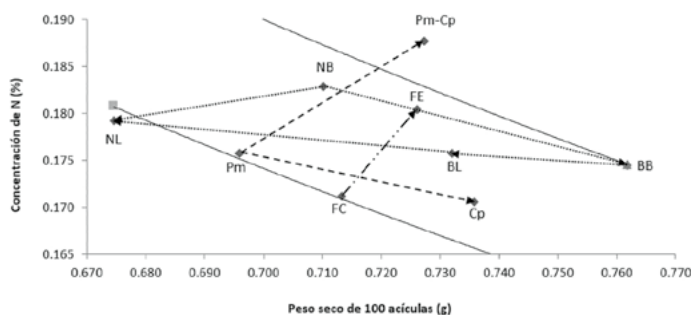
De acuerdo con la Figura 4, la FE promovió una mayor concentración de P, así como mayor acumulación de biomasa. En relación con los envases, destacaron NL y BB, el primero por mayor concentración de nutrimentos y el segundo por mayor biomasa acumulada, aunque el BL tuvo alta concentración de nutrimentos, al igual que la acumulación de biomasa, posicionán-



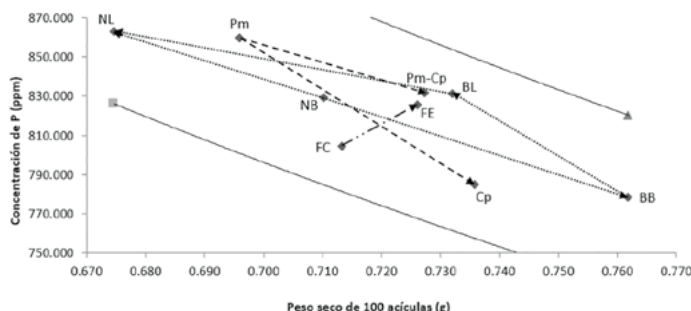
**Figura 1.** Diámetro tomado al final de la etapa de vivero 2014 y a un año del trasplante 2015 de *Pinus greggii* Engelm. var. australis.



**Figura 2.** Altura tomada al final de la etapa de vivero 2014 y a un año del trasplante 2015 de *Pinus greggii* Engelm. var. australis.



**Figura 3.** Nomograma de Timmer para nitrógeno foliar en *Pinus greggii* Engelm. var. australis establecida en campo.



**Figura 4.** Nomograma de Timmer para fósforo foliar en *Pinus greggii* Engelm. var. australis establecida en campo.

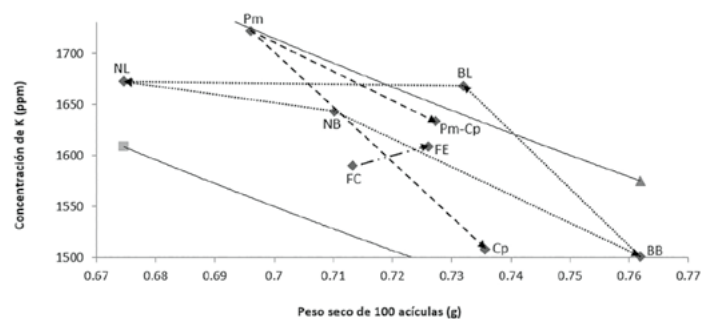
dolo en el segundo lugar en los dos factores. Referente a las mezclas de sustratos, Pm sobresalió de las tres mezclas con una elevada concentración de P y Cp con una mayor biomasa acumulada.

La Figura 5 muestra a la FE con mayor concentración de K y mayor biomasa de la misma manera que en las Figuras anteriores en 100 acículas. De los envases sobresalieron NL y BB, el primero por alta concentración de K y el segundo, por mayor acumulación de biomasa, sin embargo BL, se situó como segundo lugar en acumulación de biomasa y concentración de nutrientes. En las mezclas de sustrato, también resaltó Pm, por una alta concentración de K, y Cp por mayor acumulación de biomasa. Cabe mencionar que en las Figuras anteriores Cp tiene la menor concentración de nutrientes y el mejor en acumulación de biomasa en las plantas establecidas.

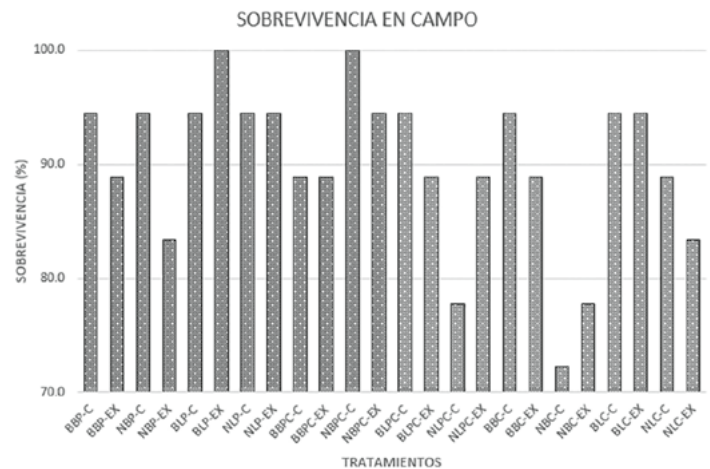
Respecto a la sobrevivencia, la Figura 6 muestra a los tratamientos (BLP-EX=FE, BL, Pm; NBPC-C=FC, NB, Pm-Cp) con un nivel del total de los individuos establecidos en campo, mientras que el tratamiento NBC-C (FC, NB, Cp) obtuvo el menor porcentaje de sobrevivencia (72%). La mayor mortalidad fue presentada al final del periodo de lluvias del primer ciclo en campo (diciembre de 2014), las principales causas detectadas de mortalidad fueron daño a la planta debido a la escorrentía presente en el sitio en la época de lluvias y pastoreo. Establecida la plantación se esperaría que la tendencia en vivero de diámetro, altura y variables fisiológicas evaluadas continuara. De acuerdo con los resultados en la etapa de vivero la combinación FC, NB y Cp, produjo plantas con mayores diámetros, alturas y pesos secos. En cuanto a concentración de nutrientes NL y Cp promovieron la concentración más alta, en el extremo superior de las recomendaciones hechas por Landis (1989). De acuerdo a lo anterior, las plantas no permanecieron con la misma tendencia fenológica después de establecida la planta en campo, pues la FE obtuvo la media más alta (8.6266) en cuanto a IE y de la misma manera NL (9.0179) y Cp (8.7840), sobresalen en esta relación altura/diámetro. Las mayores concentraciones de nutrientes, se presentaron en tratamientos con combinaciones FE, Pm-Cp y BB para N, FE, Pm y BB para P, y FE, Pm-Cp y BL para K, lo que indica que FE propició mayores concentraciones de N, P y K. Un año después de establecidas las plantas en campo presentaron altas concentraciones nutrimentales, lo cual significa que en los siguientes



años, podrían sostener un crecimiento elevado al removilizar los nutrimentos internos. De acuerdo con los resultados del presente estudio, el sistema de fertilización exponencial (FE) mejora el crecimiento de las plantas establecidas en campo, elemento fundamental para que la planta supere en competencia por luz a muchas malezas en un plazo corto, incrementando teóricamente, la supervivencia de la plantación. En teoría este sistema es eficiente debido a que en campo las malezas pueden hacer uso de los nutrimentos de la planta recién establecida (Salifu *et al.*, 2001; Timmer y Aidelbaum 1996). Fisiológicamente la tendencia en concentraciones (N=2.19%, P=1624.113 mg kg<sup>-1</sup> y K=4871.141 mg kg<sup>-1</sup>, vivero; N=0.180%, P=825.480 mg kg<sup>-1</sup> y K=1608.174 mg kg<sup>-1</sup>, campo) en FE permaneció. Sin embargo en cuanto a acumulación de biomasa la diferencia de los resultados en vivero fue evidente (PS180=0.601 g para vivero y PS100=0.726 g para campo), FE fue superior a FC, lo que indica que las reservas de nutrimentos en la planta tienen efecto directo en su desarrollo en campo, lo cual concuerda con lo encontrado por Buendía (2016) en *Pinus leiophylla* Schl. & Cham. Referente al envase, a diferencia de los resultados de vivero en los que BB obtuvo las mayores concentraciones de nutrimentos y NB la mayor acumulación de biomasa, en campo NB obtuvo la mayor concentración de N (0.183%), NL de P (863.260 mg kg<sup>-1</sup>), BL de K (1667.789 mg kg<sup>-1</sup>) y BB la mayor acumulación de biomasa (0.762 g). El sustrato Pm-Cp, continuó con la tendencia de la mejor opción, ya que se encuentra en el punto medio entre los demás sustratos, en cuanto a concentración de nutrimentos (N, P y K) y acumulación de biomasa. De acuerdo a lo anterior las concentraciones nutrimentales disminuyeron en un periodo de 12 meses. Sánchez (2014), observó que las variables de crecimiento relativo en diámetro y altura en *P. greggii* Engelm, muestran diferencias significativas al analizarse los factores de color y diseño de envase negro y el incremento en diámetro en contenedores blancos fue superior al de contenedores negros. La supervivencia se vio diferenciada en alrededor de 28% con respecto al de menor y mayor valor, 12 tratamientos tuvieron por arriba de 90%, pero la mayor registrada fue de 100% que dieron como resultado los tratamientos BLP-EX y NBPC-C, con interacciones FE, BL, Pm y FC, NB, Pm-Cp, respectivamente, datos muy por encima del 40.28% en bosque templado reportado por UACH-CEC (2011). Los individuos tuvieron un comportamiento diferente en función de los resultados obtenidos morfológica y fisiológicamente en vi-



**Figura 5.** Nomograma de Timmer para potasio foliar en *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* establecida en campo.



**Figura 6.** Medias sobrevivencia total en los diferentes tratamientos en *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* establecida en campo.

vero. De acuerdo a López y Estañol (2007) los individuos que llevan altas concentraciones de nutrimentos llegan a incrementar de manera evidente su desarrollo a causa del efecto de dilución. Salifu y Timmer (2003) indican que la retraslocación de N y P podría ser particularmente relevante en especies establecidas en suelos pobres de nutrimentos. Los contenidos de nutrimentos no presentan diferencias estadísticas significativas a un año de su establecimiento. La única diferencia significativa se dio en la evaluación del factor envase evidentemente hubo buena respuesta a las cargas nutrimentales que llevaban los individuos establecidos en el área de campo. Salifu y Timmer (2003) registraron en un trasplante a campo de *Picea* sp., una compensación del efecto de baja fertilidad del suelo en el crecimiento de las plántulas cuando éstas tuvieron adecuadas reservas de nutrimentos.

## CONCLUSIONES

a FE, el sustrato Pm-Cp y los envases NL y BB dieron como resultado las mayores concentraciones nutrimentales y pesos secos. BLP-E y NBC-C obtuvieron

las mayores medias para las variables morfológicas (D y H), con las combinaciones FE, BL y Pm, y FC, NB y Cp, respectivamente. La supervivencia respecto a la mayoría de los tratamientos, fue de más del 80%, resultado de los tres factores que interactuaron en la producción en vivero (tasa de adición nutrimental, tipo de envase y sus-trato). De manera general FE, BB y Pm-Cp produjeron plantas con mejores características en su desarrollo en campo (H, D e IE), aun cuando las diferencias no fueron significativas estadísticamente, a un año de establecidas en campo.

## LITERATURA CITADA

- Aldana B.R., Aguilera R.M. 2003. Procedimientos y cálculos básicos, útiles en la operación de viveros que producen plantas en contenedor. CONAFOR. Programa Nacional de Reforestación. 45 p.
- Buendía V.M.V. 2016. Sustratos y tasas de adición nutrimental en vivero afectan la calidad de plántula y su desarrollo inicial en campo. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México. 55 p.
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2009. Restauración de ecosistemas forestales. Guía básica para comunicadores. Primera edición. Zapopan, Jalisco, México. 63 p.
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2004. Oaxaca es forestal, desarrollo en la diversidad. Gerencia Regional Pacífico Sur. Oaxaca, Oaxaca.
- Grupo Mesófilo A.C. 2013. Oaxaca, diagnóstico del sector forestal. Oaxaca, Oaxaca. 43 p.
- Haase D.L., Rose R. 1995. Vector analysis and its use for interpreting plant nutrient shifts in response to silvicultural treatments. *Forest Science*. 41 (1): 54-66.
- López L.M.A., Estañol B.E. 2007. Detección de deficiencias de hierro en *Pinus leiophylla* a partir de los efectos de dilución y concentración nutrimental. *Terra Latinoamericana*. 25(1): 9-15.
- López L., M.A., Alvarado J.L. 2010. Interpretación de nomogramas de análisis de vectores para diagnóstico nutrimental de especies forestales. *Madera y Bosques* 16(1):99-108.
- Miller B.D., Timmer V.R. 1994. Steady-state nutrition of *Pinus resinosa* seedlings: response to nutrient loading, irrigation and hardening regimes. *Tree Physiology* 14: 1327-1338.
- Salifu K.F., Timmer V.R. 2001. Nitrogen retranslocation response of *Picea mariana* seedling to nitrogen supply. *Soil Science Society of America Journal*. 65: 905-913.
- Salifu K.F., Timmer V.R. 2003. Optimizing nitrogen loading of *Picea mariana* seedlings during nursery culture. *Can J For Res* 33:1287-1294.
- Sánchez A.H. 2014. El diseño y color de contenedor afecta el desarrollo radical de tres especies de pino. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, estado de México. 76 p.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2008. Programa estratégico forestal del estado de Oaxaca (PEFO) 2007-2030. Oaxaca, Oaxaca. 253 p.
- Timmer V.R., Stone E.L. 1978. Comparative foliar analysis of young balsam fir fertilized with nitrogen, phosphorus, potassium and lime. *Soil Science Society and American Journal*, 42: 125-130.
- Timmer V.R., Aidelbaum A.S. 1996. Manual for exponential nutrient loading of seedlings to improve outplanting performance on competitive forest soils. *Nat. Res. Can., Canadian Forest Service-Sault Ste. Marie; Sault Ste., Marie, ON. NODA/NFP Technical Report TR-25*. 21 p.
- Universidad Autónoma Chapingo-Centro de Educación Continua. 2011. "Evaluación de apoyos de reforestación del PROCOREF 2009-2011". México Recuperado de: [http://www.semarnat.gob.mx/archivosanteriores/programas/evaluaciones/2013/Documents/complementarias/Evaluacion\\_Complementaria\\_PROCOREF\\_S122.pdf](http://www.semarnat.gob.mx/archivosanteriores/programas/evaluaciones/2013/Documents/complementarias/Evaluacion_Complementaria_PROCOREF_S122.pdf)



# ORGANOGENESIS DIRECTA DE YEMAS FLORALES DE *Musa* sp., Y VARIACIÓN SOMACLONAL EVALUADA POR MARCADORES MOLECULARES

## DIRECT ORGANOGENESIS OF FLORAL BUDS AND SOMACLONAL VARIATION OF *Musa* sp. EVALUATED BY MOLECULAR MARKERS

López-Gómez, P.<sup>1</sup>; Youssef, M.<sup>2</sup>; Kú-Cauich, J.R.<sup>3</sup>; Enriquez-Valencia, J.A.<sup>3</sup>; Iracheta-Donjuan, L.<sup>1</sup>; Escobedo-GraciaMedrano R.M.<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Programa de Biotecnología. INIFAP. Km 18 Carretera Tapachula-Cacahoatán, Tuxtla Chico, Chiapas, México. <sup>2</sup>Universidad de Assiut, Egipto. <sup>3</sup>UBBM-CICY Calle 43, 130, Colonia Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán.

\*Autor responsable: escobedo@cicy.mx

### RESUMEN

En este estudio se investigó la variación somaclonal de plantas regeneradas *in vitro* por organogénesis directa (OD) a partir de explantes de yemas florales en proliferación, de *Musa* sp., al utilizar marcadores tipo secuencias internas de regiones simples repetidas (ISSR), polimorfismo amplificado de secuencias relacionadas (SRAP) y polimorfismo amplificado dirigido a intrones (ITAP). Las flores masculinas inmaduras de *M. a. x M. b.* (AAB, Silk) cv. Manzano sirvieron de explante inicial para la regeneración *in vitro* de plantas mediante OD. La formación de yemas florales en proliferación, en promedio fue de 5.9 yemas explante<sup>-1</sup>. Estas yemas se emplearon para inducir la diferenciación de brotes vía OD. Se formó 4.4 brotes por explante. El empleo de cebadores ISSR, combinaciones SRAP y combinaciones ITAP, reveló un polimorfismo entre plantas regeneradas por OD de 36.3, 19.5 y 13.7%, respectivamente. En este trabajo se discuten los factores evaluados para la regeneración *in vitro* vía OD y su influencia en la variación observada.

