

Estudos em Biociências e Biotecnologia:

Desafios, Avanços
e Possibilidades

Manuel Simões
(organizador)

 EDITORA
ARTEMIS
2023

VOL III

Estudos em Biociências e Biotecnologia:

Desafios, Avanços
e Possibilidades

Manuel Simões
(organizador)

VOL III

 EDITORA
ARTEMIS
2023



O conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição Creative Commons Atribuição-Não-Comercial NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0). Direitos para esta edição cedidos à Editora Artemis pelos autores. Permitido o download da obra e o compartilhamento, desde que sejam atribuídos créditos aos autores, e sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A responsabilidade pelo conteúdo dos artigos e seus dados, em sua forma, correção e confiabilidade é exclusiva dos autores. A Editora Artemis, em seu compromisso de manter e aperfeiçoar a qualidade e confiabilidade dos trabalhos que publica, conduz a avaliação cega pelos pares de todos manuscritos publicados, com base em critérios de neutralidade e imparcialidade acadêmica.

Editora Chefe	Prof. ^a Dr. ^a Antonella Carvalho de Oliveira
Editora Executiva	M. ^a Viviane Carvalho Mocellin
Direção de Arte	M. ^a Bruna Bejarano
Diagramação	Elisangela Abreu
Organizador	Prof. Dr. Manuel Simões
Imagem da Capa	Vivilweb/123RF
Bibliotecário	Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Conselho Editorial

Prof.^a Dr.^a Ada Esther Portero Ricol, *Universidad Tecnológica de La Habana “José Antonio Echeverría”*, Cuba
Prof. Dr. Adalberto de Paula Paranhos, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil
Prof. Dr. Agustín Olmos Cruz, *Universidad Autónoma del Estado de México*, México
Prof.^a Dr.^a Amanda Ramalho de Freitas Brito, Universidade Federal da Paraíba, Brasil
Prof.^a Dr.^a Ana Clara Monteverde, *Universidad de Buenos Aires*, Argentina
Prof.^a Dr.^a Ana Júlia Viamonte, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal
Prof. Dr. Ángel Mujica Sánchez, *Universidad Nacional del Altiplano*, Peru
Prof.^a Dr.^a Angela Ester Mallmann Centenaro, Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
Prof.^a Dr.^a Begoña Blandón González, *Universidad de Sevilla*, Espanha
Prof.^a Dr.^a Carmen Pimentel, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
Prof.^a Dr.^a Catarina Castro, Universidade Nova de Lisboa, Portugal
Prof.^a Dr.^a Cirila Cervera Delgado, *Universidad de Guanajuato*, México
Prof.^a Dr.^a Cláudia Neves, Universidade Aberta de Portugal
Prof.^a Dr.^a Cláudia Padovesi Fonseca, Universidade de Brasília-DF, Brasil
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos, Universidade Federal da Grande Dourados, Brasil
Prof. Dr. David García-Martul, *Universidad Rey Juan Carlos de Madrid*, Espanha
Prof.^a Dr.^a Deuzimar Costa Serra, Universidade Estadual do Maranhão, Brasil
Prof.^a Dr.^a Dina Maria Martins Ferreira, Universidade Estadual do Ceará, Brasil
Prof.^a Dr.^a Edith Luévano-Hipólito, *Universidad Autónoma de Nuevo León*, México
Prof.^a Dr.^a Eduarda Maria Rocha Teles de Castro Coelho, Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Portugal
Prof. Dr. Eduardo Eugênio Spers, Universidade de São Paulo (USP), Brasil
Prof. Dr. Eloi Martins Senhoras, Universidade Federal de Roraima, Brasil
Prof.^a Dr.^a Elvira Laura Hernández Carballido, *Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo*, México



Prof.^ª Dr.^ª Emilas Darlene Carmen Lebus, *Universidad Nacional del Nordeste/ Universidad Tecnológica Nacional, Argentina*
Prof.^ª Dr.^ª Erla Mariela Morales Morgado, *Universidad de Salamanca, Espanha*
Prof. Dr. Ernesto Cristina, *Universidad de la República, Uruguay*
Prof. Dr. Ernesto Ramírez-Briones, *Universidad de Guadalajara, México*
Prof. Dr. Fernando Hitt, *Université du Québec à Montréal, Canadá*
Prof. Dr. Gabriel Díaz Cobos, *Universitat de Barcelona, Espanha*
Prof.^ª Dr.^ª Gabriela Gonçalves, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Portugal
Prof. Dr. Geoffroy Roger Pointner Malpass, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Brasil
Prof.^ª Dr.^ª Gladys Esther Leoz, *Universidad Nacional de San Luis, Argentina*
Prof.^ª Dr.^ª Glória Beatriz Álvarez, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof. Dr. Gonçalo Poeta Fernandes, Instituto Politécnico da Guarda, Portugal
Prof. Dr. Gustavo Adolfo Juarez, *Universidad Nacional de Catamarca, Argentina*
Prof. Dr. Håkan Karlsson, *University of Gothenburg, Suécia*
Prof.^ª Dr.^ª Iara Lúcia Tescarollo Dias, Universidade São Francisco, Brasil
Prof.^ª Dr.^ª Isabel del Rosario Chiyon Carrasco, *Universidad de Piura, Peru*
Prof.^ª Dr.^ª Isabel Yohena, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof. Dr. Ivan Amaro, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Brasil
Prof. Dr. Iván Ramon Sánchez Soto, *Universidad del Bío-Bío, Chile*
Prof.^ª Dr.^ª Ivânia Maria Carneiro Vieira, Universidade Federal do Amazonas, Brasil
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz, *University of Miami and Miami Dade College, Estados Unidos*
Prof. Dr. Jesús Montero Martínez, *Universidad de Castilla - La Mancha, Espanha*
Prof. Dr. João Manuel Pereira Ramalho Serrano, Universidade de Évora, Portugal
Prof. Dr. Joaquim Júlio Almeida Júnior, UniFIMES - Centro Universitário de Mineiros, Brasil
Prof. Dr. Jorge Ernesto Bartolucci, *Universidad Nacional Autónoma de México, México*
Prof. Dr. José Cortez Godínez, Universidad Autónoma de Baja California, México
Prof. Dr. Juan Carlos Cancino Diaz, Instituto Politécnico Nacional, México
Prof. Dr. Juan Carlos Mosquera Feijoo, *Universidad Politécnica de Madrid, Espanha*
Prof. Dr. Juan Diego Parra Valencia, *Instituto Tecnológico Metropolitano de Medellín, Colômbia*
Prof. Dr. Juan Manuel Sánchez-Yáñez, *Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, México*
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil
Prof. Dr. Leinig Antonio Perazolli, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil
Prof.^ª Dr.^ª Livia do Carmo, Universidade Federal de Goiás, Brasil
Prof.^ª Dr.^ª Luciane Spanhol Bordignon, Universidade de Passo Fundo, Brasil
Prof. Dr. Luis Fernando González Beltrán, *Universidad Nacional Autónoma de México, México*
Prof. Dr. Luis Vicente Amador Muñoz, *Universidad Pablo de Olavide, Espanha*
Prof.^ª Dr.^ª Macarena Esteban Ibáñez, *Universidad Pablo de Olavide, Espanha*
Prof. Dr. Manuel Ramiro Rodríguez, *Universidad Santiago de Compostela, Espanha*
Prof.^ª Dr.^ª Márcia de Souza Luz Freitas, Universidade Federal de Itajubá, Brasil
Prof. Dr. Marcos Augusto de Lima Nobre, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Brasil
Prof. Dr. Marcos Vinicius Meiado, Universidade Federal de Sergipe, Brasil
Prof.^ª Dr.^ª Mar Garrido Román, *Universidad de Granada, Espanha*
Prof.^ª Dr.^ª Margarida Márcia Fernandes Lima, Universidade Federal de Ouro Preto, Brasil
Prof.^ª Dr.^ª María Alejandra Arecco, *Universidad de Buenos Aires, Argentina*
Prof.^ª Dr.^ª Maria Aparecida José de Oliveira, Universidade Federal da Bahia, Brasil
Prof.^ª Dr.^ª Maria Carmen Pastor, *Universitat Jaume I, Espanha*
Prof.^ª Dr.^ª Maria do Céu Caetano, Universidade Nova de Lisboa, Portugal
Prof.^ª Dr.^ª Maria do Socorro Saraiva Pinheiro, Universidade Federal do Maranhão, Brasil
Prof.^ª Dr.^ª Maria Gracinda Carvalho Teixeira, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil



Prof.^a Dr.^a Maria Lúcia Pato, Instituto Politécnico de Viseu, Portugal
Prof.^a Dr.^a Maritza González Moreno, *Universidad Tecnológica de La Habana*, Cuba
Prof.^a Dr.^a Mauriceia Silva de Paula Vieira, Universidade Federal de Lavras, Brasil
Prof.^a Dr.^a Ninfa María Rosas-García, Centro de Biotecnología Genómica-Instituto Politécnico Nacional, México
Prof.^a Dr.^a Odara Horta Boscolo, *Universidade Federal Fluminense*, Brasil
Prof. Dr. Osbaldo Turpo-Gebera, *Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa*, Peru
Prof.^a Dr.^a Patrícia Vasconcelos Almeida, Universidade Federal de Lavras, Brasil
Prof.^a Dr.^a Paula Arcoverde Cavalcanti, Universidade do Estado da Bahia, Brasil
Prof. Dr. Rodrigo Marques de Almeida Guerra, Universidade Federal do Pará, Brasil
Prof. Dr. Saulo Cerqueira de Aguiar Soares, Universidade Federal do Piauí, Brasil
Prof. Dr. Sergio Bitencourt Araújo Barros, Universidade Federal do Piauí, Brasil
Prof. Dr. Sérgio Luiz do Amaral Moretti, Universidade Federal de Uberlândia, Brasil
Prof.^a Dr.^a Silvia Inés del Valle Navarro, *Universidad Nacional de Catamarca*, Argentina
Prof.^a Dr.^a Solange Kazumi Sakata, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN)- USP, Brasil
Prof.^a Dr.^a Stanislava Kashtanova, *Saint Petersburg State University*, Russia
Prof.^a Dr.^a Teresa Cardoso, Universidade Aberta de Portugal
Prof.^a Dr.^a Teresa Monteiro Seixas, Universidade do Porto, Portugal
Prof. Dr. Valter Machado da Fonseca, Universidade Federal de Viçosa, Brasil
Prof.^a Dr.^a Vanessa Bordin Viera, Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
Prof.^a Dr.^a Vera Lúcia Vasilévski dos Santos Araújo, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil
Prof. Dr. Wilson Noé Garcés Aguilar, *Corporación Universitaria Autónoma del Cauca*, Colômbia
Prof. Dr. Xosé Somoza Medina, *Universidad de León*, Espanha

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

E82 Estudos em biociências e biotecnologia [livro eletrônico] : desafios, avanços e possibilidades: vol. III / Organizador Manuel Simões. – Curitiba, PR: Artemis, 2023.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

Edição bilíngue

ISBN 978-65-81701-10-9

DOI 10.37572/EdArt_301123109

1. Ciências biológicas. 2. Biotecnologia. 3. Biomedicina.
I.Simões, Manuel.

CDD 574

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422



PREFÁCIO

O volume III da edição “Estudos em Biociências e Biotecnologia: Desafios, Avanços e Possibilidades” disponibiliza ao leitor um conteúdo essencialmente focado no estudo de plantas e interfaces para dar resposta a desafios científicos e sociais específicos. O desenvolvimento de conhecimento científico e de tecnologia para a produção sustentável de plantas, bem como o seu processamento e valorização é fundamental para a transição para uma bioeconomia e para a resposta a objetivos de desenvolvimento sustentável, estabelecidos pela Assembleia Geral das Nações Unidas. O livro está organizado em 12 capítulos que focam essencialmente a investigação molecular de plantas, estudos de fisiologia, fitopatologia, cultivo e processamento, e novas aplicações de plantas e das suas moléculas (produtos fitoquímicos).

Manuel Simões

<https://orcid.org/0000-0002-3355-4398>

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DEL AGUACATE CRIOLLO EN NUEVO LEÓN, MÉXICO

María Genoveva Álvarez Ojeda

Víctor Pecina Quintero

Efraín Acosta Díaz

Isidro Humberto Almeyda León

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231091

CAPÍTULO 2..... 12

ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA ASOCIADA CON EL INTERCAMBIO GASEOSO DE NUEVE MORFOTIPOS DEL CULTIVO DE *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon - MASHUA

Chacón Campana Máximo Américo

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231092

CAPÍTULO 3..... 38

LOCALIZACIÓN DE ANTOCIANINAS Y DUREZA DEL ENDOSPERMO EN GERMOPLASMA DE MAÍZ AZUL

Germán Fernando Gutiérrez-Hernández

José Luis Arellano-Vázquez

Luis Fernando Ceja-Torres

Estela Flores-Gómez

Patricia Vázquez-Lozano

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231093

CAPÍTULO 4..... 44

PARDEAMIENTO Y PORCENTAJE DE BROTAÇÃO EN TUBÉRCULOS DE CLONES Y VARIETADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) INFECTADOS POR *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Margarita Díaz Valasis

Víctor Manuel Parga Torres

María Genoveva Álvarez Ojeda

Ángel Ismael Narváez Rodríguez

Isidro Humberto Almeyda León

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231094

CAPÍTULO 5..... 54

ATAQUE DE *Frankliniella williamsi* HOOD (*Thysanoptera*: Thripidae) EN CULTIVARES DE YUCA (*Manihot esculenta* Crantz) EN TABASCO, MÉXICO

Dante Sumano López

Mario Rodríguez Cuevas

Víctor Hugo Arias López

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231095

CAPÍTULO 6.....62

DISEÑO BOX-BEHNKEN USANDO EL CRITERIO DE DESEABILIDAD PARA LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS POR *Aspergillus niger* ITV 02 A PARTIR DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR DESLIGNIFICADO

Marin I. Infanzón-Rodríguez

Daniel A. Zavala-Ortiz

Javier Gómez-Rodríguez

Maria Guadalupe Aguilar-Uscanga

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231096

CAPÍTULO 7.....76

IDENTIFICACIÓN DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* NEMATODO AGALLADOR EN BEGONIA CULTIVAR COCKTAIL

Ramón Rodríguez Blanco

José Israel Rodríguez Barrón

Elia Cruz Crespo

Fabiola Cinco García

Miguel Díaz Heredia

Kennedy Antonio Cortez Isiordia

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231097

CAPÍTULO 8..... 84

XANTONAS COMO AGENTES TERAPÉUTICOS PARA ENFERMEDADES INFLAMATORIAS DE LA PIEL

Mario E. Cancino-Díaz

Gabriel Betanzos-Cabrera

Juan C. Cancino-Díaz

 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231098

CAPÍTULO 9	96
RESISTÊNCIA BACTERIANA E COMPOSTOS NATURAIS: APLICAÇÃO DESTE CONCEITO NA APRENDIZAGEM DAS CIÊNCIAS	
<p>Maria José Saavedra Lúcia Chaves Simões Manuel Simões Conceição Fernandes</p>	
 https://doi.org/10.37572/EdArt_3011231099	
CAPÍTULO 10	106
CAMBIOS EN LA VEGETACIÓN DEL MANGLAR ENTRE 2009-2017 EN EL SISTEMA LAGUNAR DE CHACAHUA-PASTORÍA, OAXACA	
<p>Cristian Tovilla Hernández Rita Lorena Salas Roblero Erika María Villatoro Arreola</p>	
 https://doi.org/10.37572/EdArt_30112310910	
CAPÍTULO 11	133
INFLUENCIA DEL ESTRÉS HÍDRICO EN EL CRECIMIENTO DEL FRUTO Y EN LA FORMACIÓN DE ACEITE EN EL CULTIVO DEL OLIVO	
<p>Javier Hidalgo Moya Juan Carlos Hidalgo Moya Ana Leyva Bollero María del Carmen Jiménez Muñoz Daniel Pérez Mohedano Victorino Vega Macías</p>	
 https://doi.org/10.37572/EdArt_30112310911	
CAPÍTULO 12	141
DESHIDRATACIÓN DE CHILE HABANERO PARTE I: EXPERIMENTACIÓN Y MODELADO	
<p>Carlos Orozco-Alvarez Gisela Palma-Orozco Jonathan Alcántara-Melgar Sergio García-Salas Enrique Hernández-Sánchez</p>	
 https://doi.org/10.37572/EdArt_30112310912	
SOBRE O ORGANIZADOR	150
ÍNDICE REMISSIVO	151

CAPÍTULO 1

DIVERSIDAD MORFOLÓGICA Y GENÉTICA DEL AGUACATE CRIOLLO EN NUEVO LEÓN, MÉXICO

Data de submissão: 24/10/2023

Data de aceite: 13/11/2023

María Genoveva Álvarez Ojeda

Doctor en Ciencias
Especialidad en Microbiología
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Río Bravo. Km 61
Carretera Matamoros-Reynosa
CP. 88900, Río Bravo
Tamaulipas, México
<https://orcid.org/0000-0002-2203-5402>

Víctor Pecina Quintero

Doctor en Ciencias
Especialidad en Biotecnología de Plantas
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Bajío. Km 6.5
Carretera Celaya-San Miguel de Allende
C.P. 38110, Celaya
Guanajuato, México
<https://orcid.org/0000-0001-6539-5929>

Efraín Acosta Díaz

Doctor en Ciencias
Especialidad en Botánica
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental General Terán. Km 31
Carretera Montemorelos-China
Ex-hacienda Las Anacuas
C.P. 67400, Cd. General Terán
Nuevo León, México

Isidro Humberto Almeyda León

Doctor en Ciencias
Especialidad en Biotecnología
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental General Terán. Km 31
Carretera Montemorelos-China
Ex-hacienda Las Anacuas
C.P. 67400, Cd. General Terán
Nuevo León, México
<https://orcid.org/0000-0002-8790-4437>