**Palabras clave:** marcadores moleculares, ISSR, SRAP, ITAP, *in vitro*.

### ABSTRACT

In this study the somaclonal variation of plants regenerated *in vitro* through direct organogenesis (DO), from floral bud explants of *Musa* sp. in proliferation, was researched, by using inter simple sequence repeats (ISSR), sequence repeats amplified polymorphism (SRAP), and intron directed amplified polymorphism (ITAP) markers. The immature masculine flowers of *M. a. x M. b.* (AAB, Silk) cv. Manzano served as initial explant for the *in vitro* regeneration of plants through DO. The formation of floral buds in proliferation was in average 5.9 buds explant<sup>-1</sup>. These buds were used to induce the differentiation of buds via DO. 4.4 buds were formed per explant. The use of ISSR starters, SRAP combinations and ITAP combinations revealed polymorphism between plants regenerated through DO of 36.3, 19.5 and 13.7%, respectively. In this study, the factors evaluated for the *in vitro* regeneration via DO and its influence in the variation observed are discussed.

**Keywords:** molecular markers, ISSR, SRAP, ITAP, *in vitro*.



## INTRODUCCIÓN

La propagación de variedades comestibles de banano (*Musa* sp.) se lleva a cabo principalmente de manera vegetativa, usando hijuelos provenientes de campo. Como alternativa se ha utilizado el cultivo de tejidos vegetales vía organogénesis directa, debido a que ha mostrado mayor estabilidad genética. Aunque, reportes recientes sostienen lo contrario, ya que parece depender del genotipo, del tiempo en el cultivo *in vitro* y los reguladores de crecimiento (RC) utilizados (Mohamed 2007; Bairu *et al.*, 2006). Pérez-Hernández y Rosell-García 2008, describieron una metodología en *Musa acuminata* Colla, AAA, subgrupo Cavendish, cv. Dwarf Cavendish, que considera el uso de flores masculinas jóvenes, a partir de las cuales se induce la formación de nuevas yemas florales y su proliferación *in vitro*. Estos explantes han mostrado potencial organogénico (Darvari *et al.*, 2010), sin embargo, es necesario evaluar dicha metodología en cultivares de interés. La variación somaclonal, es un factor común en varios protocolos de micropropagación de banano (Bairu *et al.*, 2006). Se han reportado variantes somaclonales en éste, con características deseables, tales como el CIEN BTA-03 (AAAA), cuyos frutos son más grandes y presenta resistencia a Sigatoka amarilla respecto a su parental *M. a.* (AAA) cv. Williams (Emaldi *et al.*, 2004; Giménez *et al.*, 2001); y a este respecto, el uso de marcadores moleculares representa uno de los métodos adecuados para la detección temprana de variantes somaclonales (Aremu *et al.*, 2013). En banano se han evaluado los ISSR (regiones internas de secuencias simples repetidas), los cuales son utilizados por su alta naturaleza discriminativa (Chandrika *et al.*, 2010). Otras técnicas como el polimorfismo amplificado de secuencias relacionadas (SRAP), el cual se basa en los marcos de lectura abiertos (ORFs), tiene como ventajas el ser multilocus y de características multialelicas, altamente rentable y no es específico para una especie (Li y Quiros, 2001). En tanto que, los marcadores ITAP amplifican regiones de intrones y regiones de secuencias de empalme intrón-exón. El polimorfismo revelado por esta técnica puede atribuirse a la variabilidad en la longitud de los intrones y a mutaciones puntuales por los sitios de unión de los cebadores ITAP (Xiong *et al.*, 2013). El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la respuesta organogénica de yemas florales en proliferación y el estudio de la variación somaclonal con marcadores ISSR, SRAP e ITAP en regenerantes *in vitro* en el cv. Manzano (AAB) de *Musa* sp.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Regeneración *in vitro* vía organogénesis directa (OD)

Se utilizaron inflorescencias masculinas de *M. acuminata* × *M. balbisiana*, AAB, cv. Manzano de la colección de musáceas del CICY, ubicada en el Sitio Experimental Uxmal del INIFAP (INIFAP-Uxmal). Las inflorescencias se lavaron y desinfectaron de acuerdo a lo descrito por Youssef *et al.* (2010). La mano floral masculina por cada posición se sembró en medio MS (Murashige y Skoog, 1962), adicionado con 2.5  $\mu\text{M}$  tiazurón (TDZ), 1  $\mu\text{M}$  ácido 3-indolacético, 87 mM de sacarosa, pH ajustado a 5.7 y 2 g L<sup>-1</sup> de Gelrite®; 25 mL del medio en un frasco con capacidad de 100 mL. Los frascos con los medios de cultivo se esterilizaron en autoclave a 120 °C durante 20 min. Se sembraron cuatro piezas por frasco, tres frascos en total. La incubación fue en oscuridad a 24±2 °C. Se realizaron subcultivos al mismo medio cada dos

semanas, hasta la aparición de nuevas yemas florales. Posteriormente se realizaron subcultivos cada mes. En esta etapa se evaluó el número de yemas florales por explante a los 30, 45 y 75 días de establecimiento. Se evaluaron tres concentraciones de TDZ (1, 2.5 y 5  $\mu\text{M}$ ) en el medio de inducción. Se emplearon yemas florales en proliferación. Se tuvieron cinco réplicas por tratamiento, y cada réplica fue un frasco con cinco piezas de yemas florales. La variable que se evaluó fue el número de yemas florales a 60 días después de la siembra en condiciones de oscuridad a 24±2 °C. El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar y se aplicó análisis de varianza y comparación de medias con la prueba de Tukey con un nivel de significancia del 0.05%, con el programa SAS System 2004 versión 9.0.

### Proliferación, crecimiento, enraizamiento y aclimatación de brotes

Los brotes obtenidos de la fase anterior, se transfirieron a un medio de crecimiento (sales minerales y vitaminas de MS, adicionado con 1  $\mu\text{M}$  AIA, 1  $\mu\text{M}$  6-bencilaminopurina (BAP), 87 mM sacarosa y 1.47 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Los brotes se inocularon en frascos de 100 mL de capacidad con 25 mL del medio. Con la finalidad de conocer la capacidad proliferativa de los brotes en este medio, se evaluó el número de brotes por explante a los 60 d después de la siembra.

Los brotes obtenidos de la fase de crecimiento se transfirieron a un medio de enraizamiento (MS con 87 mM sacarosa y 1.47 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Se utilizaron recipientes Magenta® de 375 mL de capacidad con 50 mL del medio. Los materiales sem-



brados se cubrieron con plástico celofán de 15×25 cm. El medio de crecimiento y de enraizamiento se ajustaron a un pH de 5.8 y gelificado con 2 g L<sup>-1</sup> de Gelrite®. La etapa de crecimiento y enraizamiento fueron en oscuridad por cuatro días y posteriormente se transfirieron a condiciones de fotoperiodo (16h:8h, luz: oscuridad) por 30 d. las plántulas con buen desarrollo después de la fase de enraizamiento, se lavaron y para prevenir contaminación el área radical se desinfectó con bactericida-fungicida [2 g L<sup>-1</sup> de oxitetraciclina y 1 mL L<sup>-1</sup> de propiconazol (Tilt 250CE®)]. Las plántulas se transfirieron a sustratos a base de suelo orgánico y turba de esfagna relación 3:1 (v/v) en bolsas de vivero (13×14 cm), a las que se les colocaron en la parte superior un domo de plástico celofán. Estos domos se retiraron de manera gradual, en condiciones de invernadero.

#### Análisis con marcadores moleculares para determinar variación somaclonal

Se utilizaron 100 mg de hojas cigarro de 25 plantas regeneradas. El ADN genómico total se extrajo de acuerdo a lo descrito por Youssef *et al.* (2015). La concentración de ADN se determinó por espectrofotometría. Con las 25 plantas se hicieron grupos, conformados por cinco plantas regeneradas, por lo que se tuvieron cinco grupos. El ADN genómico de cada grupo, se amplificó por PCR con cebadores ISSR, SRAP e ITAP.

#### Condiciones de PCR para cebadores ISSR

En un volumen final de 20  $\mu$ l contuvo 1 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup> del templado de ADN genómico, 1X amortiguador de PCR, 0.25 mM dNTP's, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.8 pmol de cebador ISSR,

0.06 U  $\mu$ L<sup>-1</sup> Taq DNA-polimerasa y 12.25  $\mu$ L de agua libre de nucleasas. La reacción de amplificación consistió en desnaturalización a 94 °C durante 5 min (1 ciclo), expansión con 35 ciclos de 30 s, desnaturalización a 94 °C, alineamiento a temperatura variable de acuerdo al cebador por 30 s y extensión a 72 °C durante 2 min, seguido de una extensión final por 5 min a 72 °C, en un termociclador de gradiente (Eppendorf).

#### Condiciones de PCR para la selección de cebadores SRAP e ITAP

En un volumen final de 20  $\mu$ l contuvo 1.25 ng  $\mu$ L<sup>-1</sup> del templado de ADN genómico, 1X amortiguador de PCR, 0.25 mM dNTP's, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.8 pmol de cebador sentido y antisentido (Me y Em para SRAP; Em e ltrpr para ITAP), 0.06 U  $\mu$ L<sup>-1</sup> Taq DNA-polimerasa y 12.25  $\mu$ L de agua libre de nucleasas. La reacción de amplificación consistió en desnaturalización a 94 °C durante 2 min (1 ciclo), pre-amplificación con 5 ciclos de 94 °C por 30 s, 35 °C durante 30 s y 72 °C durante 1 min; seguido de 35 ciclos a 94 °C durante 30 s, alineamiento a 50 °C durante 30 s y extensión a 72 °C durante 1 min, seguido de una extensión final durante 5 min a 72 °C, en un termociclador de gradiente (Eppendorf).

#### Electroforesis del ADN producto de la amplificación

Se mezclaron 2  $\mu$ L del producto de PCR con 3  $\mu$ L de colorante de carga [2X DNA 10 mM Tris-HCl pH 7.6, 0.03% (p/v) azul de bromofenol, 0.03% (p/v) xilen cianol FF, 60% de glicerol (v/v), 60 mM EDTA]. Se analizaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.8%. Se cargó un carril del gel con el marcador de 100 a 3000 pb (Thermo Scientific GenRuler 100 bp Plus DNA Ladder, ready-to-use). El gel fue corrido con amortiguador TBE 1X a 7V cm<sup>-1</sup> durante 2.5 h. Los geles se analizaron bajo luz UV y se fotografiaron con un equipo DNR Bio-Imaging Systems (MiniBIS Pro).

#### Análisis de datos

Las bandas ISSR, SRAP e ITAP de igual tamaño y movilidad generadas por el mismo cebador fueron tratadas como idénticas para ese locus. Se construyó una matriz binaria con la ausencia (0) y presencia (1) de bandas. Con el programa NTSYS-PC (versión 2.21q), se calculó la similitud genética con el coeficiente de Jaccard. Los valores de similitud de Jaccard se utilizaron para generar un dendrograma mediante el procedimiento UPGMA (Unweighted Pair-Group with Arithmetic Mean). Este último se sustentó con un bootstrapping de 1000 repeticiones con el programa FreeTree. Con el análisis de componentes principales se generó un gráfico de dispersión en 3D con NTSYS-PC. Se calcularon el contenido de información polimórfica

$$[PIC=2f_i(1-f_i)]$$

donde  $f_i$ =frecuencia con la que están presentes los fragmentos del marcador] y el poder de resolución

$$[RP=\sum I/b]$$

donde  $I/b=1-[2|0.5-p|]$  y  $p$ =proporción de accesiones que contienen una banda  $I$ ] (Roldán-Ruiz *et al.*, 2000; Prevos y Wilkinson 1999).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Regeneración *in vitro* vía organogénesis directa (OD)

En la inducción de yemas florales *in vitro*, se obtuvieron 3.9, 5.5 y 5.9 brotes por explante a los 30, 45 y 75 d, respectivamente (Figura 1a), similares al reportado por Darvari *et al.*, (2010), quienes obtuvieron 6 y 6.5 yemas por explante en *M. a.* × *M. b.* (AAB) cvs. Nangka y Rastali respectivamente. Esta similitud en respuesta puede atribuirse a que estos cultivares comparten el mismo constituyente genómico.

### Concentración de TDZ para el mantenimiento de la proliferación de yemas florales

Cuando se evaluó la concentración de TDZ adecuada para el mantenimiento de las yemas florales en proliferación, no se encontraron diferencias significativas por efecto de la concentración de TDZ (Tukey,  $P \leq 0.05$ ), sin embargo, la concentración adecuada fue  $5 \mu\text{M}$  TDZ con 11.2 yemas por explante en promedio. Darvari *et al.* (2010), sugieren el uso de  $2.7 \mu\text{M}$  TDZ, pues obtuvieron 6 y 6.5 en los cvs. Rastali y Nangka de constitución genómica idéntica al cv. Manzano (AAB).

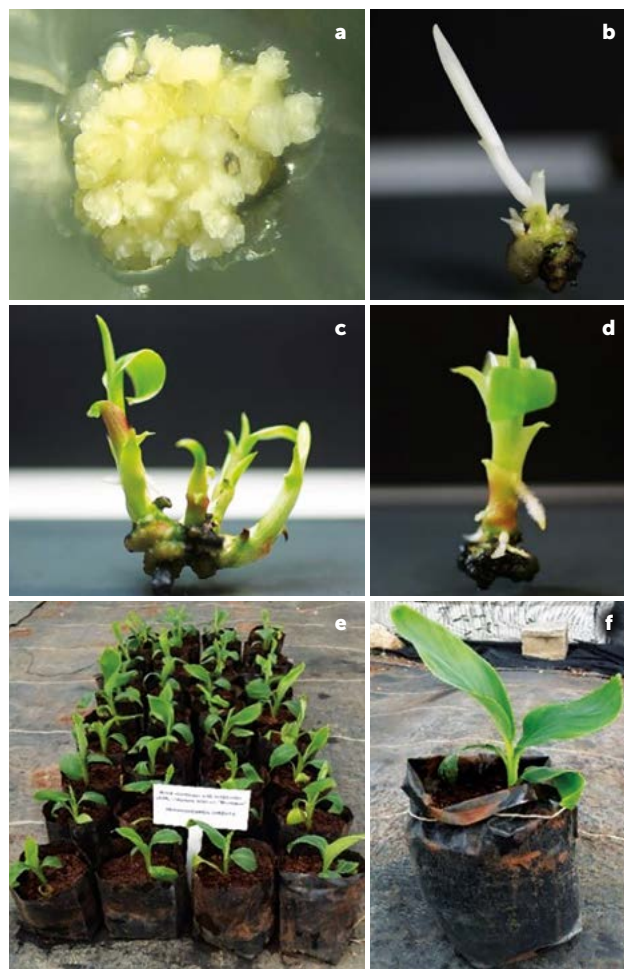
### Proliferación de brotes

Al emplear las yemas florales en proliferación para la inducción de brotes, se formaron 4.4 brotes por explante (Figura 1b y c) en el medio MS, con  $1 \mu\text{M}$  de AIA,  $1 \mu\text{M}$  BAP, 87 mM de sacarosa y 1.47 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Este mismo medio

ha sido empleado de manera general para la proliferación de brotes al hacer uso de yemas laterales de meristemos de rizoma. Cuando se usó un medio a base de MS suplementado con  $9.3 \mu\text{M}$  kinetina y  $2.7 \mu\text{M}$  ANA en *M. a.* (AAA) cv. Vaibalha se obtuvieron 3.5 brotes por explante (Hrahsel *et al.*, 2014). Mientras que Darvari *et al.* (2010), al evaluar diversos cultivares sugieren el uso de diferentes tipos y concentraciones de citocininas en el medio de proliferación, en función de la composición genómica del cultivar. La consecución hasta la regeneración de plantas por OD se puede visualizar en las Figuras 1 e y f.

### Análisis molecular con marcadores moleculares ISSR, SRAP e ITAP de regenerantes *in vitro* por OD del cv. Manzano

Con ISSR, se amplificaron de 9 a 12 bandas, con un total de 55, de los cuales de 2 a 5 fueron polimórficas, con un total de 20. El porcentaje de polimorfismo varió desde 22.2% con el cebador UBC-848 hasta 45% con los cebadores UBC-817 y UBC-841. El polimorfismo total de plantas regeneradas por OD con ISSR fue de 36.4%. El valor de PIC varió de 0.08 a 0.32 y el RP de 1.2 a 5.1. Con los datos generados con ISSR y al aplicar el procedimiento UPGMA, se observó similitud entre plantas regeneradas por OD que fue desde 0.67 a 0.97. Con las combinaciones SRAP se amplificaron un total 41 bandas, que fue de 13 a 15, de los cuales ocho fueron polimórficas. El polimorfismo varió de 7.7% a 33.3%, generados por las combinaciones Me4/Em7 y Me1/Em7, respectivamente, con un total de 19.5%. Los valores de PIC y RP para estos cebadores variaron de 0.02 a 0.12 y 0.4 a 2.8 respectivamente. La similitud con SRAP fue de 0.86 a 0.95. La combinación de cebadores ITAP detectó polimorfismo que varió de 0 a 62.5% con la combinación Em3/ltpr2 y Em8/ltpr1, respectivamente, con un total de 13.7%. Producto de la amplificación de 102 bandas, de los cuales 14 fueron polimórficas. Los valores de PIC variaron de 0 a 0.12 y los de RP fueron de 0 a 3.2. La similitud entre plantas regeneradas por OD con ITAP varió de 0.87



**Figura 1.** Regeneración *in vitro* de plantas por OD; a) yemas florales en proliferación; b y c) inducción de brotes múltiples; d) brote desarrollado; e) plántulas en fase de aclimatación y f) planta de tres meses de edad empleado para análisis molecular.

a 0.99. El polimorfismo total entre plantas regeneradas por OD al combinar los tres marcadores evaluados fue de 21.2% (Cuadro 1). La similitud al usar el coeficiente de Jaccard de los tres tipos de marcadores fue de 0.83 a 0.92 entre plantas regeneradas por OD (Figura 2a). La gráfica de dispersión basado en el análisis de coordenadas principales muestra la relación que hay entre los grupos de plantas regeneradas por OD. El grupo de plantas de OD1 se muestra como punto de referencia para la relación que hay con el resto de los grupos (Figura 2b). Al contrastar el polimorfismo observado por los tres sistemas de marcadores entre plantas regeneradas por OD, se obtuvieron cifras de 36.4, 19.5 y 13.7% con ISSR, SRAP e ITAP, respectivamente. Estos datos son mayores a los observados en el cv. Nanjanagudu Rasabale (AAB), ya que al regenerar plantas por OD, pero con el uso de ápices de brotes de hijuelos de espada, se observaron patrones homogéneos con el uso de 12 y 50 cebadores ISSR y RAPD, respectivamente (Lakshmanan *et al.*, 2007). Por su parte, Ray *et al.* (2006) encontraron alta estabilidad genética en el cv. Martaman (AAB) en plantas micropropagadas por OD con el empleo de 12 cebadores ISSR. En contraste, estos mismos autores reportaron mayor detección de polimorfismo con los cebadores ISSR comparados con los cebadores de RAPD. El polimorfismo encontrado en este trabajo está dentro de la media del rango de 23.7% a 55.9% de polimorfismo con el uso de 10 cebadores ISSR reportado por Aremu *et al.* (2013) para el cv. Williams (AAA) con el uso de diferentes citocininas. A este respecto se sugiere que tanto el tipo de citocininas como el ciclo de subcultivos contribuyen al grado de variación encontrada. En general hay pocas referencias en cuanto al nivel de polimorfismo entre plantas regeneradas por OD al utilizar explantes florales (0%

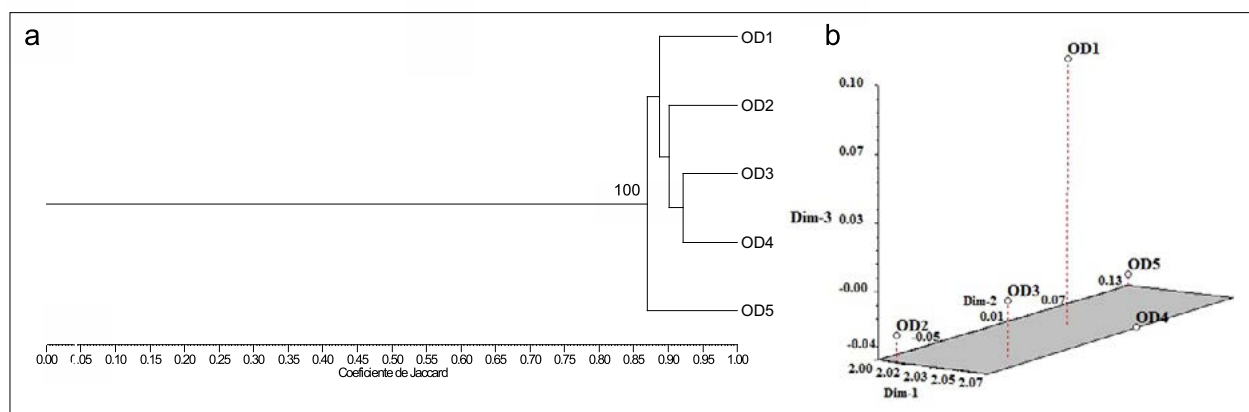
de polimorfismo con RAPD e ISSR) (Hrahsel *et al.* 2014). Por lo que, este es uno de los pocos trabajos en el que se estudia la variación somaclonal de plantas regeneradas por OD a partir de yemas florales del cv. Manzano.

El nivel de polimorfismo revelado en plantas regeneradas por OD se puede atribuir a diversos factores; uno de ellos pudo haber sido el uso del 2.5  $\mu\text{M}$  de TDZ durante la inducción y proliferación de yemas florales, pues en *M. a.xM. b.* (AAB) cv. CEMSA 3/4, al utilizar un rango de 1.3 a 22.2  $\mu\text{M}$  TDZ, se observaron brotes morfológicamente anormales. Manjula *et al.* (2014) observaron anomalías morfológicas y variación de 11% a 20% en el cv. Rajapari (AAB) al emplear 1  $\mu\text{M}$  TDZ. Así mismo el uso de 8.9  $\mu\text{M}$  BA con 1  $\mu\text{M}$  AIA para la obtención de brotes múltiples pudo influenciar el polimorfismo. Se han descrito diferentes efectos de las citocininas en la inducción de VS en *Musa*. Por ejemplo, Giménez *et al.* (2001) reportaron la obtención del soma clon CIEN-BTA-03 al utilizar 66.6  $\mu\text{M}$  BA y Martin *et al.* (2006) del soma clon CUDBT-B1 con el uso de 13.3  $\mu\text{M}$  de BA. Bairu *et al.* (2006) reportaron 55% de polimorfismo con marcadores RAPD al utilizar de 11.1 a 22.2  $\mu\text{M}$  BA en el cv. Zelig (AAA).

Finalmente, será necesario evaluar el comportamiento de las plantas regeneradas a nivel de campo para ver si la variación observada se correlaciona con alguna variación fenotípica para alguna característica de utilidad, tal como resistencia a factores bióticos o abióticos o bien mayor rendimiento y calidad del fruto.

## CONCLUSIONES

Se logró la regeneración de plantas por organogénesis a partir de



**Figura 2.** a: dendrograma de similitud genética obtenido del análisis de conglomerados con el procedimiento UPGMA, con el coeficiente de Jaccard de regenerantes *in vitro* por OD mediante marcadores ISSR-SRAP-ITAP. b: gráfico de dispersión que muestra la relación entre plantas regeneradas por OD basado en el análisis de coordenadas principales con marcadores ISSR-SRAP-ITAP.

**Cuadro 1.** Características, porcentaje de polimorfismo (P), contenido de información polimórfica (PIC), poder de resolución (RP) de cebadores ISSR, combinaciones SRAP e ITAP del análisis molecular de regenerantes por OD del cv. Manzano.

Cebador ISSR	Secuencia	TA °C <sup>†</sup>	P (%)	PIC	RP	Rango (pb)
UBC-817	5'-GACACGACAC-3'	54.9	45	0.21	4	200-2750
UBC-848	5'-GACAGACAGACARG-3'	47	22.2	0.08	1.2	260-2875
Mat-32	5'-CACACACACACACAAA-3'	47.2	25	0.09	1.6	200-3000
UBC-841	5'-CACACACACACACARG-3'	52	45	0.2	3.6	200-1400
Mat-15	5'-GAGAGAGAGAGAGAYC-3'	50.4	41	0.32	5.1	300-2000
Total ISSR			36.4	0.08-0.32	1.2-5.1	200-3000
Combinación SRAP	Secuencia sentido	Secuencia antisentido				
Me1/Em7	5'-TGAGTCCAAACCGGATA-3'	5'-GACTGCGTACGAATTATG-3'	33.3	0.13	2.8	90-2000
Me3/Em6	5'-TGAGTCCAAACCGGAAT-3'	5'-GACTGCGTACGAATTGCA-3'	15.3	0.06	1.2	140-1800
Me4/Em7	5'-TGAGTCCAAACCGGACC -3'	5'-GACTGCGTACGAATTATG-3'	7.7	0.02	0.4	110-1950
Total SRAP			19.5	0.02-0.13	0.4-2.8	90-2000
Combinación ITAP	Secuencia sentido	Secuencia antisentido				
Em3/Itpr2	5'-GACTGCGTACGAATTGAC-3'	5'-GACTGCGTACCTGCATGC-3'	0	0	0	140-1500
Em3/Itpr5	5'-GACTGCGTACGAATTGAC-3'	5'-GACTGCGTACCTGCAGCT-3'	6.3	0.03	0.8	130-2000
Em6/Itpr3	5'-GACTGCGTACGAATTGCA-3'	5'-GACTGCGTACCTGCAGAC-3'	5.6	0.02	0.4	130-1440
Em7/Itpr4	5'-GACTGCGTACGAATTATG-3'	5'-GACTGCGTACCTGCAATG-3'	5.6	0.03	0.8	140-1700
Em7/Itpr5	5'-GACTGCGTACGAATTATG-3'	5'-GACTGCGTACCTGCAGCT-3'	29.4	0.12	3.2	110-1900
Em8/Itpr1	5'-GACTGCGTACGAATTAGC-3'	5'-GACTGCGTACCTGCAAAT-3'	62.5	0.2	2.3	110-1650
Em10/Itpr5	5'-GACTGCGTACGAATTAG-3'	5'-GACTGCGTACCTGCAGCT-3'	7.7	0.02	0.4	100-1500
Total ITAP			13.7	0-0.12	0-3.2	100-2000
Total ISSR-SRAP-ITAP			21.2	0-0.32	0-5.1	90-3000

UBC=University of British Columbia. <sup>†</sup>Temperaturas de alineamiento producto de experimentos de PCR en gradiente por cebador.

yemas florales en proliferación en el cv. Manzano de *Musa*. El nivel de variación observado con el uso de marcadores ISSR, SRAP e ITAP dependió del tipo de marcador. Se encontró que con el uso de cebadores ISSR se detecta mayor variación seguido por las combinaciones SRAP y el nivel más bajo con la combinación de cebadores ITAP. Lo anterior revela lo conveniente de usar distintos tipos de marcadores ya que analizan diferentes regiones del ADN genómico.

### AGRADECIMIENTOS

Al CONACYT por el apoyo económico mediante la beca de maestría No. 369555.

### LITERATURA CITADA

Aremu A.O., Bairu M.W., Szucová L., Dolezal K., Finnie J.F., Van Staden J. 2013. Genetic fidelity in tissue-cultured Williams bananas-The effect of high concentration of topolins and benzyladenine. *Scientia Horticulturae* 161: 324-327.

Bairu M.W., Aremu A.O., Van Staden J. 2011. Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. *Plant Growth Regulation* 63: 147-173.

Bairu M.W., Fennell C.W., Van Staden J. 2006. The effect of plant growth

regulators on somaclonal variation in Cavendish banana (*Musa* AAA cv. Zelig). *Scientia Horticulturae* 108: 347-351.

Chandrika M., Ravishankar Rai V., Thoyajaksha. 2010. ISSR marker based analysis of micropropagated plantlets of *Nothapodytes foetida*. *Biologia Plantarum* 54: 561-565.

Darvari F.M., Sariah M., Puad M.P., Maziah M. 2010. Micropropagation of some Malaysian banana and plantain (*Musa* sp.) cultivars using male flowers. *African Journal of Biotechnology* 9: 2360-2366.

Emaldi U., Trujillo I., De García E. 2004. Comparison of characteristics of bananas (*Musa* sp.) from the somaclone CIEN BTA-03 and its parental clone Williams. *Fruits* 59: 257-263.

Giménez C., De García E., De Enrech N.X., Blanca I. 2001. Somaclonal variation in banana: cytogenetic and molecular characterization of the somaclonal variant Cien BTA-03. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 37: 217-222.

Hrahse L., Basu A., Sahoo L., Thangjam R. 2014. *In vitro* propagation and assessment of the genetic fidelity of *Musa acuminata* (AAA) cv. Vaibalhla derived from immature male flowers. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 172: 1530-1539.

Lakshmanan V., Venkataramareddy S.R., Neelwarne B. 2007. Molecular analysis of genetic stability in long-term micropropagated shoots of banana using RAPD and ISSR markers. *Electronic Journal of Biotechnology* 10: 106-113.

Manjula R., Jholgiker P., Subbaiah K.V., Prabhuling G., Swamy G.S.K., Lenin K.Y. 2014. Morphological abnormality among hardened shoots of banana cv. Rajapuri (AAB) after *in vitro* multiplication



- with TDZ and BAP from excised shoot tips. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology* 7: 465-470.
- Martin K.P., Pachathundikandi S.K., Zhang C.L., Slater A., Madassery J. 2006. RAPD analysis of a variant of banana (*Musa* sp.) cv. Grande Naine and its propagation via shoot tip culture. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 42: 188-192.
- Mohamed A.E. 2007. Morphological and molecular characterization of some banana micro-propagated variants. *International Journal of Agriculture & Biology* 9: 707-714.
- Murashige, T., F. Skoog 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*. 15:473-497.
- Pérez-Hernández J.B., Rosell-García P. 2008. Inflorescence proliferation for somatic embryogenesis induction and suspension-derived plant regeneration from banana (*Musa* AAA, cv. Dwarf Cavendish) male flowers. *Plant Cell Reports* 27: 965-971.
- Prevost A., Wilkinson M.J. 1999. A new system of comparing PCR primers applied to ISSR fingerprinting of potato cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 107-112.
- Ray T., Dutta I., Saha P., Das S., Roy S.C. 2006. Genetic stability of three economically important micropropagated banana (*Musa* spp.) cultivars of lower Indo-Gangetic plains, as assessed by RAPD and ISSR markers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 85: 11-21.
- Roldán-Ruiz I., Dendauw J., Van-Bockstaele E., Depicker A., De Loose M. 2000. AFLP markers reveal high polymorphic rates in ryegrasses (*Lolium* spp.). *Molecular Breeding* 6: 125-134.
- Xiong F., Liu J., Zhong R., Jiang J., Han Z., He L., Li Z., Tang X., Tang R. 2013. Intron targeted amplified polymorphism (ITAP), a new sequence related amplified polymorphism-based technique for generating molecular markers in higher plant species. *Plant Omics* 6: 128-134.
- Youssef M., James A., Mayo-Mosqueda A., Ku Cauich J.R., Grijalva-Arango R., Escobedo-GM R.M. 2010. Influence of genotype and age of explant source on the capacity for somatic embryogenesis of two Cavendish banana cultivars (*Musa acuminata* Colla, AAA). *African Journal of Biotechnology* 9: 2216-2223.
- Youssef M., Valdez-Ojeda R., Ku-Cahuich J.R., Escobedo-GraciaMedrano R.M. 2015. Enhanced protocol for isolation of plant genomic DNA. *Journal of Agriculture and Environmental Sciences*. 4:172-180.



# CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PASTA DE CLONES DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)

## CHEMICAL CHARACTERISTICS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF CACAO (*Theobroma cacao* L.) CLONES PASTE

Mesa-Engativá, L.<sup>1</sup>; López-Báez, O.<sup>1\*</sup>; Ramírez-González, S.<sup>1</sup>; Espinosa-Zaragoza, S.<sup>2</sup>; Hernández-Fuentes, A.<sup>3</sup>; Rosales-Esquinca, M.<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Agrotecnologías, AUDES Cacao-Chocolate, Centro Universidad Empresa, UNACH. Campus C. U. km 8 carretera Terán-Emiliano Zapata. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México.

<sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agrícolas, Campus IV, UNACH. Entronque Carretera Costera y Estación Huehuetán, Chiapas, México. <sup>3</sup>Instituto de Ciencias Agropecuarias, UAEH. Av. Universidad km 1 Rancho Universitario. Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. <sup>4</sup>Facultad de Ciencias Agronómicas, Campus V, UNACH. Carretera Ocozocoautla Villaflores, Villaflores, Chiapas.

\*Autor de correspondencia: olopez@unach.mx

### RESUMEN

A lo largo de la historia, el cacao (*Theobroma cacao* L.) se ha caracterizado por ser un alimento con gran valor nutricional, recientes investigaciones han demostrado que el chocolate es fuente alta de antioxidantes que benefician la salud previniendo las enfermedades cardiovasculares. La presente investigación evaluó la importancia de los antioxidantes de 15 pastas de cacao elaboradas con semillas de clones cacao, con base en pH, acidez, sólidos solubles y el contenido de antioxidante procedentes de Tecpatán, Chiapas, México. Se registraron diferencias significativas entre pastas, para el caso de los sólidos solubles (rango de 1.74% a 6.5%), pH de 4.88 a 6.19, acidez desde 0.34% a 0.62% de ácido acético y en la actividad antioxidante se registraron valores de 62.25 a 237.68 mM g<sup>-1</sup> en peso fresco de Ácido Ascórbico. La actividad antioxidante se determinó empleando el método ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) y las pastas que presentaron mayor contenido fueron obtenidas de los clones 246 y 269. Estos resultados permitieron identificar y diferenciar a los clones estudiados, convirtiéndose en un diferenciador de calidad.