RESUMEN: En el estado de Nuevo León, México, el aguacate se cultiva en huertos comerciales y de traspatio, predominando la utilización de uno o dos materiales, los cuales, se caracterizan por presentar un ciclo temprano de madurez fisiológica. Por lo tanto, su producción se concentra en un periodo de tiempo relativamente corto. El objetivo de este trabajo fue realizar estudios sobre la caracterización morfológica y genética de materiales de aguacate criollo del Estado de Nuevo León, México. Se colectaron 27 materiales en los municipios de Aramberri y Zaragoza ubicados en la región sur y 16 en los municipios de Sabinas Hidalgo y Bustamante, ubicados en la región norte. En la caracterización morfológica las variables evaluadas fueron el tamaño y forma de las hojas, así como el color, forma, madurez fisiológica y vida de anaquel de los frutos. La caracterización genética se realizó mediante

la técnica del DNA Polimórfico Amplificado al Azar (RAPD´s). Los materiales de aguacate criollos evaluados, presentaron características morfológicas de fruto sobresalientes y se integraron en tres grupos contrastantes de acuerdo a su período de madurez fisiológica, lo cual representa una alternativa para los productores de poder diversificar la producción de aguacate criollo al menos a nivel estatal o regional, ya que algunos materiales cumplen las expectativas de manejo y de los requerimientos del mercado estatal. Además, la diversidad genética detectada entre los materiales fue elevada (84 %), lo que permite inferir que hay variabilidad suficiente en el germoplasma de aguacate evaluado para la generación de nuevas variedades con características de interés comercial.

PALABRAS CLAVE: Aguacate criollo. Caracterización morfológica y genética.

MORPHOLOGICAL AND GENETIC DIVERSITY OF CREOLLO AVOCADO IN NUEVO LEÓN, MEXICO

ABSTRACT: In the state of Nuevo León, Mexico, avocado is grown in commercial and backyard orchards, predominating the use of one or two materials, which are characterized by presenting an early cycle of physiological maturity. Therefore, its production is concentrated in a relatively short period of time. The objective of this work was to carry out studies on the morphological and genetic characterization of creole avocado materials from the State of Nuevo León, Mexico. Twenty-seven materials were collected in the municipalities of Aramberri and Zaragoza located in the southern region and 16 in the municipalities of Sabinas Hidalgo and Bustamante, located in the northern region. In the morphological characterization, the variables evaluated were the size and shape of the leaves, as well as the color, shape, physiological maturity and shelf life of the fruits. Genetic characterization was carried out using the Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) technique. The creole avocado materials evaluated presented outstanding morphological fruit characteristics and were integrated into three contrasting groups according to their period of physiological maturity, which represents an alternative for producers to diversify the production of creole avocado in the State of New León, Mexico, since some materials meet the handling expectations and the requirements of the state market. Furthermore, the genetic diversity detected among the materials was high (84 %), which allows us to infer that there is sufficient variability in the avocado germplasm evaluated for the generation of new varieties with characteristics of commercial interest.

KEYWORDS: Creole avocado. Morphological and genetic characterization.

1 INTRODUCCIÓN

El género *Persea* agrupa aproximadamente a 190 especies (Van der Werff, 2002), se estima que 90 especies se encuentran distribuidas en el neotrópico, desde el sur de los Estados Unidos de Norteamérica (*Persea bor-bonia*, (L.) Spreng, *P. humilis* Nash y *P. palustris* Sarg), hasta Chile (*Persea lingue*) (Kopp, 1966; Barrientos *et al.*, 2010). De acuerdo con los hallazgos de aguacates primitivos en áreas de la Sierra Madre Oriental

de la región sur del Estado de Nuevo León, indican que esta zona forma parte del centro de origen primario de *Persea americana* var. *drymifolia* o aguacate mexicano (Storey *et al.*, 1986; Sánchez-Pérez, 1999).

En la actualidad se reconocen tres razas de aguacate: la raza mexicana (*Persea americana* var. *drymifolia*), la guatemalteca (*Persea americana* var. *guatemaltensis*) y la antillana (*Persea americana* var. *americana*), todas ellas con características específicas tanto en calidad como en adaptación climática, que fueron clasificadas como variedades botánicas (Bergh y Ellstrand, 1986). En los municipios de Aramberri y Zaragoza de la región sur del estado de Nuevo León y muy particularmente en las partes altas de la Sierra Madre Oriental, en donde nacen los afluentes del Río Blanco en Zaragoza, aún es posible encontrar plantas silvestres como parte de la vegetación natural, cuyas características morfológicas son contrastantes a las variedades cultivadas (Gutiérrez-Díez *et al.*, 2009). Se cultivan varios materiales nativos producidos tanto en sistemas tradicionales de huertos comerciales como de traspatio, con características fenológicas y morfológicas contrastantes (Acosta *et al.*, 2012; 2013; Gutiérrez-Díez *et al.*, 2009).

Los municipios del Estado donde se cultiva aguacate son, Aramberri y Zaragoza en la región sur, Sabinas Hidalgo, Bustamante, San Nicolás de los Garza y Monterrey en la región norte, y Santiago, Allende, Rayones, Montemorelos, General Terán, Linares y Hualahuises, en la región centro. Por su importancia económica y diversidad genética, destacan Aramberri, Zaragoza, Sabinas Hidalgo y Bustamante (Acosta *et al.*, 2012, 2013). El objetivo de este trabajo fue realizar la caracterización morfológica y molecular de materiales de aguacate criollo de Nuevo León, México.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

La colecta de los materiales se realizó en huertos comerciales de aguacate criollo bajo condiciones de riego, en los municipios de Aramberri y Zaragoza (27° 49' latitud norte, 98° 26' longitud oeste y 1160 msnm) en la región sur y en los municipios de Sabinas Hidalgo (26° 29' 59" latitud norte, 100° 9' 48" longitud oeste y 313 msnm) y Bustamante (26° 31' 30" latitud norte, 100° 28' 24" longitud oeste y 425 msnm) en la región norte del estado de Nuevo León.

2.1 MATERIAL GENÉTICO

En la región sur se colectaron 27 materiales criollos de aguacate, provenientes de seis huertos comerciales y uno de traspatio en los municipios de Aramberri e Ignacio Zaragoza (Cuadro 1). En la región norte, se colectaron 16 variedades criollas de aguacate,

provenientes de dos huertos comerciales, en los municipios de Sabinas Hidalgo y Bustamante, Nuevo León (Cuadro 2).