**Palabras clave:** fermentación, secado, chocolate, ABTS.

### ABSTRACT

Throughout history, cacao (*Theobroma cacao* L.) has been characterized by being a food with high nutritional value; recent studies have proven that chocolate is a high source of antioxidants that benefit health by preventing cardiovascular diseases. This study evaluated the importance of antioxidants from 15 cacao pastes elaborated with cacao clone seeds, based on pH, acidity, soluble solids, and antioxidant content, from Tecpatán, Chiapas, México. Significant differences were found between pastes, for the case of soluble solids (range of 1.74% to 6.5%), pH of 4.88 to 6.19, acidity from 0.34% to 0.62% of acetic acid, and in the antioxidant activity, values were found of 62.25 to 237.68 mM g<sup>-1</sup> in fresh weight of ascorbic acid. The antioxidant activity was determined by using the ABTS method (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) and the pastes that presented highest content were obtained from clones 246 and 269. These results allowed identifying and differentiating the clones studied, making them into a differentiator of quality.

**Keywords:** fermentation, drying, chocolate, ABTS.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto, 2017, pp: 72-77.

**Recibido:** noviembre, 2015. **Aceptado:** junio, 2017.

## INTRODUCCIÓN

A pesar de que tradicionalmente el chocolate ha sido considerado un alimento de bajo valor nutricional, constituye una fuente energética y estudios recientes han demostrado que posee propiedades benéficas para la salud debido entre otros, a su alto contenido de antioxidantes de origen fenólico, lo cual ha generado un interés creciente por el estudio de dichos compuestos aumentando su demanda como productos alimenticios saludables y de impacto en la alimentación humana. Inicialmente, sin fundamento científico, se asoció el consumo de chocolate a efectos benéficos para la salud; aunque en la última década, el cacao y el chocolate ha sido objeto de investigaciones que han aportado evidencias para afirmar que debido a los compuestos que contiene, puede tener efectos benéficos en los procesos asociados con el estrés oxidativo (Wollgast y Anklam, 2000; Gutiérrez, 2002; Hii *et al.*, 2009). Los estudios en humanos tras el consumo de chocolate han mostrado que los flavonoides protegen los tejidos del estrés oxidativo (Gómez-Juaristi *et al.*, 2011) y disminuyen la oxidabilidad de las lipoproteínas de baja densidad y aumentan la capacidad antioxidante del plasma (Devaraj *et al.*, 2002); también se les atribuye una función antioxidante benéfica para la salud, superando en ocasiones a los niveles reportados para el té (*Camellia sinensis* L.) y el vino tinto (Misnawi, 2009; Subhashini *et al.*, 2010). Perea-Villamil *et al.* (2007) determinaron el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de productos derivados del cacao obtenidos bajo diferentes condiciones de procesamiento, encontrando diferencias significativas en el contenido total de polifenoles y actividad antioxidante entre los productos estudiados; el chocolate amargo presentó el mayor contenido de polifenoles y la mayor actividad antioxidante en relación al chocolate con azúcar, chocolate con clavo y canela, de acuerdo con estos autores el cacao se posiciona como un alimento funcional. En otro estudio, Jonfia-Essien *et al.* (2008) compararon una variedad tradicional de cacao con híbridos interclonales de cacao y registraron capacidad antioxidante de  $12.4 \pm 7.3 \mu\text{mol TE g}^{-1}$  para la variedad tradicional y en los híbridos se cuantificó un rango de  $21.6 \pm 2.7 \mu\text{mol}$  a  $45.5 \pm 2.86 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ , encontrando un valor más alto en los materiales híbridos que en el tradicional. Ramírez *et al.* (2013) en un estudio de la actividad antioxidante de clones de cacao finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas, México, encontraron que el grupo que presentó el menor pH de las semillas, resultó ser el de mayor concentración de antioxidantes. Por ello, se determinaron las características físico-químicas y capacidad antioxidante de pastas elaboradas a partir de semillas de 15 genotipos de cacao seleccionados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron pastas de cacao (*Theobroma cacao* L.) provenientes de 15 clones selectos de la región de Tecpatán, Chiapas, México, clasificados como árboles agrónicamente productivos por la Agencia Universitaria para el Desarrollo de Cacao (AUDES Cacao-Chocolate) de la Universidad Autónoma de Chiapas (UNACH). Frutos maduros de los clones 230, 233, 235, 236, 240, 243, 244, 246, 253, 256, 259, 260, 266, 268 y 269 se recolectaron en los meses de septiembre y octubre del 2013; cuyas semillas en fresco, se sometieron a fermentación en cajones de madera, utilizando la técnica de micro-fermentación por un periodo de seis días. Una vez fermentadas, las semillas fueron

secadas al sol para que alcanzaran un 7% de humedad. Las pastas o licor de cacao se obtuvo luego de tostar los granos secos, eliminarles la testa y fueron procesados en un molino de disco equipado con un motor eléctrico marca siemens de 0.5 HP. Las pastas de cacao se mantuvieron en refrigeración a 4 °C durante tres meses después de su obtención, luego se trasladaron al laboratorio del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ubicado en Tulancingo de Bravo, Hidalgo, México. El análisis se clasificó en físico-químico (pH, acidez, sólidos solubles) y determinados según los métodos establecidos por la AOAC (1995) y la actividad antioxidante por el método de ABTS. El pH se determinó adicionando agua caliente a la muestra de pasta de cacao, según el método 970.21 de la AOAC y usando un potenciómetro digital marca Hanna Instruments pH209. De la misma forma la acidez se determinó siguiendo lo establecido por el método 942.15 de la AOAC, adicionando agua caliente a la muestra de pasta de cacao, se mezcló y se filtró para luego titular con NaOH 0.1N hasta registrar pH de 7.0, aun cuando no se haya presentado un vire a rosado (Stevenson *et al.*, 1993). Los valores de acidez se expresan en porcentaje (%) de ácido acético. Los sólidos solubles de las muestras se determinaron según el método 932.12 de la AOAC, utilizando un refractómetro digital marca Palette PR-101ATAGO; los resultados se expresaron en porcentaje (%). Para el caso de la actividad antioxidante, se empleó el método de ABTS (ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico), que consistió en preparar en vasos de precipitados extractos de las pastas con etanol al 70%, basados en una relación de 0.1



g de pasta en 5 mL de etanol, esta mezcla se tapó y se dejó reposar en refrigeración y a oscuridad por 24 horas. Transcurrido este tiempo, cada extracto se filtró y se utilizaron para la determinación. En una celda de cuarzo se adicionaron 3.9 mL de reactivo ABTS estabilizado y 100  $\mu$ L del extracto de cacao. Se realizaron lecturas de absorbancia, en el minuto uno y otra trascurridos siete minutos; estas mediciones se hicieron con un espectrofotómetro marca Thermo Fisher Scientific modelo Genesys 10S VIS calibrado a una longitud de onda de 754 nm. La determinación se realizó en condiciones de oscuridad. Los valores de la actividad antioxidante se expresan en mM de ácido ascórbico en  $g^{-1}$  de peso fresco. Se definieron 15 tratamientos (pastas de cacao) correspondientes a cada clon, con tres réplicas para cada determinación. Los datos fueron evaluados usando el paquete estadístico SAS, realizando a cada variable un análisis de varianza y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey al 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El Cuadro 1 muestra los porcentajes de sólidos solubles de las pastas, observando que el valor más alto lo registró el clon 266 con 6.5%, la media de la población analizada estuvo en 3.47% y ocho clones (230, 233, 236, 246, 253, 256, 268 y 269) tuvieron valores inferiores a la media poblacional, el resto de las muestras analizadas presentaron valores superiores al valor promedio. El análisis estadístico practicado a los datos detectó diferencias significativas entre las 15 muestras. La importancia de determinar el contenido de sólidos solubles en las pastas de cacao podría ser una medida indirecta del contenido de azúcares presentes en las pastas al asumir el porcentaje de

sólidos solubles expresado en el refractómetro como el contenido de azúcares de sacarosa presentes en la muestra; resaltando que en la búsqueda de material bibliográfico relacionado con esta variable, no se encontraron reportes de investigaciones que permitieran comparar con los resultados obtenidos en esta investigación.

Los resultados del pH de las pastas (Cuadro 1), registraron un rango desde 4.88 para el clon 246 hasta 6.19 para el clon 259. El valor promedio estimado de las muestras fue de 5.72, observando que los clones 246, 230, 233, 235, 269, 256 y 243 registraron valores inferiores de la media, sin embargo, se encontró que ocho clones (266, 244, 236, 240, 253, 259, 260 y el 268) tuvieron valores superiores al promedio. Los valores de pH fueron estadísticamente significativos entre algunos de los 15 clones. En lo referente a la calidad exigida por el mercado y la comercialización de grano de cacao seco, la norma mexicana NMX-FF-103-SCFI-2003 establece que para grano seco y fermentado, debe registrar valores normales que van en un rango de 4.8 a 5.5, con lo que se puede indicar que aquellos que se encuentran por debajo de la media a excepción del clon 243, estarían cumpliendo con lo exigido por la norma. Sin embargo a nivel mundial esos rangos pueden variar dependiendo las exigencias del mercado o la procedencia del mismo; para el caso de Colombia, algunas industrias transformadoras exigen valores de pH de 5.0 a 5.5 (FEDECACAO, 2004), de la misma manera Perea *et al.* (2011) ubicaron ocho clones de 12 analizados dentro del rango de pH medio establecido con valores de 5.3 a 5.6; cumpliendo con los exigidos por la industria colombiana. Lo anterior sugiere que las pastas de cacao analizadas tienen valores de pH normales y aceptados por la industria, reflejándose en el cumplimiento de las normas de calidad. Es de observar también que de acuerdo al rango de la norma mexicana, existen dentro de las muestras analizadas nueve clones que están por encima del límite mayor del rango, y que presentan valores que van de 5.69 a 6.19. Los clones 243, 266, 244, 236, 240, 253, 259, 260 y 268 tuvieron valores superiores de la norma, lo que beneficia a la industria, al estar en un rango más cercano para la estabilización de las pastas en la elaboración de chocolates. De acuerdo a cada investigación y según los valores de pH encontrados, cada autor los clasifica de manera diferente. Para clones provenientes de Chiapas, Ramírez *et al.* (2013) conformaron tres grupos, relacionando el pH con la Acidez y estableciendo; Grupo I: pH 5.5 - 5.9 (Alta acidez), Grupo II: pH 5.9 - 6.3 (Media acidez) y Grupo III: pH 6.3 - 6.7 (baja acidez). Teniendo en cuenta esta clasificación al tratarse de clones provenientes de la misma región, se encontraron dos genotipos (230 y 246) con valores más ácidos a los agrupados por estos autores, siendo el clon 246 el que presenta el valor más bajo de 4.88 e inferior al rango del grupo I (Alta acidez); los demás genotipos se agruparon dentro del grupo II y no se encontraron clones que ingresaran al grupo de baja acidez. Los resultados encontrados en esta investigación en pastas de cacao con semillas fermentadas, difieren de los publicados por Graziani de Fariñas *et al.* (2003) ya que reportan valores de pH de 6.30 a 6.40 en semillas secas sin fermentar. Los reportes de Pérez *et al.* (2002) en granos de cacao fermentados secos y tostados de la región de Chuao son similares a los encontrados en esta investigación ya que presentan valores de pH en rango de 4.81 a 5.55.



## Acidez

Los valores de la acidez (Cuadro 1) expresan el porcentaje de ácido acético, cuyos valores oscilaron entre 0.34 y 0.62. El análisis estadístico reportó que hubo diferencia significativa entre las pastas analizadas reportando el valor más alto para el clon 246 y el valor más bajo en el clon 244, el promedio de los valores fue de 0.421 donde se observó que la mayoría de los clones se encuentran en valores que se ubican por debajo de la media correspondientes a los clones, el 269, 243, 233, 235 y 246, presentaron valores por encima de este. El pH al estar relacionado con la acidez, permite identificar que para el clon 246 que presenta menor valor de pH su acidez se ve expresada con el valor más alto de 0.62. Los resultados obtenidos en esta investigación son similares a los obtenidos por Perea *et al.* (2011) quienes registran valores de acidez de 0.3% a 0.4% para el grupo. Los valores de acidez de los granos de cacao pueden llegar a variar de acuerdo al procedimiento y al lugar en que se realizan las actividades de fermentación y secado, aunque no existen estudios que confirmen este criterio evidentemente las variedades y el contenido de mucílago presente en las semillas también deben provocar efectos en las variables indicadoras de calidad.

## Actividad Antioxidante

La actividad antioxidante de las pastas de cacao estudiadas (Cuadro 1) mostró gran variabilidad entre clones, observando que el valor más alto fue obtenido por el clon 269 con  $237.68 \text{ mM g}^{-1}$  en peso fresco de Ácido Ascórbico y el más bajo para el clon 230 con de  $62.25 \text{ mM g}^{-1}$ . El análisis de los datos permitió detectar diferencias estadísticas significativas entre las pastas estudiadas. El valor promedio de antioxidantes cuantificado en las pastas resultó en  $130.91 \text{ mM g}^{-1}$  en peso fresco de Ácido Ascórbico, destacando los clones 230, 256, 235, 253, 236, 243, 244, 266 y 259 cuyos contenidos resultaron inferiores al contenido medio. A diferencia, los clones 260, 240 233, 268, 246 y 269 se ubicaron con valores superiores a la media. Los resultados anteriores se asemejan a los reportados para clones de la misma región por Ramirez *et al.* (2013) donde utiliza el método DPPH y reporta alto contenido de antioxidantes mayor que lo reportado en la literatura de clones procedentes de países asiáticos como Malasia, Ghana y Costa de Marfil, mostrando que existen variedades chiapanecas que poseen un alto contenido de antioxidantes al igual que las analizadas en esta investigación. La determinación y forma de expresar la actividad antioxidante, puede variar según los métodos utilizados, muchos difieren en cuanto a su

mecanismo, sustrato, tiempos de medición y expresión de resultados, sin embargo, todos indican la eficacia de las sustancias que impiden la oxidación de un sustrato bajo condiciones específicas. La mayoría de los métodos utilizados para la determinación de la actividad antioxidante se basan en técnicas de procedimientos comunes, tales como: ABTS, radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), FRAP y DMPD; cada una de ellas puede estar expresada en equivalentes de vitamina C (VCEAC), equivalentes trolox (TEAC); así como lo muestra Kuskoski *et al.* (2005) en la aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos, encontrando que entre los métodos utilizados para determinar la capacidad antioxidante, el radical ABTS es uno de los más aplicados, al considerarse un método de más elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable. El tiempo de medida necesario para cada uno de los métodos difiere según el investigador, aunque estudios han demostrado que el tiempo de determinación con el ABTS es de uno y siete minutos, ya que la reacción del radical ABTS no se completa hasta pasado el primer minuto, otros como Re *et al.* (1999) reportan que el tiempo más apropiado para la lectura es de cuatro minutos. Para el caso de cacao, Jonia-Essien *et al.* (2008), compararon una variedad tradicional con híbridos, utilizando el potencial (FRAP) ensayo de reducción férrico antioxidante y Trolox como un estándar, registrando la capacidad antioxidante en  $12.4 \pm 7.3 \mu\text{mol TE g}^{-1}$  para una variedad tradicional y para los híbridos un rango de  $21.6 \pm 2.7 \mu\text{mol}$  a  $45.5 \pm 2.86 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ , encontrando un valor más alto en los híbridos que en el tradicional. Azizah *et al.* (2007) realizaron un estudio para determinar la capacidad antioxidante y el contenido de fenólico en cacaos de Malasia, Costa de Marfil, Ghana y Sulawesi, utilizando los métodos de blanqueo de  $\beta$ -caroteno, DPPH y FRAP; usando para cada uno de ellos un extracto acuoso y uno etanólico para cada muestra analizada, encontrando la mayor actividad antioxidante en los extractos etanólicos cuando se determina por el método de DPPH y FRAP. Por el contrario para el método de blanqueo de  $\beta$ -caroteno, la mayor actividad antioxidante se registró en los extractos acuosos. Lo anterior indica que los métodos utilizados para expresar la actividad antioxidante presente en diversos genotipos de cacao son eficientes, bien entendido cada método permite identificar las diferencias significativas en las muestras analizadas. Viluzca *et al.* (2012) reportan un alto contenido de antioxidantes para el chocolate oscuro al 70% de cacao luego de hacer un estudio de la actividad antioxidante en chocolates comerciales venezolanos. La actividad antioxidante

se evaluó por el método de ABTS empleando Trolox como patrón de referencia, encontrando que el mayor contenido lo posee el chocolate oscuro con un valor de  $3.95 \pm 2.80 \mu\text{mol}$  Trolox y el menor, los chocolates blancos con un valor de  $0.023 \pm 1.62 \mu\text{mol}$  Trolox; aunque se reporten en unidades de medida diferentes a las reportadas en esta investigación, se puede observar que este método permite diferenciar el contenido de antioxidantes en productos de cacao. Para el estudio de los antioxidantes en cacao, se han utilizado diversos métodos lo que dificulta la comparación de los resultados obtenidos; sin embargo, independientemente de la técnica ha sido posible evidenciar diversidad en el contenido de antioxidantes de los materiales estudiados en diversos países. Los resultados de esta investigación utilizando el método de ABTS registraron en la población

de los 15 clones evaluados, identificar material con un alto contenido de antioxidantes para materiales de origen mexicano, que confirma lo reportado por Ramírez *et al.* (2013) utilizando el método de DPPH. Investigaciones previas (Gómez *et al.*, 2011) señalan los efectos benéficos para la salud de los agentes antioxidantes presentes en el cacao y en el chocolate, no obstante se considera necesario investigar los posibles efectos de las actividades de la fermentación, secado y transformación a chocolate a fin de asegurar que el contenido de antioxidantes presentes en las semillas, no se degrade afectándolo de manera negativa.

### CONCLUSIONES

Las características fisicoquímicas de las pastas de cacao analizadas reúnen los requerimientos establecidos en la

norma oficial mexicana en cuanto a calidad lo que hace de estos genotipos estudiados, material con potencial para la industria chocolatera. En cuanto a sólidos solubles se cuantificó alto porcentaje en los clones 235, 240, 243, 244, 259, 260 y 266 ya que se ubicaron por encima de la media poblacional, destacando al clon 266 con 6.5% siendo el valor más alto dentro de las muestras. Al asumir esta medida como el contenido de azúcares presentes en las pastas, esta variable se convierte en un parámetro de calidad que podría considerarse benéfico para la industria chocolatera ya que se vería reflejada en disminuir en la adición de azúcares durante la transformación. Considerando el valor del pH, las pastas de cacao de los clones 243, 266, 244, 236, 240, 253, 259, 260 y 268 poseen valores superiores a los establecidos (4.88-5.5) en la norma mexicana, de tal

**Cuadro 1.** Características fisicoquímicas y actividad antioxidante de 15 pastas de cacao elaboradas con clones de *Theobroma cacao* L., de Tecpatán, Chiapas, México.

Clon	Sólidos Solubles (%)	pH	Acidez (%) Ácido Acético	Actividad antioxidante (mM/g de Ac. Ascórbico)
230	1.9 f	5.45 e	0.40 bcd	62.25 h
233	1.74 f	5.50 e	0.52 ab	164.50 cd
235	4.13 bcd	5.52 e	0.58 a	86.40 gh
236	1.92 f	6.04 ab	0.35 d	106.40 fg
240	3.81 bcde	5.99 ab	0.37 d	148.75 cde
243	5.21 ab	5.69 bcde	0.51 abc	106.64 fg
244	5.32 ab	5.76 bcde	0.34 d	121.98 ef
246	2.67 def	4.88 f	0.62 a	197.43 b
253	2.20 f	6.03 ab	0.39 cd	89.34 gh
256	2.33 ef	5.56 cde	0.41 bcd	68.84 h
259	4.47 bc	6.19 a	0.40 bcd	130.69 ef
260	4.08 bcd	5.93 abcd	0.39 cd	141.28 de
266	6.5 a	5.73 bcde	0.38 d	126.17 ef
268	3.03 cdef	5.96 abc	0.35 d	175.23 bc
269	2.71 def	5.54 de	0.43 bcd	237.68 a
CV	15.18	2.33	9.62	7.84
DMS	1.58	0.40	0.12	30.92

Promedios con la misma letra en la misma columna, no presentan diferencias estadísticamente significativas según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

forma que se les confiere una calidad superior ya que para la industria están más próximas al valor de pH neutro, característica importante en el proceso de elaboración de chocolates. Existe una relación inversamente proporcional entre el pH y la acidez, lo cual se refleja en el clon 246 cuyo pH es el más bajo (4.88) y presenta la acidez más alta (0.62); valores que aún siguen ratificando la calidad de las pastas al dar cumplimiento de calidad de la norma mexicana. En cuanto a la actividad antioxidante, de las 15 muestras analizadas, las pastas de los clones 269, 246, 268, 233 y 240 presentaron el mayor contenido y por lo tanto mayor potencial para ser aprovechadas en la elaboración de productos de cacao en los cuales el contenido de antioxidantes les confiera un valor agregado.

## AGRADECIMIENTOS

A los productores de la Sociedad de Producción Rural-Cacao Tecpateco; al Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, México; a la Fundación Produce Chiapas y a la Universidad Autónoma de Chiapas, por los apoyos brindados para el desarrollo de esta investigación.

## LITERATURA CITADA

- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). 1995. Official Methods of Analysis of AOAC International. (16th ed., Vol. 1). Arlington: The Association.
- Azizah O., Amin I., Nawalyah A.G., Ilham A. 2007. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*: 1523-1530.
- Federación Nacional de Cacaoteros (FEDECACAO). 2004. El beneficio y características físico químicas del cacao (*Theobroma cacao* L.). Produmedios. Bogotá, DC – Colombia. (32p.)
- Gómez-Juaristi M., González-Torres L., Bravo L., Vaquero M.P., Bastida S. 2011. Efectos beneficiosos del chocolate en la salud cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*. 26(2): 289-292.
- Graziani de Fariñas L., Ortiz de Bertor L., Parra P. 2003. Características químicas de la semilla de diferentes tipos de cacao de la localidad de Cumboto, Aragua. *Agronomía Tropical*, 53(2) 133-144.
- Gutiérrez M.A.B. 2002. Chocolate, Polifenoles y Protección a la Salud. *Acta Farm. Bonaerense* 21 (2): 149-52.
- Hii C.L., Law C.L., Suzannah S., Misnawi M.C. 2009. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2(04): 702-722.
- Jonfia-Essien W.A., West G., Alderson P., Tucker G. 2008. Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. *Food Chemistry*. 108:1155-1159.
- Kuskoski M.E., Asuero A.G., Troncoso A.M., Mancini-Filho J., Fett R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 25(4):726-732.
- Secretaría de Economía. 2003. Norma oficial mexicana NMX-FF-103-SCFI-2003. Productos agrícolas no industrializados – cacao en grano (*Theobroma cacao* L) – especificaciones y Métodos de prueba. 43p.
- Perea J.A., Ramirez O.L., Villamizar A.R. 2011. Caracterización fisicoquímica de materiales regionales de cacao colombiano. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. 9(1):35-42.
- Perea-Villamil J.A.; Cadena-Cala T., Herrera-Ardila J. 2009. El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Revista UIS (Universidad Industrial del Santander, Colombia)* 41(2): 128 – 134.
- Pérez E., Álvarez C., Lares M. 2002. Caracterización física y química de granos de cacao fermentados, secos y tostados de la región de Chuao. *Agronomía Tropical*. 52(2):161-172.
- Ramírez M.B., Cely V.H., Ramírez S.I. 2013. Actividad antioxidante de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas, México. *Colombia. Perspectivas en Nutrición Humana*, 15(1): 27-40.
- Re R., Pellegrini N., Proteggente A., Pannala A., Yang M., Rice-Evans C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 26(9/10):1231-1237.
- Stevenson C., Corven J., Villanueva G. 1993. Manual para el análisis de cacao en el laboratorio. Serie Publicaciones Miscelaneas - IICA. Costa Rica. (68p.)
- Subhashini R., Mahadeva Rao U.S., P.Sumathi, Gayathri Gunalan. 2010. A comparative phytochemical analysis of cocoa and green tea. *Indian Journal of Science and Technology* 3(2): 188 – 102.
- Viluzca F., Yee A., Sulbarán B., Berradre M.N. 2012. Actividad antioxidante de chocolates comerciales venezolanos. *Vitae*. 19: S448-S450.
- Wollgast J., Anklam E. 2000. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International*, 33, 449-459.

# MAQUINARIA AGRÍCOLA Y PRODUCTORES DE AMARANTO (*Amaranthus* spp.) EN LA REGIÓN CENTRO DE MÉXICO

## AGRICULTURAL MACHINERY AND AMARANTH (*Amaranthus* spp.) PRODUCERS IN THE CENTRAL REGION OF MÉXICO

Ayala-Garay, A.V.<sup>1</sup>; González-González, M.<sup>1\*</sup>; Carrera-Chávez, B.<sup>2</sup>; Martínez-Trejo, G.<sup>1</sup>; Almaguer-Vargas, G.<sup>3</sup>; Schwentesius-Rindermann, R.<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Campo Experimental Valle de México, Km. 13.5 Carretera Los Reyes Texcoco, Coatlinchán, Texcoco, México, México, C.P. 56250. <sup>2</sup>Profesor-investigador del Instituto de Ciencias Sociales y Administración de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Av. Plutarco Elías Calles #1210, Fovissste Chamizal, Ciudad Juárez, Chihuahua, México, C.P. 32310. <sup>3</sup>Profesor-Investigador de la Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, 56230 Texcoco, México, México.

\*Autor de correspondencia: gonzalez.miguel@inifap.gob.mx

### RESUMEN

El objetivo del trabajo fue conocer el tipo de maquinaria y equipo agrícola que los pequeños productores de amaranto (*Amaranthus* spp.) utilizan en la Región Centro de México. Se aplicó una encuesta dirigida a 118 productores de amaranto en los municipios de Temoac, Morelos; Cohuecan, Atzizihuacan, Puebla y; Cuapiaxtla y Nativitas, Tlaxcala en México, y de acuerdo con los resultados obtenidos, el nivel de mecanización es muy bajo en los tres estados; únicamente 12% de los productores cuentan con la maquinaria necesaria para las diferentes labores del cultivo, esto se debe en gran medida a baja solvencia económica para su adquisición. La estructura de los costos de producción por hectárea tiene como tercer rubro más importante los gastos de labores mecanizadas (11%). El decremento en la producción por unidad de superficie y deficiente mecanización, son los principales problemas de los productores de amaranto, influyendo en gran medida en el abandono del cultivo. Otro punto importante, es el hecho de que la mayoría de los productores (73%) no tienen conocimiento de algún programa o institución que financie la adquisición de maquinaria e implementos agrícolas.

**Palabras clave:** Amarantaceas, mecanización, pequeños productores, Morelos, Puebla, Tlaxcala.

### ABSTRACT

The objective of this study was to understand the type of agricultural machinery and equipment that small-scale producers of amaranth (*Amaranthus* spp.) use in México's central region. A survey directed at 118 amaranth producers was applied in the municipalities of Temoac, Morelos; Cohuecan, Atzizihuacan, Puebla; and, Cuapiaxtla and Nativitas, Tlaxcala in México. And, according to the results obtained, the level of mechanization is very low in the three states; only 12 % of the producers have the machinery necessary for the different farming tasks, something due in great measure to the low financial solvency for their acquisition. The structure of the production costs per hectare has as third most important segment the expenses of mechanized farming (11 %). The decrease in production per surface unit and deficient mechanization are the main problems that amaranth producers face, impacting greatly the abandonment of this crop. Another important point is the fact that most of the producers (73 %) do not have knowledge of any program or institution that finances the purchase of agricultural machinery and implements.

**Keywords:** Amaranthaceae, mechanization, small-scale producers, Morelos, Puebla, Tlaxcala.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto, 2017, pp: 78-83.

**Recibido:** diciembre, 2015. **Aceptado:** mayo, 2017.



## INTRODUCCIÓN

En 2013, de acuerdo con datos de SAGARPA-SIAP (2015), la superficie sembrada de amaranto (*Amaranthus* spp.) para grano a nivel nacional fue de 3,729 hectáreas con una producción de 4,617 kg ha<sup>-1</sup> y un rendimiento promedio de 1.24 t ha<sup>-1</sup>. La tasa de crecimiento media anual de 1990 a 2013 fue de 7.23% en superficie y 9.16% en producción. La importancia del amaranto radica en su valor nutritivo tanto en cantidad como en calidad de su proteína, superando a cereales de uso común como el trigo (*Triticum aestivum*), el arroz (*Oryza sativa*), la avena (*Avena fatua*) y el maíz (*Zea mays*) (Morales et al., 2009; Sauer, 1993.). De acuerdo a Ayala et al. (2012), las unidades de producción de amaranto se caracterizan por ser principalmente ejidales y en menor superficie de pequeña propiedad. Aproximadamente 95% de los productores son minifundistas con extensiones individuales de 1.5 ha en promedio y 5% restante son productores con predios de alrededor de 5 ha (INEGI, 2009). El 97% de la producción de amaranto se realiza en condiciones de temporal (primavera-verano), por lo que su manejo agronómico está basado y calendarizado en torno al periodo de lluvias de las regiones productoras; el manejo es ligeramente diferente en cada región. En las diversas zonas donde se cultiva amaranto, la tecnología utilizada es tradicional, lo cual implica el uso limitado o nulo de maquinaria e insumos que permitan maximizar el potencial del cultivo y poder incrementar la producción por hectárea, debido básicamente a que es un cultivo de temporal con un manejo laborioso; además de que el empleo de mano de obra es elevado (Parra et al., 2012; Ayala et al., 2012; Escalante- Escoffié, 2011; Beltrán, 2005). La producción primaria de amaranto demanda gran cantidad de mano de obra, sobre todo en la cosecha, que de manera generalizada se realiza con 24 jornales por hectárea y durante todo el proceso se requieren entre 45 y 50. Con respecto a la mano de obra familiar, Cortés et al. (2009) mencionan que si bien se genera empleo en la región, esto influye en el incremento de los costos de producción por el uso de mano de obra. Si bien la mano de obra en el proceso productivo agrícola es fundamental, sobre todo en las etapas críticas de siembra y cosecha, es en esta última donde se requiere más cantidad de mano de obra dedicada al secado y trilla, así como a la limpieza del grano. Ayala et al. (2014) mencionan, que la principal limitante para la producción de amaranto en los pequeños productores del centro del país es la falta de maquinaria agrícola. El tipo de maquinaria debe ser acorde a las necesidades del usuario, y dependien-

do del tipo de trabajo que requiera el productor; lo cual propiciará mayor eficiencia en las actividades del campo (Segura, 2009). Al adquirir un equipo es importante que el agricultor conozca sus características técnicas, con el fin de saber si es el adecuado para las actividades que pretende realizar; así, reducirá los costos de producción, contribuirá al ahorro energético y disminuirá la emisión de elementos contaminantes nocivos para el medio ambiente (Arnal, 2001). La mecanización agrícola es fundamental en el incremento de la producción, puesto que permite aumentar el área cultivada, mejora las técnicas del cultivo, baja costos y dignifica el trabajo humano (Negrete, 2011). Para llevar a cabo dicha mecanización, el pequeño agricultor necesita fuentes de energía económicas, prácticas, de fácil mantenimiento y operación, y cuya capacidad de trabajo y costos sean apropiados al tamaño del predio. De acuerdo a Ramírez (2007), debido a la estructura agraria del país es inviable la modernización del minifundio con paquetes tecnológicos intensivos en capital, por dos razones fundamentales: primero, la maquinaria agrícola está diseñada para cultivar grandes extensiones de tierra y permanecería ociosa la mayor parte del ciclo agrícola; por otro lado, las pequeñas unidades de producción son incapaces de generar los recursos necesarios para capitalizarse. Con base en lo anterior, el objetivo del trabajo fue conocer el tipo de maquinaria y equipo agrícola que los pequeños productores de amaranto utilizan en la Región Centro de México, e identificar las necesidades que limitan la productividad de este cultivo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para conocer el tipo de maquinaria y necesidades de los productores se utilizó una encuesta dirigida, la cual se emplea cuando no existe suficiente material informativo sobre ciertos aspectos que interesa investigar, o cuando la información no se puede obtener a través de otras técnicas (Rojas, 2002). Las encuestas fueron aplicadas a 118 productores en los municipios de Temoac en Morelos (100% de la producción estatal se produce en este municipio); Tochimilco, Cohuecan, Atzizihuacan en Puebla, (su aportación a la producción estatal es de 79%); y Cuapiaxtla y Nativitas en Tlaxcala con 85% de la producción estatal (SAGARPA-SIAP, 2015). De acuerdo con datos de SAGARPA-SIACON (2015), para el ciclo P-V 2013, Puebla aportó 53% de la superficie cosechada (1,967 ha) y 46% mayor producción (2,143 t), en relación con los tres estados mencionados; Tlaxcala aportó 35% del total de hectáreas cosechadas (1,287 ha) y 39% de la producción (1,791.35 t), y Morelos el 4% en producción

(156.5 ha) y superficie (130 t). Otros estados importantes son la Ciudad de México, Estado de México, Oaxaca y San Luis Potosí, quienes en conjunto aportan 8% de superficie y 11% en producción (SAGARPA-SIAP, 2015). Para dar cumplimiento a los objetivos de este estudio, el trabajo se dividió en las siguientes secciones: **Características de las unidades de producción y de los productores.** La información que se obtuvo de los cuestionarios fue analizada con la ayuda de estadísticas descriptivas y se soportó con una investigación documental. **Características del sistema de producción.** Para definir como se produce el amaranto y sus necesidades de maquinaria. **Medios de producción.** Se define el tipo de maquinaria con que cuentan. **Características de los equipos agrícolas.** Enfocado al tipo de equipos agrícolas con y sus principales características, se dividió en: a) Implementos y b) Tractores.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Características de las unidades de producción y de los productores

La edad de los productores varía entre 20 y 79 años, en promedio tienen 48. El 36% tienen una edad de 40 a 49 años, siendo el de mayor frecuencia (Figura 1). Es importante mencionar que los productores permanecen activos hasta edades avanzadas y aunque en menor porcentaje también hay jóvenes que se dedican al trabajo agrícola.