Cuadro 1. Nombre local de las variedades de aguacate criollo seleccionadas en los municipios de Aramberri y Zaragoza, Nuevo León, México.

Nombre local	Municipio	Nombre local	Municipio
Plátano temprano	A	Tamaulipas	Z
Plátano grueso-1	A	Plátano grueso-3	Z
María Elena	A	De peluquería	A
Campeón	A	Salvador	A
Mantequilla	A	Criollo boleado negro	A
Calabo	A	Cuerno	A
Huevo de paloma	A	Criollo boleado grande	A
Todo el año	A	Criollo boleado muy grande	A
De agua	A	Hule	A
Criollo-1	A	Pato [§]	A
Plátano delgado	A	Amarillo [§]	A
Huevo de toro	Z	Leonor	A
Pahuita	Z		
Plátano grueso-2	Z		
Crema	Z		

A = Aramberri; Z = Zaragoza; § Sistema de producción de traspatio.

Cuadro 2. Nombre local de las variedades de aguacate criollo seleccionadas en los municipios de Sabinas Hidalgo y Bustamante, Nuevo León, México.

Nombre local	Municipio	Nombre local	Municipio
Anita	SH	Rodriguez	SH
Pepe	SH	Pecoso	SH
Floreño	SH	El pila	SH
Blanquito	SH	Salazareño	SH
De la fosa	SH	Negro Santos	B
Cuervo	SH	Especial	B
Pera	SH		
Verde Pérez	SH		
Sabroso	SH		
Chapeño	SH		

SH = Sabinas Hidalgo; B = Bustamante.

2.2 CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE HOJAS Y FRUTOS

Para la caracterización morfológica de las hojas se consideró su forma y tipo de ápice. En los frutos se registró la forma, color, longitud de pedúnculo y vida de anaquel

de acuerdo a los descriptores morfológicos para fruto de aguacate del International Plant Genetic Resources Institute (IPGR, 1995). El ciclo de cosecha de los materiales, fue establecido de acuerdo al tiempo transcurrido desde la floración al inicio de la cosecha.

2.3 CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

La caracterización molecular del germoplasma colectado se realizó mediante la técnica del DNA Polimórfico Amplificado al Azar (RAPD). Inicialmente se utilizarán 40 iniciadores con diferentes porcentajes de concentración Guanina-Citocina (G-C). Con base en el polimorfismo generado se eligieron cuatro iniciadores: 3'-CGAACATGAG-5', 3'-GTCCCTGAAT-5' (Porcentaje de G-C 50%), 3'-CTTGGGTTCG-5' (Porcentaje de G-C 60%) y 3'-CGAGCCGAAC-5' (Porcentaje de G-C 70%), los cuales se utilizaron para el análisis de todas las muestras colectadas. Las reacciones de PCR se realizaron de acuerdo a las condiciones descritas por Cazares y colaboradores (2010).

2.4 RELACIONES GENÉTICAS

Para cada iniciador RAPDs, se generó una matriz binaria de unos y ceros, para la presencia "1" y ausencia "0" de cada una de las bandas en cada accesión. Matrices de similitud por parejas-fueron generados para los datos moleculares utilizando la versión FREETREE 2.1 (Pavlicek *et al.*, 1999). Se construyó un dendrograma utilizando el método de par-grupo no ponderado con la media aritmética (UPGMA) y el principal método de coordinar el análisis se realizó utilizando la versión de Treeview. Un remuestreo bootstrap se realizó para determinar la robustez del dendrograma. A partir de estas matrices, se determinaron los límites de confianza para cada comparación por pares (Felsenstein, 1985).

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DE LA HOJA

Los aguacates criollos de Nuevo León se agruparon en tres categorías, en la primera se incluyeron los que tienen hojas elípticas y los ápices agudos, excepto la variedad 'Amarillo' la cual tiene el ápice subagudo; en la segunda categoría se ubicaron los materiales que tienen el ápice subagudo u obtuso; la tercera categoría está integrada por los materiales hojas lanceoladas. Los resultados anteriores sugieren que existe una variación importante entre los materiales de aguacates nativos o criollos en el Estado de Nuevo León, en relación con las características morfológicas de la hoja (Figura 1).

Entre las características morfológicas de las hojas que indican que existe una variación entre los materiales nativos o criollos de aguacates evaluados, están el tamaño y la longitud del pecíolo, ya que son caracteres morfométricos relacionados con el área foliar de la planta. Esta información coincide con los resultados obtenidos por Manivel y Weaver (1974), en hojas de vid (*Vitis vinifera* cv. Grenache), en donde la longitud y el ancho de la hoja y la longitud del pecíolo tuvieron una alta correlación con el área foliar. De igual manera, hay coincidencia con la información reportada por Andrés *et al.* (2004), en chirimoyo (*Annona cherimola* Mill.), quienes determinaron que el área de la hoja, el perímetro de la hoja, la longitud del pecíolo y el eje longitudinal, fueron las variables que tuvieron mayores correlaciones, mostrando una dependencia nada deseable para ser un buen descriptor al detectar o describir el mismo tipo de información.

Figura 1. Variación morfológica en hojas de aguacates nativos del Estado de Nuevo León: a) hoja elíptica con ápice agudo; b) hoja lanceolada con ápice agudo; c) hoja elíptica con ápice subagudo; d) hoja ovalada con ápice obtuso.



3.2 CICLO DE COSECHA, CARACTERÍSTICAS Y VIDA DE ANAQUEL DEL FRUTO

Con base en el ciclo de inicio de cosecha, los materiales criollos de aguacate de Nuevo León se clasifican en tres grupos: uno de ciclo temprano; un segundo de ciclo intermedio, y un tercero de ciclo tardío (Cuadros 3 y 4). Todas las variedades de ciclo temprano tienen frutos de color negro, entre las cuales están: Plátano temprano, Plátano Grueso-1 (Testigo local), Plátano Delgado, María Elena y Campeón, entre otras. La mayoría de las variedades de ciclo intermedio son de frutos de color negro y sólo dos son de color verde; las variedades de frutos negros son Plátano Grueso-2, De Peluquería, Hule y Pato y las variedades de frutos verdes son Huevo de toro y Plátano Grueso-2. Las variedades de ciclo tardío son de frutos color verde (Mantequilla, Calabo, Pahuita y Crema).

Cuadro 3. Ciclo de inicio de cosecha, forma y color del fruto, longitud del pedúnculo y vida de anaquel de 27 materiales criollos de aguacate en la región sur del Estado de Nuevo León. (Descriptorios morfológicos para fruto de aguacate del International Plant Genetic Resources Institute, IPGR, 1995).

Nombre local	Ciclo de cosecha	Fruto		Longitud del pedúnculo (cm)	Vida de anaquel (días)
		Forma	Color		
Plátano temprano	Temprano	Ovalada	Negro	6.2	7.2
Plátano Grueso-1	Temprano	Ovalada	Negro	6.5	10.8
María Elena	Temprano	Ovalada	Negro	8.4	8.7
Campeón	Temprano	Ovalada	Negro	7.0	12.7
Mantequilla	Tardío	Esférica	Verde	15.7	6.3
Calabo	Tardío	Alargada	Verde	10.1	8.7
Huevo de Paloma	Temprano	Ovalada	Negro	9.3	9.5
Todo el Año	Temprano	Ovalada	Negro	7.5	13.0
De Agua	Temprano	Ovalada	Negro	4.0	12.0
Criollo 1	Temprano	Ovalada	Negro	3.4	10.2
Plátano Delgado	Temprano	Alargada	Negro	6.4	10.0
Huevo de toro	Intermedio	Alargada	Verde	5.3	4.3
Pahuita	Tardío	Ovalada	Verde	6.7	8.2
Plátano Grueso-2	Intermedio	Alargada	Verde	4.8	4.5
Crema	Tardío	Ovalada	Verde	8.7	9.2
Tamaulipas	Temprano	Ovalada	Negro	4.1	12.5
Plátano Grueso-3	Intermedio	Ovalada	Negro	5.0	12.0
De Peluquería	Temprano	Ovalada	Negro	6.6	8.2
Salvador	Intermedio	Alargada	Negro	5.4	13.0
Criollo Boleado	Temprano	Ovalada	Negro	5.4	7.5
Cuerno	Temprano	Ovalada	Negro	6.1	6.0
Criollo Boleado Grande	Temprano	Ovalada	Negro	5.8	9.8
Criollo Boleado muy Grande	Temprano	Ovalada	Negro	6.0	11.3
Hule	Intermedio	Ovalada	Negro	4.9	11.0
Pato	Intermedio	Alargada	Negro	8.2	8.5
Amarillo	Temprano	Alargada	Amarillo	4.2	6.7
Leonor	Temprano	Esférica	Negro	3.9	5.5

Temprano= Del 19 de junio al 15 de julio; Intermedio= Del 16 de julio al 14 de agosto; Tardío= Del 8 de octubre al 5 de noviembre.

Cuadro 4. Ciclo de inicio de cosecha, forma y color del fruto, longitud del pedúnculo y vida de anaquel de 16 materiales criollos de aguacate en la región norte del Estado de Nuevo León. (Descriptorios morfológicos para fruto de aguacate del International Plant Genetic Resources Institute, IPGR, 1995).

Nombre local	Ciclo de inicio de cosecha	Fruto		Longitud del pedúnculo (cm)	Vida de anaquel (días)
		Forma	Color		
Anita	Intermedio	Ovalada	Negro	5.0	5.0
Pepe	Intermedio	Alargada	Negro	6.8	11.0
Floreño Sabinas	Temprano	Esférica	Negro	3.3	5.5
Blanquito	Intermedio	Esférica	Verde	6.0	11.0
De la fosa	Intermedio	Ovalada	Negro	4.4	11.0
Cuervo	Intermedio	Alargada	Negro	8.5	11.0
Pera	Intermedio	Esférica	Verde	3.5	11.0
Verde Pérez	Intermedio	Ovalada	Verde	4.4	11.0
Sabroso	Intermedio	Esférica	Negro	6.5	11.0
Chapeño	Intermedio	Esférica	Negro	4.9	11.0
Rodríguez	Intermedio	Ovalada	Negro	4.5	4.0
Pecoso	Intermedio	Esférica	Verde	5.3	11.0
El pila	Intermedio	Esférica	Negro	6.3	11.0
Salazareño	Tardío	Ovalada	Negro	9.0	6.0
Negro S. (Bust)	Tardío	Ovalada	Negro	6.2	4.5
Especial (Bust)	Intermedio	Ovalada	Negro	6.7	4.8

Temprano= Del 19 de junio al 15 de julio; Intermedio= Del 16 de julio al 14 de agosto; Tardío= Del 8 de octubre al 5 de noviembre.

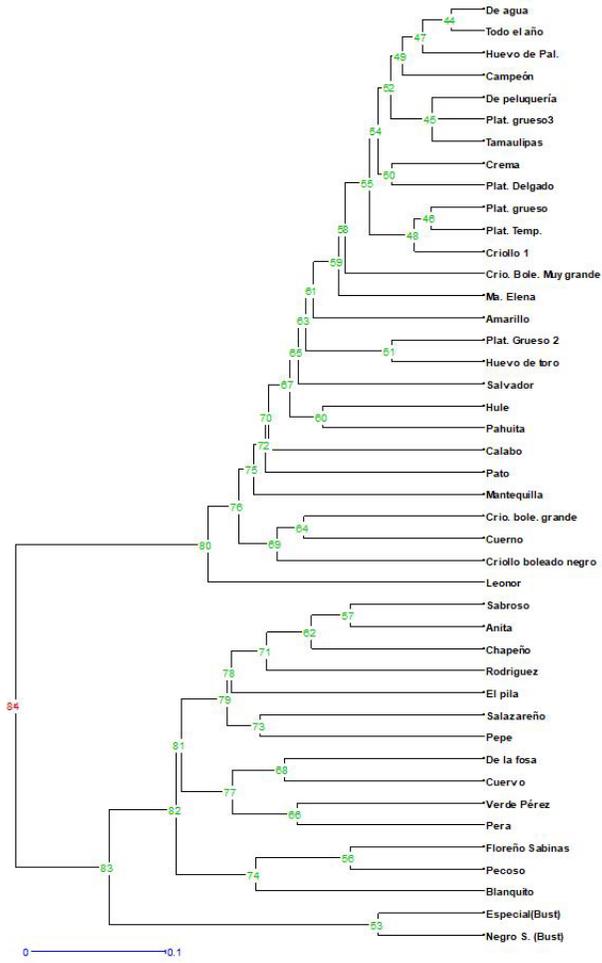
En relación con la vida de anaquel del fruto, los materiales se pueden clasificar en dos grupos, en uno se ubican los materiales que tienen valores altos que varían de 7.2 a 13.0 días y en otro aquellas que tienen valores bajos que varían de 4.0 a 6.7 días (Cuadros 3 y 4). Entre los materiales con los valores de vida de anaquel más altos están Plátano Grueso-1, Campeón, Todo el Año, De Agua, Criollo-1, Plátano Delgado, Tamaulipas, Plátano Grueso-3, Salvador, Criollo Boleado muy Grande y Hule. En general los valores promedio de vida de anaquel se pueden considerar como aceptables para aguacates nativos o criollos, aun cuando no existen reportes en la literatura para su comparación. Sin embargo, estos valores son menores que los reportados para el aguacate tipo Hass sin refrigeración (Sánchez-Pérez 1999).