En cuestión del género del total de la población encuestada, se encontró que 92% fueron del sexo masculino mientras que solo 8% del sexo femenino se dedica a esta actividad. Sin embargo, cabe resaltar que esposas o hijas de los productores participan en al menos una actividad relacionada con el proceso de producción del amaranto. En cuanto a la escolaridad, 35% asistió a la primaria pero no la concluyeron, 30% terminó la primaria, le sigue el nivel de secundaria con 23%, para el nivel preparatorio se reportó 2% mientras que para el nivel superior lo representó 3% y 7% restante no cuenta con ningún tipo

de estudios. Diversos autores determinaron que el grado de escolaridad influye sobre el uso de tecnología (Álvarez *et al.*, 1985; Mendoza, 1979). En otro estudio, Ayala *et al.* (2014) encontraron que la edad del productor y el nivel de escolaridad son determinantes para las prácticas agronómicas y esto presenta un impacto en el rendimiento del cultivo, como ha sido observado en otros estudios (Ruiz *et al.* 2001; Rueda, 2003).

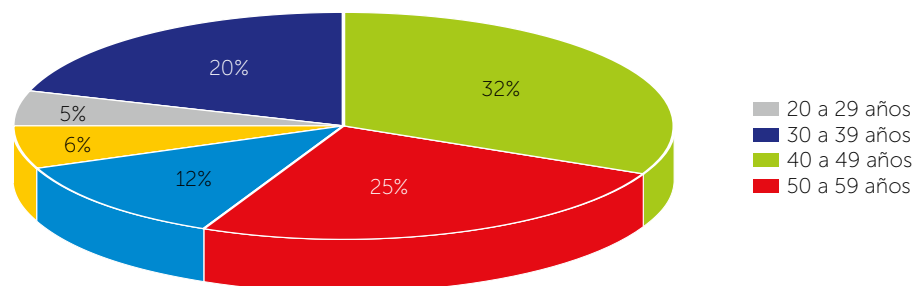
### Características del sistema de producción

Los productores no cuentan con crédito y seguro para producir. Su cultivo es de temporal y tiene un rendimiento promedio de 1.4 t ha<sup>-1</sup>. La mayoría de los productores poseen reducidas superficies agrícolas por lo cual se ven obligados a trabajar manualmente o no hacer nada en su terreno. Los productores manifiestan que su principal problema en el proceso de producción es la falta de mecanización, las únicas labores que realizan con el tractor y los implementos correspondientes, son barbecho, rastro, surcado, algún productor trilla y las demás actividades son manuales.

### Medios de producción

En la Figura 2 se muestra que 52% de los encuestados no tienen ningún tipo de maquinaria. Sin embargo, a pesar de que algunos de los productores cuentan con alguno, no necesariamente son utilizados en el proceso de producción de amaranto. Los equipos o implementos con que cuentan son: yunta (14%), aspersora de mochila (13%), tractor-rastra-arado (12%), aspersoras tipo aguilón (5%), fertilizadora (3%) y sembradora mecánica (1%). La yunta, el tractor-rastra-arado y en algunos casos la aspersora de mochila, son utilizados en la preparación del terreno para la producción y en el momento de aplicar algún plaguicida. Los demás, no se utilizan en el proceso.

Sobre la mecanización en la producción de amaranto, esta es baja, sólo 12% de los productores mencionan tener la maquinaria necesaria para las labores del cultivo, en específico las de preparación del terreno, previo a la siembra, este porcentaje coincide con los produc-

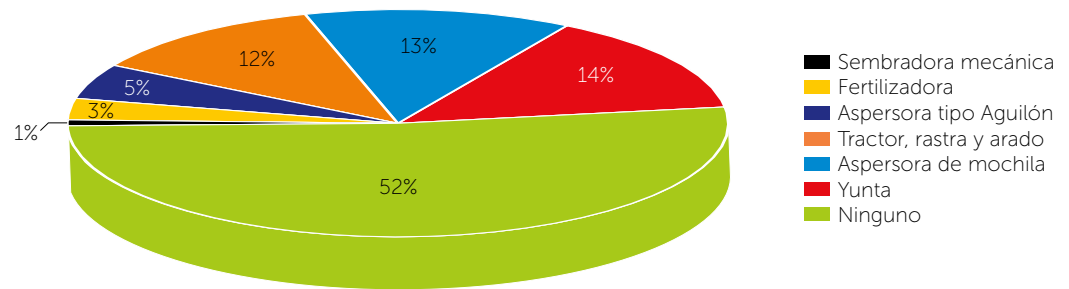


**Figura 1.** Porcentaje del rango de edad de los productores encuestados.

Fuente: Elaboración propia con la ayuda de la base de datos obtenida en campo.

**Figura 2.** Medios de producción que poseen los productores de amaranto entrevistados en distintos estados del centro del país.

Fuente: Elaboración propia con la ayuda de la base de datos obtenida en campo.



tores que cuentan con tractor-arado-rastra. El 88% de los productores entrevistados afirmó que no cuentan con maquinaria propia para su producción, por lo cual tienen que recurrir a su renta para los trabajos de preparación del terreno. Según Negrete *et al.* (2012) a través de la mecanización se promueve el crecimiento económico, mediante mayores rendimientos por hectárea y ampliación del área cultivada, ya sea por la incorporación de nuevas tierras o por la posibilidad de realizar más de una siembra por año, en una misma unidad de superficie. Lo anterior debería replantear las políticas públicas a promover, las cuales deberían fomentar la investigación, docencia y desarrollo de maquinaria agrícola apropiada y adecuada al tamaño promedio de las propiedades agrícolas en el país. En la producción de amaranto es necesario resolver el problema de mecanización.

### Formas de producción

La siembra del amaranto la realizan de manera manual, no cuentan con sembradoras ni equipo adecuado para hacerla. En condiciones de temporal se siembra del 20 de abril hasta 15 de Junio. El 48% de los productores la realiza a "chorrillo". La semilla se distribuye a chorrillo en el lomo del surco, trazando previamente una zanja de 1 cm de profundidad en la que será depositada la semilla. El 52% realiza la siembra manual "mateada". La semilla se deposita en el lomo del surco en puños de 15 semillas cada 25 cm. Para la siembra mateada también se traza con una varilla la zanja de 1 cm de profundidad. Al término de la siembra, 85% de los productores mencionan que utilizan unas ramas para cubrirla, el resto no la cubre. Al momento de la siembra 15% de los productores mezclan la semilla con abono orgánico. Para controlar las malezas los productores las arrancan manualmente o con azadón durante los primeros 30 días de emergido el cultivo, o cuando las plántulas tengan entre 5 y 10 cm de altura. Los productores se verían beneficiados con la implementación de una sembradora manual o portátil de precisión, ya que el 53% de los encuestados mencio-

nan que tendrían un ahorro de costo por concepto de jornales en la siembra; y 41% lo haría por ahorro de costos de semilla y solo 6% indica ventajas de versatilidad en cualquier pendiente al ser portátil.

### Cosecha y trilla

Para la cosecha del amaranto la mecanización es de suma importancia, pues se requieren al menos 38 jornales para trillar las panojas. El 63% de los productores lo hacen de forma manual, 15% renta maquinaria (trilladora) y 22% lo realiza con ayuda de un tractor. De contar con una cosechadora, 43% tendría ahorro en costos por concepto de jornales, el 23% mencionó que se mantendría la calidad del grano, 19% contestó que habría un ahorro en el tiempo destinado a la cosecha y 15% dice habría mayor eficiencia en el proceso productivo, sin embargo, la principal limitante son los recursos económicos. El 73% de los productores no tienen conocimiento de algún programa o institución que financie la adquisición de maquinaria. De acuerdo a los aspectos mencionados con respecto a la mecanización, 48% de los productores indicó que seleccionarían su maquinaria (ya sea tractor, implementos etcétera) ideal para su terreno a través de asistencia técnica, un 24% por la experiencia de acuerdo a la mejor tipo de marca en el mercado, y solo 17% optaría por recomendación de otros productores y por último un 11% lo haría por los costos de dichos equipos. El amaranto requiere mecanización para mejorar su aceptación por un mayor número de productores y evitar ser desplazado por otros cultivos, aunque presente trabajo para la familia, se requiere avanzar en estrategias que reduzcan su costo, entre las que se tienen maquinaria con mayor eficiencia; generalmente los modelos más recientes son más eficientes y con mayor potencia permitiendo disminuir los costos de mano de obra y combustibles. La baja producción por unidad de superficie y deficiente mecanización, son los principales problemas de los productores de amaranto e influyen para que las personas estén abandonando el cultivo. La relación beneficio/costo, que se tiene ac-

tualmente es de 1.4, por lo que se deben buscar alternativas para incrementar la. De acuerdo a Ayala *et al.* (2014), se requiere además del uso de variedades mejoradas, programas de innovación tecnológica. Así mismo, Ortiz (2007), menciona que no se han llevado a cabo en el país, en forma sistemática, proyectos de investigación y desarrollo de tecnología mecánica para la agricultura. Resultando más barato comprar equipos y negociar licencias de fabricación de máquinas diseñadas para las condiciones de otros países. El bajo índice de mecanización en la producción de amaranto puede atribuirse a que la mayoría de los productores encuestados cultivan en una superficie menor a 5 ha y solo 12% del total cuenta con maquinaria adecuada. Por ello, consideran necesario la compra de un tractor como parte primordial en la adquisición de maquinaria. La principal forma para la elección de maquinaria por parte de los productores de los tres estados encuestados sería por la asistencia técnica (48%), seguido por la experiencia adquirida durante sus años como productor (24%). Cortés *et al.* (2009) mencionan que, para que el productor pueda tomar decisiones acertadas con respecto a la adquisición de maquinaria agrícola es importante contar con un conjunto de conocimientos técnicos, económicos-financieros y comerciales, estos a su vez deben ser combinados adecuadamente con los recursos humanos.

### Programas de apoyo

Con respecto a programas gubernamentales que subsidian o financian maquinaria y equipo agrícola, es un tema del cual los productores tienen muy poca información, el 27% mencionó que si conoce de programas de apoyo para el sector agrícola (entre ellos PROCAMPO y FIRA) pero no tienen la certeza de que apoyen o subsidien maquinaria o equipo agrícola. Por otro lado 73% desconoce que programas gubernamentales ofrecen apoyo para adquirir maquinaria.

### CONCLUSIONES

Existe un decremento en la producción por unidad de superficie y una deficiente mecanización, siendo estos los principales problemas para los productores de amaranto, influyendo en gran medida en el abandono del cultivo. El nivel de mecanización es muy bajo en los tres estados encuestados, sólo 12% de los productores cuentan con maquinaria para las labores del cultivo, esto se debe en gran medida a que el resto no cuenta con recursos económicos para la adquisición de la misma. Lo que tiene un impacto directo en la producción pues se detectó que la estructura de los costos de producción por hectárea tiene como tercer rubro más importante los gastos de labores mecanizadas (11%). Los productores de amaranto consideran necesaria la adquisición de maquinaria, como prioridad, la compra de un tractor. La principal forma para la elección de maquinaria en los tres estados encuestados sería por la asistencia técnica (48%), seguido por la experiencia adquirida durante sus años como productor. El hecho de que la mayoría de los productores (73%) desconocen los programas o instituciones que financien la adquisición de maquinaria e implementos agrícolas puede ser causa principal por las que existe insuficiente mecanización en el cultivo del amaranto.

### LITERATURA CITADA

- Álvarez G., Martínez V. G., H. Díaz C. 1985. La utilización de la tecnología en dos comunidades del Plan Mixteca Alta, estado de Oaxaca; el caso de las recomendaciones para el maíz de temporal. *Agrociencia* 61: 113-123.
- Arnal A.P. 2001 Potencia de los tractores agrícolas, Resumen de los datos de los ensayos OCDE realizados en los años 1997, 1998, 1999 y 2000, 6pp., Asociación Empresarial Agropecuaria, ASAJA, Huesca, Informa. *Mecanización Agraria-Universidad Pública de Navarra*, Director Gerente de AEA ASAJA Huesca, México, 2001.
- Ayala G.A.V., Escobedo L.D., Cortés E.L., Espitia R.E. 2012. El cultivo de amaranto en México, descripción de la cadena, implicaciones y retos, en E. Espitia Rangel (ed.), *Amaranto: ciencia y tecnología* (pp. 315-330). Libro científico. Núm. 2. México: inifap/sinarefi.
- Ayala G.A.V., Rivas V.P., Escobedo L.D., Cortés E.L., Espitia R.E. 2014. La rentabilidad del cultivo de amaranto (*Amaranthus* spp.) en la región centro de México. *CIENCIA ergo-sum*, 21-1: 47-54, marzo-junio 2014. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México. [http://ergosum.uaemex.mx/pdfs/pdf\\_vol\\_21\\_1/8\\_alma\\_velia\\_21-1.pdf](http://ergosum.uaemex.mx/pdfs/pdf_vol_21_1/8_alma_velia_21-1.pdf)
- Beltrán S.J.A. 2005. Producción de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus* L.), fertilizado con gallinaza en Huazulco, Morelos. Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Mor. 48 p.
- Cortés E.L., Espitia E., Rivas-Valencia P., Hernández-Casillas J. M. 2009. Diagnóstico socioeconómico de la producción de amaranto en Valles Altos. vi Reunión Nacional de Innovación Agrícola. León, Guanajuato, México. p. 327.
- Escalante-Escoffí M.C. 2011. Rescate y revaloración del cultivo del amaranto. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). México, D.F. 89 p.
- INEGI. 2009. VIII Censo Agrícola, Ganadero y Forestal. Estados Unidos Mexicanos. Aguascalientes, Ags.



- Mendoza M.S. 1979. Rendimientos de cultivos y necesidades de información técnica de ejidatarios, colonos y pequeños propietarios del Valle del Yaqui, Sonora. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados, México 361 p.
- Morales G.J.C., Vázquez N.M., Bressani R.C. 2009. El amaranto. Características físicas, químicas, toxicológicas y funcionales y aporte nutricional. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zuribán. México, D.F. 269 p.
- Negrete C.J. 2011. Políticas de mecanización Agrícola en México”, Revista Iberoamericana de Ciencia, Tecnología y Sociedad–CTS [en línea] ISSN: 18500013, Disponible en: [http://www.revistacts.net/files/Portafolio/Negrete\\_EDITADO.pdf](http://www.revistacts.net/files/Portafolio/Negrete_EDITADO.pdf) [Consulta: junio 12 2015]. 22 p
- Negrete C.J., Liles Tavares A., Liles Tavares R. 2012. Diseño de tractores agrícolas en México, Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias, 21(1): 19-25
- Ortiz I.H., Rossel, K.R. 2007. Current Status of Animal Traction in Mexico”, Agricultural Mechanization in Asia, Africa, and Latin America, 38(1): 2007.
- Parra C.F.I., Délano F.J.P. 2012. Uso de batearías promotoras de crecimiento vegetal para aumentar la productividad de amaranto de grano, en E. Espitia Rangel (ed.), Amaranto: ciencia y tecnología (pp. 113-127). Libro científico. Núm. 2. México: inifap/sinarefi.
- Ramírez V.B., Ramírez V.G., Juárez S.J.P., Cesín V.A. 2007. “Tecnología e Implementos Agrícolas: Estudio Longitudinal en una región Campesina de Puebla, México”, Revista de geografía Agrícola, enero-junio, nº 38, Universidad Autónoma Chapingo Texcoco México, pp. 55-70. <http://www.redalyc.org/pdf/757/75703806.pdf>
- Rojas S.R. 2002. Guía para realizar investigaciones sociales. México: Plaza y Valdés. 236 p.
- Ruiz C.J.A.; Medina G.G., González A.I.J.; Ortiz T.C.; Flores L.H.E.; Martínez P.R.A., Byerly M.K.F. 2001. Requerimientos agroecológicos de cultivos. INIFAP-SAGAR. Guadalajara, Jalisco, México. Libro técnico Núm. 324 p.
- Rueda, B. M. C. (2003). Evaluación de variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.) en el noreste del estado de Morelos. Tesis de Licenciatura- Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Texcoco, Estado de México. 6-22 pp.
- Sauer J.D. 1993. Grain amaranth. Evolution in crop plants. N.W. Simmonds (Ed.) London, Longman. 4-7 p.
- Segura-Lazcano J. 2009. Más y mejores apoyos para los campesinos mexiquenses. Programa de mecanización del campo del Estado de México. 3 p.
- SAGARPA-SIAP. 2015. Sistema Agropecuario de Consulta. Consultado el 12 de febrero de 2015. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>



# LA PRODUCCIÓN DE *Stevia rebaudiana* Bertoni EN MÉXICO

## *Stevia rebaudiana* Bertoni PRODUCTION IN MEXICO

Ramírez-Jaramillo, G.<sup>1</sup>; Lozano-Contreras, M.G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INIFAP-CIRSE. Centro de Cooperación para el desarrollo de los trópicos. Calle 6 No. 398. Av. Correa Rachó. Col. Díaz Ordaz. Mérida, Yucatán México. <sup>2</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Mocochoá, Km 25 Carretera Mérida-Motul, Yucatán, México.

\*Autor de correspondencia: lozano.monica@inifap.gob.mx

---

### RESUMEN

La estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) es una especie originaria del Paraguay y Brasil, la cual ha sido usada desde hace siglos como edulcorante y como planta medicinal por los indios guaraníes llamada en su lengua Ka'a Heê (Yerba dulce). Si bien las hojas por sí mismas pueden utilizarse para endulzar, existen procesos industriales para extraer los edulcorantes. Actualmente la industria alimentaria y farmacéutica ha mostrado gran interés en esta planta debido a que los edulcorantes que contiene no aportan calorías. El intenso y marcado sabor dulce de la estevia se debe principalmente a compuestos químicos denominados de forma genérica como glucósidos de esteviol, que son 250 a 300 veces más dulces que la sacarosa. Se anotan aspectos relevantes de su manejo con el fin de orientar a productores de México.

**Palabras clave:** estevia, áreas potenciales, manejo del cultivo, comercio.

### ABSTRACT

Stevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni) is a species originally from Paraguay and Brazil, which has been used for centuries as sweetener and as medicinal plant by the Guaraní indigenous people who call it in their native language Ka'a Heê (sweet herb). Although the leaves can be used on their own to sweeten, there are industrial processes used to extract the sweeteners. Currently, the food and pharmaceutical industry has shown great interest in this plant because the sweeteners that it contains do not contribute calories. The intense and marked sweet flavor of stevia is due primarily to chemical compounds called generically steviol glucosides, which are 250 to 300 times sweeter than sucrose. Relevant aspects about its management are explained, with the purpose of guiding producers in México.

**Keywords:** stevia, potential areas, crop management, commerce.

**Agroproductividad:** Vol. 10, Núm. 8, agosto, 2017, pp: 84-90.

**Recibido:** mayo, 2016. **Aceptado:** mayo, 2017.

## INTRODUCCIÓN

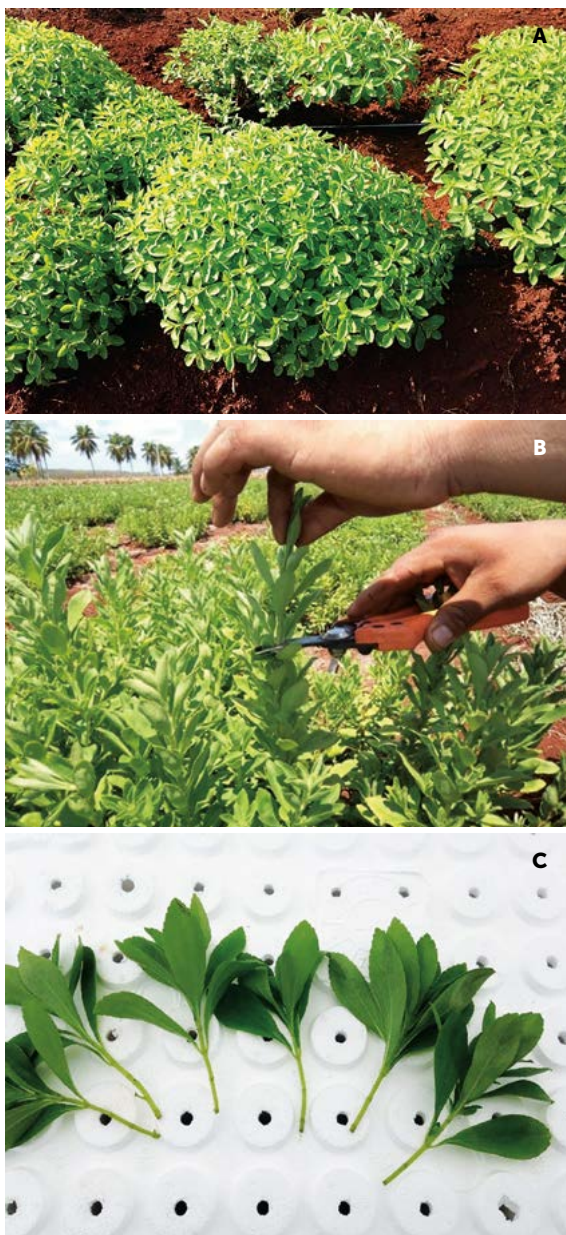
**La estevia** es una planta originaria de la cordillera de Amambay ubicada entre el sur de Brasil y el norte de Paraguay (Rengifo *et al.*, 2005), región donde se ubica el pueblo originario guaraní y la planta es conocida en su idioma como Ka'a He'ë (hierba dulce), la utilizan desde tiempos ancestrales como endulzante y medicinal (Alonzo-Torres, 2007; Bonilla *et al.*, 2007). Es una especie de la familia Asteraceae (antes Compositae); y es una hierba perenne que puede alcanzar 100 cm de altura y en cuyo desarrollo influye la luminosidad (requiere más de 3000 horas luz al año) (Figura 1 A). La estevia ha atraído la atención de amplios sectores de la industria como un edulcorante debido a que los glucósidos que se extraen de su hoja seca son de 200 a 300 veces más dulce que la sacarosa (Huang *et al.*, 2009). La yerba dulce constituye una alternativa de sustitución parcial del azúcar y endulzantes tradicionalmente conocidos. La demanda por edulcorantes naturales va en aumento en el mundo debido principalmente a los efectos secundarios que producen los edulcorantes sintéticos. Uno de los primeros países que aceptó el uso de la estevia como edulcorante fue el Japón, después de la Segunda Guerra Mundial, pues no tenían azúcar y tampoco la encontraban a buen precio en el mercado internacional (Martínez, 2002). Descubrieron entonces la estevia, la analizaron, vieron que era buena y desde entonces, ha conseguido tener aproximadamente el 50% del mercado de los edulcorantes en dicho país. Se consume de forma habitual y es completamente legal en China, los países del sudeste asiático y toda Sudamérica donde se vende en los supermercados como cualquier otro edulcorante, los países de América del Norte y los de la Unión Europea a partir del 2008 aceptaron su uso como edulcorante natural. El incremento en su consumo nacional e internacional y baja disponibilidad de materia prima a dado lugar a iniciativas para aumentar la superficie del cultivo bajo iniciativas de gobierno, industriales y sector social. En México durante el 2014, se contaba una superficie de 57 hectáreas bajo condiciones de riego y los principales estados productores eran Nayarit (24 ha), Chiapas (2 ha), Campeche (21 ha) y Quintana Roo (10 ha) (SIAP, 2016). En la actualidad, aun y cuando no aparecen en la estadística oficial, otros estados que siembran son Sinaloa, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Tamaulipas, Veracruz, Tabasco y Yucatán.

La superficie sembrada de estevia en el mundo se sitúa en alrededor de 30,000 hectáreas, de las cuales 25 mil

estaban sembradas en la República Popular de China. Paraguay ocupa el segundo lugar con unas 800 has (Pymes Paraguayas, 2006). China comercializa el 50% de su producción en su mercado interno, el 40% lo exporta a Japón y el 10% restante a Corea, Indonesia y Estados Unidos. Paraguay por su parte como segundo productor mundial de hoja de estevia, tiene en Japón su principal cliente y la fábrica que tiene Brasil en el sur de su territorio (Paraná). También exporta en menores cantidades a Europa y México. El volumen de producción mundial asciende entre las 100,000 y 200,000 toneladas de hoja seca, siendo los principales productores China, con aproximadamente el 75% de la producción mundial, y Paraguay con cerca del 8% (Campuzano *et al.*, 2009).

En México por las condiciones de precipitación y el alto costo que implica su establecimiento en la mayoría de las regiones donde se puede sembrar *S. rebaudiana*, se establece bajo condiciones de riego, reportándose solamente una hectárea de temporal en 2014 en el estado de Veracruz con un rendimiento de 1.3 t ha<sup>-1</sup> de hoja seca, considerado como muy bajo. La plantación de riego puede estar en estructura protegida (casa sombra o invernadero) o bien a cielo abierto. Puede estar sin cubierta vegetal o acolchado o bien sólo acolchado, el arreglo topológico puede ser variado en surcos o bordos a hilera sencilla, a hilera doble, triple, cuádruple, quintuple e incluso séxtuple. Dependiendo del número de hileras es el ancho del bordo o cama y van desde 50 cm hasta camas de 120 cm de ancho. Otro aspecto que influye en el sistema de producción es la demanda del mercado respecto así se requiere orgánica o producida de manera convencional, ya que los productos para su nutrición y para el control de plagas y enfermedades que se utilizan son diferentes. La propagación de *S. rebaudiana* por semilla no es recomendable, ya que el porcentaje de germinación es menor a 5% (Puri *et al.*, 2011; Rodríguez, 2007). El uso de esquejes es la forma usual y eficiente para su propagación, para obtener una plantación uniforme con características de las plantas madre. Se recomienda utilizar esquejes terminales antes de que emitan botones florales de 12 a 15 cm de longitud y de 3 a 4 nudos, para cortar de 8 a 10 cm y dejar de 3 a 4 pares de hojas (Figura 1 B-C). La inoculación de *S. rebaudiana* consiste en poner en contacto los esquejes con biofertilizantes, tales como *Rhizophagus intraradices* o la mezcla de *Bacillus* sp. y *Azospirillum brasilienses*. En cualquier caso, se utilizan 15 g por litro de agua y se agita para mantener la solución homogénea. Los esquejes





**Figura 1.** A: Planta de *Stevia rebaudiana*. B-C: Corte y preparación de esquejes para propagación asexual.

se remojan durante un minuto en la solución antes de plantarlos. Evitando la exposición prolongada en la solución, la cual podría producir daños y fallas en el enraizado (Lozano-Contreras y Ramírez-Jaramillo, 2015). Para cultivo, es recomendable el suelo areno-arcilloso o franco-arcilloso con regular a alta proporción de materia orgánica, medianamente fértil, permeable, con razonable capacidad de retención de humedad, con buen drenaje y pH de 6 a 6.5 siempre que no sean salinos (Figura 2). Es importante evitar el establecimiento de la estevia en aquellos lugares de tierras bajas que no posean un buen drenaje (Cassacia y Álvarez, 2006; Duarte, 2008; University of Kentucky, 2010). De acuerdo con Duarte

(2008), la preparación del terreno debe realizarse entre 60 y 90 días antes del trasplante y de ser necesario, realizar las correcciones del pH del suelo de acuerdo al resultado del análisis de suelo. En suelos con porcentajes de materia orgánica bajo, el cultivo debe ser posterior a un abono verde, tal como la mucuna ceniza (*Mucuna pruriens*), o el millete (*Pennisetum americanum*) o bien incorporar materia orgánica al suelo.

### Preparación de camas o eras

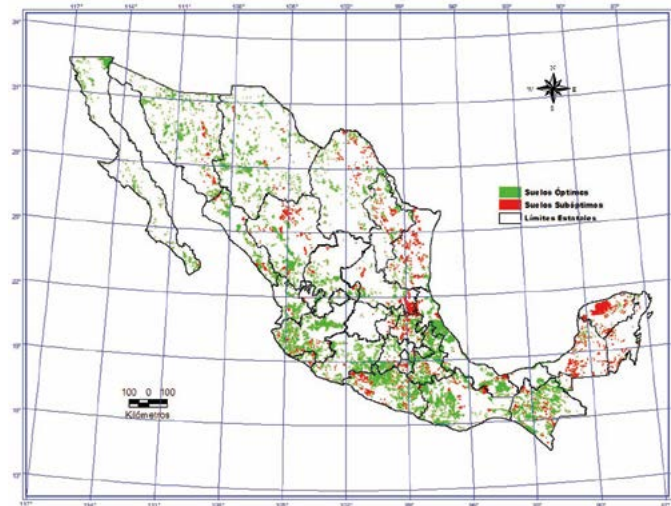
Esta labor puede hacerse de forma manual o mecánica; las eras deben ser de 100 a 120 cm de ancho y con una altura de 20 a 30 centímetros (dependiendo de la inclinación del terreno). Las plantas no toleran encharcamiento, por ello es necesario construir un buen sistema de drenaje; más aun teniendo en cuenta que la vida útil del cultivo es de 3 a 5 años, y se recomienda aplicar a cada era de 120 cm por 50 metros de largo, cinco bultos de materia orgánica (INIFAP, 2014). La estevia debe sembrarse de preferencia en la época seca con temperatura ambiente de 20 °C a 25 °C, esto con el fin de evitar los excesos de humedad de las precipitaciones de la época de lluvias y temperaturas altas que favorecen la presencia de enfermedades fungosas y que dañen a la planta. La planta debe sembrarse profundo, dejando enterrados los dos primeros pares de hoja, con el fin de garantizar los rebrotes desde la superficie del suelo (INIFAP, 2014). Existe una diversidad de recomendaciones respecto a la densidad adecuada, y oscilan entre 50,000 y 120,000 plantas ha<sup>-1</sup>. Generalmente se recomiendan densidades de 80 a 100,000 plantas ha<sup>-1</sup> con espaciamientos entre líneas de 45 a 65 cm; para altos rendimientos se sugiere 160,000 plantas ha<sup>-1</sup>, pero se menciona también que el costo adicional de las altas densidades puede no ser económicamente viable (Midmore y Rank, 2002). Cassacia y Álvarez (2006), recomiendan 95,200 plantas ha<sup>-1</sup> para hileras simples (70×20 cm) y para doble hilera hasta 100,000 (80×12.5 o 50×20 cm), y hasta 121,212 (89×30×15). Recientemente se ha estimado que se requerirían de 50 a 100,000 plantas plantas ha<sup>-1</sup> (Universidad de Kentucky, 2010). La utilización de hileras dobles se justifica en cuanto se pretende utilizar camas con riego por goteo, siendo suficiente una cama para el riego con cuatro hileras. En estevia existen materiales criollos principalmente provenientes de Paraguay; cuando las siembras se realizan con estos materiales se tienen plantas que presentan diferencias morfológicas y fenológicas, por lo tanto existe variabilidad en sus componentes de rendimiento (tamaño de planta, longitud y ancho de hoja, época de floración y cosecha) (Duarte, 2008).



Entre las variedades más utilizadas en México además de las criollas de Paraguay, están la Morita II que proviene del Japón y la Eirete que es una variedad clonal proveniente de Paraguay, ambas con un alto contenido de Rebaudiósido-A (INIFAP, 2014). Para la mejor época de trasplante, es importante considerar como temperaturas adecuadas entre 20 °C y 30 °C, por lo cual será

necesario determinar en cada zona, la época en que se presenta este rango térmico para elegir el momento más adecuado (Ramia, 2002; Landázuri y Tigrero, 2009).

Otro aspecto importante, es evitar áreas de precipitaciones muy altas, sobre todo en regiones con suelos franco-arcillosos para evitar ataque de hongos en las primeras etapas de desarrollo de la planta y lograr mayor sobrevivencia. Aparentemente requiere riego superficial frecuente ya que la planta tiene poca tolerancia al estrés hídrico (Shock, 1982). Generalmente se asume que el riego complementario es esencial para evitar cualquier estrés hídrico, a menos que la zona tenga un régimen confiable de precipitaciones a lo largo del año. Se ha sugerido el riego por aspersión, aunque esto podría favorecer enfermedades en las hojas y reduce la producción de semillas. Cualquier estrés de humedad puede reducir la producción de hoja. Se recomienda administrar humedad al cultivo de manera consistente a través de un sistema de riego por goteo y poco profundo debido a que las raíces de estevia tienden a producirse cerca de la superficie del suelo. El riego se debe suspender 15 días antes de la cosecha, para no afectar el contenido de glucósidos en la hoja (Casaccia y Álvarez, 2006). Teóricamente, la dosis de fertilización serían 105 kg de N, 23 kg de P y 180 kg de K ha<sup>-1</sup>. No parece haber requerimientos inusuales de micronutrientes (Midmore y Rank, 2002). Algunos estudios indican que por cada tonelada de hoja seca, la planta extrae 65 kg de N, 8 de P, 56 de K, 16 de Ca y 4 de Mg; por tanto, para una producción de 2.5 t ha<sup>-1</sup> de hoja seca se requieren 162 kg N, 19 de P, 140 de K, 40 de Ca y 9 de Mg (Casaccia y Álvarez, 2006). La estevia es una planta que compite con la maleza (Shock, 1982), por lo cual el cultivo debe permanecer



**Figura 2.** Suelos óptimos y subóptimos para cultivar *Stevia rebaudiana*.

libre de ella los primeros 30 días de su desarrollo y posteriormente todo el tiempo, más precisamente los primeros 20 a 30 días posteriores a cada cosecha. El control eficiente de la maleza es una de las operaciones que determinan el éxito en la producción del cultivo (Casaccia y Sánchez, 2006). Se recomiendan diversas estrategias para su control, tal como la remoción manual, el

control mecánico, químico y el uso de coberturas muertas (Casaccia y Álvarez, 2006). Existe cierta controversia entre los autores sobre el uso de algunos métodos, por ejemplo, Tamayo e Hincapié (2005) mencionan que el control mecánico con azadón o azada no es recomendable porque debe evitarse descubrir o lastimar las raíces de la planta, por lo cual se recomienda realizar el control de manera manual; por su parte, Villagrán et al. (2009) indican que existen herbicidas selectivos los cuales pueden ser utilizados en la pre-siembra y que la utilización de herbicidas en plantaciones ya establecidas no es recomendable, se debe hacer el control de maleza en forma manual. Una estrategia que ha mostrado ser efectiva para el control de maleza es el uso de plástico blanco-negro como cubierta de suelo (Midmore y Rank, 2002).