3.3 RELACIONES GENÉTICAS

Los aguacates criollos, se agruparon en dos grande grupos o nodos de acuerdo a su origen geográfico, es decir en un nodo están agrupados los materiales colectados en la región sur y en otro nodo se agruparon los materiales de la región norte, dichas regiones presentan condiciones agroecológicas diferentes. Adicionalmente en el nodo donde se agrupan los materiales de la región norte se divide en dos subgrupos o en uno

de ellos se agrupan los materiales colectados en el municipio de Sabinas-Hidalgo y en el otro los colectados en el municipio de Bustamante (Figura 2).

Figura 2. Relaciones genéticas obtenidas mediante la técnica de RAPD entre materiales de aguacate criollo de Nuevo León.



Estos resultados son coincidentes con lo reportado por Cañas *et al.* (2015), quienes al realizar la caracterización molecular y morfológica de 111 cultivares criollos y comerciales de aguacate (*Persea americana* Mill) en el departamento de Antioquia, Colombia, encontraron altos niveles de heterocigocidad, y la distancia genética de Nei, produjo tres agrupaciones que incluyeron individuos que se encontraban con gran cercanía geográfica y similares condiciones climáticas. El nivel de diversidad genética registrado en el germoplasma de aguacate evaluado fue del 84 %, lo que coincide con lo observado por Gutiérrez-Díez *et al.* (2009), e incluso fue superior a lo observado por

Ashworth and Clegg en el 2003, quienes reportaron un promedio de diversidad genética del 60.7 % cuando analizaron 35 cultivares de aguacate y dos parientes silvestres por medio de marcadores microsátélites y por polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (RFLP).

Lo anterior, es de particular interés para el aguacate criollo del Estado de Nuevo León, cuyo problema para su comercialización es la corta vida de anaquel que presenta, por lo tanto, encontrar gran variación genética como lo detectaron Gutiérrez-Díez *et al.* (2009) y Gutiérrez-Díez *et al.* (2015), incrementa la posibilidad de generar nuevos materiales cuya vida de anaquel sea más prolongada, lo que aumentaría su valor comercial.

4 CONCLUSIONES

Los materiales de aguacate criollos en el Estado de Nuevo León, presentan características morfológicas de fruto sobresalientes y se integran en tres grupos contrastantes de acuerdo a su período de madurez fisiológica. Lo anterior, representa una alternativa para los productores nativos de aguacate, ya que algunos materiales cumplen las expectativas de manejo y de los requerimientos del mercado estatal, lo cual puede contribuir a diversificar la producción del aguacate criollo al menos a nivel estatal. Así mismo, la diversidad genética detectada en los materiales evaluados es alta (84 %), lo que permite inferir que hay variabilidad suficiente en este germoplasma para la generación de nuevas variedades de aguacate con características de interés comercial.

LITERATURA CITADA

Acosta, D.E., Hernández, T.I. y Almeyda, L.I.H. 2012. Evaluación de aguacates criollos en Nuevo León, México: región sur. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3:245-257.

Acosta, D.E., Almeyda, L.I.H, and Hernández, T.I. 2013. Evaluación de Aguacates criollos en Nuevo León, México: Región Norte. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4:531-542.

Andrés, A.J., Nieto, Á.R, Barrientos, P.A.F., Martínez, D.M.T., González, A.F., Segura, L.S.D., Cruz, C.J.G. y Gallegos, V.C. 2004. Variación morfológica de la hoja del chirimoyo. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 10(2):103-110.

Ashworth, V.E., and Clegg, M.T. 2003. Microsatellite markers in avocado (*Persea americana* Mill.): Genealogical relationships among cultivated avocado genotypes. *Journal Hereditas*, 94, 407-41. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14557394>.

Barrientos, P.A.F., Reyes, A.J.C., and Aguilar, M.J.J. 2010. Manual gráfico para la descripción varietal de Aguacate; Graphic Handbook for the Description of Avocado Varieties. Servicio Nacional de Inspección y Certificación de Semillas - Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SNICS-SAGARPA) y la Universidad Autónoma Chapingo (UACH). Tlalneapantla, Estado de México, México. 136p. <https://chapingo.mx/horticultura/pdf/producto/libros.pdf>