Durante un año de cultivo se realizan de tres a cuatro cortes, que se repiten en los cinco años que potencialmente el cultivo puede vivir (Casaccia y Álvarez, 2006). Las podas son importantes para el desarrollo y cuidado de la estevia, y se deben hacer en las primeras horas de la mañana o últimas de la tarde, evitando horas o días de alta radiación solar, de tal manera de evitar deshidratación y secamiento de las ramas secundarias y terciarias. La herramienta más recomendada para realizar cualquier tipo de poda es la tijera podadora, esta herramienta debe ser desinfectada antes de iniciar la poda y cuando se va a cambiar de era o cama, y para ello se puede utilizar productos desinfectantes a base de yodo.

### Poda de formación

La poda de formación se realiza a los ocho días después

de la siembra en campo. Esta poda consiste en cortar el ápice o yema terminal de la plántula, dejando como mínimo tres o cuatro pares de hoja con el propósito de estimular la brotación de las ramas laterales. Veinte días después de la primera poda, se realiza la segunda, que consiste en eliminar las ramas secundarias, de la misma forma en que se realizó la primera. En adelante se realizan podas de las ramas terciarias y cuaternarias que sean necesarias y eliminar los botones florales hasta que la planta haya macollado y tenga 25 cm de alto. Después de cada poda es recomendable aplicar un fungicida y un fertilizante foliar. El fungicida, con el fin de proteger la herida causada, de la entrada de patógenos y el fertilizante foliar, para estimular la brotación de las yemas o rebrotes. Los daños ocasionados por insectos del orden Coleoptera, Lepidoptera y Orthoptera influyen directamente en el rendimiento del cultivo, pues consumen las hojas, con lo cual el área foliar se reduce notoriamente, traduciéndose en una menor cosecha de hojas comerciales. Las plagas chupadoras y raspadoras (Hemiptera, Homoptera, Acari y Thysanoptera) causan daño indirecto, pues se alimentan de la savia, disminuyendo el crecimiento de la planta por reducción de foto asimilados disponibles para los procesos metabólicos. Los insectos masticadores *Diabrotica* sp., *Pseudoplusia includens*, *Spodoptera* sp. y *Schistocerca* sp. son los que ocasionan daños directos en la producción debido a la reducción de área foliar por el consumo de hojas. Las enfermedades encontradas en estevia son causadas por fitopatógenos que provocan marchitamiento, manchas necróticas y ennegrecimiento y cancro, por hongos *Fusarium* sp., *Rhizoctonia*

sp. y *Sclerotium* sp. que ocasionan muerte de las plantas, reduciendo así la población de estevia por unidad de área.

Para el control de enfermedades como manchas foliares de *Septoria* y *Alternaria* se recomienda sulfato de cobre a razón de 3 g L<sup>-1</sup> de agua (Duarte, 2008). Se recomienda realizar un manejo preventivo de las enfermedades, iniciar con el correcto tratamiento del suelo del semillero y utilización de agua limpia para el riego. Desde el inicio del desarrollo de los plantines se deberá llevar a cabo tratamientos preventivos semanales para preservarlas del ataque de las enfermedades citadas anteriormente, son convenientes las aplicaciones de sulfato de cobre carboxilado, alternado con Carbendazim de acción sistémica (Casaccia y Álvarez, 2006).

**Número de cortes.** El número de cortes están en función de las condiciones climáticas y de suelos, por lo general, se realizan hasta cuatro cortes por año, sin embargo dependiendo del manejo y la variedad se pueden llegar a realizar hasta ocho cortes al año, sobre todo en regiones donde la luminosidad superan las 3000 horas luz al año.

**Momento del corte.** El momento ideal del corte es cuando la plantación presenta un máximo de 5% de botones florales o una semana antes de que abran los botones florales, en esta etapa las hojas de *S. rebaudiana* poseen el mayor contenido de edulcorantes, es decir, el pico más alto de glucósidos. Se debe cortar en tiempo seco y después que el rocío se haya disipado (Cassacia y Álvarez, 2006), y tener precaución de no cortar la hoja

cuando está muy húmedo el clima o con amenaza de lluvia para evitar que se oxide.

**Formas de Cosechar.** Puede ser en forma mecanizada con cosechadora mecánica; o semi-mecanizada con una maquina podadora a la cual se le adapta una maquina corta-setos y la manual que se realiza con tijeras de podar. La altura de corte ideal de la planta de Stevia es de 10 cm y a esta altura la pérdida de plantas es mínima. Es importante después de cada cosecha aplicar un fungicida a base de cobre para evitar problemas de hongos (INIFAP, 2014). Inmediatamente al corte, se debe realizar la pre limpieza de las ramas, que consiste en la eliminación de las hojas basales (hojas negras y marrones) que de lo contrario se mezclan con las hojas de primera afectando la calidad final de la materia prima, con esta sencilla actividad se logra obtener mayor cantidad de hojas secas de calidad superior.

**Secado de la hoja.** El secado de hoja puede hacerse directamente al sol, las ramas y hojas cortadas deben colocarse sobre una malla media sombra, o plástico sin encimar, dejar al sol hasta el atardecer y en caso de que el secado no se complete se debe de recoger y guardar bajo techo, al día siguiente sacar al sol hasta completar el secado. Una vez secas las hojas deben separarse de los tallos. Otra opción es la implementación de un secador artificial, en el cual se deberá procurar que las hojas no contengan más de un 12% de humedad, antes de su almacenamiento. Después de seco, el producto guarda su propiedad por mucho tiempo, sin perder su poder edulcorante.

## Industrialización

Debido a las múltiples propiedades atribuidas a los glucósidos de la *S. rebaudiana*, se han desarrollado y optimizado procesos industriales para la obtención de los principios activos a partir de la hoja seca. El proceso se basa en una extracción acuosa del material vegetal a temperatura controlada seguida de varios pasos de purificación, siendo la etapa clave del proceso el pasaje del líquido de extracción a través de una resina (Resina 1) que retiene selectivamente los principios edulcorantes y deja pasar los otros componentes extraídos simultáneamente con éstos. La recuperación del producto de interés se logró por elución de la columna con una mezcla hidroalcohólica, completándose la purificación por pasajes sucesivos a través de una resina de intercambio catiónica (Resina 2), una resina de intercambio aniónica (Resina 3) y una columna de carbón activado granulado. El extracto final es un líquido incoloro que se concentra por evaporación al vacío hasta la obtención de los cristales (Ramírez *et al.*, 2011).

Los cristales o polvos obtenidos presentan un ligero sabor amargo, debido a la elevada concentración de esteviósido (85-95%); sin embargo, debido a la demanda del producto, han sido desarrolladas sucesivamente nuevas técnicas de extracción de esteviósido y técnicas para eliminar su sabor amargo. Las mismas se dividen en dos grandes grupos. El primero consiste en eliminar el sabor amargo que presenta el esteviósido mediante la fermentación y el otro consiste en el método de aprovechar el segundo componente, el Rebaudiósido-A, que no presenta sabor amargo. Para esta última técnica fueron desarrolladas las variedades de estevia que contienen el Rebaudiósido-A, en cantidad similar al Esteviósido como Morita I y II y Eiretre (Oue y Ueno, 2003).

## CONCLUSIONES

La Estevia, puede ser para los productores de México un cultivo innovador y rentable, presentando condiciones promisorias del mercado interno y del exterior. El consumo ya sea como hierba o como productos industrializados, derivados de esta especie vegetal, es muy interesante, pues está destinada a sustituir el uso de edulcorantes sintéticos como el Aspartame, Sacarinas, Ciclamatos, entre otros productos que cada vez son más cuestionados por presentar riesgos para la salud de los usuarios. En México, se cuenta con las condiciones agroecológicas óptimas para producir estevia, por lo que actualmente existen más de 12 estados que la están produciendo en el país.

## LITERATURA CITADA

- Alonzo-Torres M. 2007. Uso del Kaa Hee en la horticultura. En: Producción de hortalizas todo el año. Mod. IV. Producción de Kaa Hee. Provincia de Formosa. Argentina. 13 p.
- Bonilla C.R., Sánchez M.S., Perlaza D.F. 2007. Evaluación de métodos de propagación, fertilización nitrogenada y fenología de estevia en condiciones del Valle del Cauca. Acta Agronómica. (Colombia) 56 (3):131-134.
- Campuzano C., Echeverría V., Dueñas L., Niño C. 2009. Nuevas oportunidades para la Stevia. Tendencias Internacionales. Proexporta Colombia. Bogotá, Colombia
- Casaccia J., Álvarez E. 2006. Recomendaciones técnicas para una producción sustentable del ka'a he'e (*Stevia rebaudiana* (Bertoni) en el Paraguay. Manual Técnico 8. Caacupe Ministerio de Agricultura y Ganadería, Dirección de Investigación Instituto Agronómico Nacional Agrícola. Asunción-Paraguay. 43 p.
- Casaccia J., Sánchez O. 2006. Ka'a he'e Stevia rebaudiana (Bertoni), Bertoni. (Desplegable). Instituto Agronómico Nacional "Ing. Agr. Hernando Bertoni" Ministerio de Agricultura y Ganadería. Vice Ministerio de Agricultura. Dirección de Investigación Agrícola. Caacupé, Paraguay.
- Duarte R.C. 2008. Análisis de la producción del Ka'a He'e. Agencia Financiera de Desarrollo (AFD). Asunción, Paraguay.
- Huang X., Fu J., Di D. 2009. Preparative isolation and purification of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* Bertoni using high-speed counter-current chromatography. Separation and Purification Technology 71: 220-224
- INIFAP. 2014. Tecnología de Producción. Cultivo de Estevia *Stevia rebaudiana*, Bertoni, Bajo Condiciones de Riego. Centro de Investigación Regional Sureste. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Mérida, Yucatán.
- Landázuri P., Tigrero J. 2009. El cultivo de Stevia rebaudiana. En: *Stevia rebaudiana* Bertoni, una planta medicinal. A. Landázuri & J. O. Tigrero (Eds.). Bol. Téc. Edición Especial. ESPE. Sangolquí, Ecuador.
- Lozano-Contreras M.G., Ramírez-Jaramillo G. 2015. Enraizamiento de esquejes de estevia con biofertilizantes. Desplegable para productores No. 6. Centro de Investigación Regional Sureste, Campo Experimental Mocochoá. Mérida, Yucatán.
- Midmore D.J., Rank A.H. 2002. A new rural industry – Stevia – to replace imported chemical sweeteners. A report for the Rural Industries Research and Development Corporation. RIRDC Web Publication No W02/022. Sidney, Australia.
- Martínez P.T. 2000. La Hierba Dulce, Historia, Usos y Cultivo de *Stevia rebaudiana* Bertoni. Ciencias de la Salud. Madrid. 125 p.
- Oue Y., Ueno S. 2003. ¿En qué consiste el "Método de cultivo usando la Stevia"? Presentación del "Método de cultivo usando la Stevia". Traducción Ing. Agr. Tomio Hanano, Profesor de la Universidad Nacional de Asunción. Japón: Agencia Oficial para el Desarrollo. Asunción, Paraguay.
- Pymes Paraguayas. 2006. Diagnostico Cadena Stevia. Foro de Competitividad de la cadena productiva Stevia. Ministerio de Industria y Comercio - BID. Programa de Desarrollo Empresarial para las Pequeñas y Medianas Empresas – PR100. Paraguay.
- Puri M., Sharma D., Tiwari A.K. 2011. Downstream processing of stevioside and its potential applications. Biotechnology Advances. 29(6):781-791.
- Ramía A. 2002. Estudio económico para la producción y comercialización de *Stevia rebaudiana*. Proyecto de titulación

- de nivel Profesional. Carrera de Gestión de Agronegocios. Universidad El Zamorano. Zamorano, Honduras.
- Ramírez J.G., Avilés B.W., Moguel O.Y., Góngora G.S., May L.C., 2011. Estevia (*Stevia rebaudiana*, Bertoni), Un Cultivo con Potencial Productivo en México. Publicación especial No. 4. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Sureste. Mérida, Yucatán, México.
- Rengifo T., Jarma A.O., Araméndiz-Tatis H. 2005. Aspectos fisiológicos de estevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) en el Caribe Colombiano: I. Efecto de la radiación incidente sobre el área foliar y la distribución de biomasa. *Agronomía Colombiana*. 23(2):207-216.
- Rodríguez G.H., Acosta de la L.L., Hechevarría S.I., Rivera A.M.M., Rodríguez F.C. A., Sánchez G.E., Milanés F.M. 2007. Comportamiento del cultivo de *Stevia rebaudiana* (Bertoni) Bertoni en Cuba. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 12(4): 1-5.
- Shock C.C. 1982. Rebaudi's stevia: natural noncaloric sweeteners. *California Agriculture*. 36(9): 4-5.
- SIAP. 2016. Anuario estadístico-Agricultura. SAGARPA. ([www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)) (Consulta: abril, 2016).
- Tamayo V.A., Hincapié Z.M. 2005. Tecnología para el cultivo de la Estevia. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (CORPOICA). Programa Recursos Biofísicos. Antioquia, Colombia.
- University of Kentucky. 2010. Stevia. College of Agriculture. New Crop Opportunities Center. Lexington, Ky. USA.
- Villagrán J., Huayamave C., Lara J., Maluk O. 2009. Stevia: producción y procesamiento de un endulzante alternativo. Facultad de Economía y Negocios. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/7861/1/D-38559.pdf>







## CONVOCATORIA (Primer Comunicado)

La Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible A.C. (SOMAS) y la Universidad Autónoma Chapingo a través del Centro Regional Universitario del Noroeste, en colaboración con la Asociación de Organismos de Agricultores del Sur de Sonora A.C. (AOASS), Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA), el Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), La Universidad Tecnológica Sur de Sonora (UTS), la Universidad Tecnológica Etchojoa (UTE), el Instituto Tecnológico del Valle del Yaqui (ITVY), el CBTA N°197 Providencia, convocan a los profesores e investigadores de las Universidades Públicas y Privadas, de los Institutos de Investigación, Pequeñas y Medianas Empresas, Organizaciones de la Sociedad Civil No Gubernamentales, Asociaciones de Productores y personas relacionadas con temas de agricultura sostenible, desarrollo sostenible y sostenibilidad en México y el extranjero, a participar en el:

# XIV SIMPOSIO INTERNACIONAL Y IX CONGRESO NACIONAL DE AGRICULTURA SOSTENIBLE “AGRICULTURA SOSTENIBLE COMO BASE PARA LOS AGRONEGOCIOS”

Que se llevará a cabo del **25 al 30 de Septiembre de 2017**, en las instalaciones del Instituto Tecnológico de Sonora (Unidad Náinari), Cd. Obregón, Sonora, México.

### FECHAS IMPORTANTES

Hasta el 30 de junio de 2017: Recepción de trabajos.

31 de julio de 2017: Notificación de aceptación.

Hasta el 15 de agosto de 2017: Fecha límite de pago de inscripción de ponentes.

16 de septiembre de 2017: Fecha límite para enviar candidatura de Sede 2017.

Hasta el inicio del evento: Fecha límite de pago para asistentes

**MAYORES INFORMES [www.somas.org.mx](http://www.somas.org.mx)**

Dr. Ramón Jarquin Gálvez

Tel: (52-444)8524056 Ext. 6

presidente.somas.16.17@gmail.com



## MAESTRÍA en CIENCIAS INNOVACIÓN en MANEJO de RECURSOS NATURALES

### OBJETIVO

Preparar profesionales a nivel postgrado, dentro del ámbito del desarrollo e innovación en el manejo sustentable de recursos naturales para la transformación rural, que se integren dentro de los sectores público y privado y sean coadyuvantes en el desarrollo rural y en el mejoramiento de la calidad de vida de la sociedad.

*Innovando con ciencia y visión sustentable*



**Programa con reconocimiento del Padrón Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACYT**

Duración: **2 años**

**Becas CONACYT al 100%** para los estudiantes aceptados a cursar el programa de Maestría en Ciencias en Innovación en Manejo de Recursos Naturales

Fechas límite para recepción de documentos:

- Último día de Septiembre de cada año para ingreso en enero del siguiente año
- Último día de Mayo de cada año para ingreso en Agosto del mismo año

Los requisitos de ingreso y formato de admisión pueden descargarse en [www.colposlp.mx](http://www.colposlp.mx)

### Informes

Subdirección de Educación. Campus San Luis Potosí.  
Colegio de Postgraduados  
Tel. 01 (496) 963 0240 y 0448 ext. 4020 y 4008  
[admisiones.cslp@colpos.mx](mailto:admisiones.cslp@colpos.mx)  
Iturbide #73, Salinas de Hidalgo, S.L.P. C.P. 78600





Suscripciones, ventas, publicidad,  
contribuciones de autores:  
Guerrero 9, esquina Avenida Hidalgo,  
C.P. 56220, San Luis Huexotla,  
Texcoco, Estado de México.

Teléfono: 01 (595) 928 4703  
jocadena@colpos.mx; jocadena@gmail.com