- Bergh, B. and Ellstrand, N. 1986. Taxonomy of the Avocado. California Avocado Society Year Book, 70, 135-146.
- Cañas, G.G.P, Galindo, L.L.F., Arango, I.R., y Saldamando, B.C.I. 2015. Diversidad genética de cultivares de aguacate (*Persea americana*) en Antioquia, Colombia. *Agronomía Mesoamericana*, 26 (1), 129-143. <http://hdl.handle.net/10669/17700>.
- Cazares, A.N.P., Gutiérrez, V.E.E., Verde, S.J., Pecina, Q.V. y Almeida, L.I.H. 2010. Caracterización molecular y producción de aceites esenciales de diferentes genotipos de orégano (*Lippia* spp.). *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 1:85-94.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.
- Gutiérrez-Díez, A., Martínez de la Cerda, J., García, Z.E.A., Iracheta, D.L., Ocampo, M.J.D. y Cerda, H.I.M. 2009. Estudio de la diversidad genética del aguacate en Nuevo León, México. *Rev. Fitotecnia Mexicana* 32 (1):9-18.
- Gutiérrez-Díez, A., Sánchez, G.A., Torres, C.J.A., Cerda, H.I.M. and Ojeda, Z.M. del C. 2015. Genetic Diversity of Mexican Avocado in Nuevo León, México. *In: M. Caliskan et al.*, editors, *Molecular Approaches to Genetic Diversity*. InTech, MEX. p. 141-159. doi:10.5772/59795.
- International Plant Genetic Resources Institute (IPGRI). 1995. Descriptors for Avocado (*Persea* spp.). International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy. 52 p.
- Kopp, L.E. 1966. A taxonomic revision of the genus *Persea* in the western hemisphere (*Perseae-Lauraceae*). <https://trove.nla.gov.au/version/25419219>.
- Manivel, L. and Weaver, R.J. 1974. Biometric correlations between leaf area and length measurements of 'Grenache' grape leaves. *Hort Science* 9:27-28.
- Pavlicek, A., Hrda, S., and Flegr, J. 1999. Free Tree - Free-ware program for construction of phylogenetic trees on the basis of distance data and boot-strap/jackknife analysis of the tree robustness. Application in the RAPD analysis of the genus *Frenkelia*. *Folia Biologica (Praha)* 45, 97-99. www.scirp.org/.../reference/ReferencesPapers.aspx?ReferencelD
- Sánchez-Pérez, J. de la L. 1999. Manejo Postcosecha del Aguacate. Boletín de la Asociación Agrícola Local de Productores de Aguacate de Uruapan, Michoacán. México. 4 p.
- Storey, W.B., Bergh, B. and G. Zentmyer, G.A. 1986. The origin, Indigenous range, and dissemination of the avocado. *Calif. Avocado Soc. 1986 Yearb.* 70: 127-133.
- Van der Werff, H. 2002. A synopsis of *Persea* (Lauraceae) in Central America. *Novon*, 12, 575-86. <https://www.jstor.org/stable/3393142>.

CAPÍTULO 2

ACTIVIDAD FOTOSINTÉTICA ASOCIADA CON EL INTERCAMBIO GASEOSO DE NUEVE MORFOTIPOS DEL CULTIVO DE *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon - MASHUA

Data de submissão: 06/11/2023

Data de aceite: 20/11/2023

Chacón Campana Máximo Américo

Universidad Nacional de

San Antonio Abad del Cusco

Facultad de Ciencias Biológicas

<https://orcid.org/0000-0002-3714-365X>

RESUMEN: *Tropaeolum tuberosum* R.&P. – mashua, es una planta alimenticia, originaria de la región andina, posee una gran variabilidad morfológica; por lo que la importancia de realizar trabajos fisiológicos, comparativos de su actividad fotosintética, interrelacionados con las condiciones medio ambientales, con capacidad adaptativa a la variación climática, cobra importancia. Se analiza la influencia de factores ambientales en su trabajo fotosintético y productividad, asociada con el intercambio gaseoso, tales como transpiración, tasa fotosintética, conductancia estomática, temperatura, radiación lumínica, radiación fotosintética activa (PAR), relacionado con su estructura anatómica, área foliar, y producción, de manera comparativa. El análisis anatómico se realizó en cortes histológicos y observaciones

con microscopio óptico. La evaluación de los diferentes parámetros fisiológicos se utilizó el equipo Photosynthesis System modelo CI-340, (IRGA). La investigación se realizó en campo abierto en los establecimientos de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco a una altura de 3365 m, 13°31'16" latitud sur, 71°57'53" longitud oeste. Los tubérculos de los morfotipos seleccionadas provienen del Jardín de germoplasma de la Comunidad Campesina de Viacha, distrito de Pisac provincia de Calca, Región Cusco. Por la anatómica foliar de *Tropaeolum tuberosum* R&P – mashua, presenta un mesófilo con parénquima de empalizada y parénquima esponjoso el que corresponde a una plantas tipo C3, por el tipo de metabolismo de anhídrido carbónico. La Radiación Fotosintéticamente Activa medida varían entre 468.82 y 1229.68 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. El anhídrido carbónico atmosférico en el campo experimental varía entre 246.2 a 338.4 ppm y una retención por el mesófilo de entre 93 y 191.80 ppm. Una fotosíntesis neta de 18.0 a 31.93 $\mu\text{mol}/\text{CO}_2/\text{m}^2/\text{s}$. Existe diferencia significativa por lo menos para más de dos morfotipos para la relación radiación fotosintéticamente activa, fotosíntesis neta, y transpiración. Existe una correlación positiva entre área foliar, área foliar específica con la producción de tubérculos por morfotipos; así como área foliar específica y conductancia estomática.

PALABRA CLAVE: Ecofisiología. Anatomía *Tropaeolum tuberosum*.

PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY ASSOCIATED WITH GAS EXCHANGE FROM NINE MORPHOTYPES OF *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon MASHUA

ABSTRACT: *Tropaeolum tuberosum* R. & P. - Mashua, is a food plant, native to the Andean region, it has great morphological variability; reason why the importance of carrying out physiological work, comparative of its photosynthetic activity, interrelated with environmental conditions, with adaptive capacity to climatic variation, becomes important. The influence of environmental factors on their photosynthetic work and productivity, associated with gas exchange, such as transpiration, photosynthetic rate, stomatal conductance, temperature, light radiation, active photosynthetic radiation (PAR), related to its anatomical structure, leaf area, is analyzed. , and production, comparatively. The anatomical analysis was performed in histological sections and observations with an optical microscope. Physiological parameters measurements were carried out by using Photosynthesis System model CI-340 based on infra-red rays for gas analysis (IRGA). The mesophyll of *T. tuberosum* R. & P., has a palisade parenchyma and spongy parenchyma which corresponds to a C3 plant, because of the carbon dioxide metabolism. Photosynthetically active radiation (PAR) ranged from 468.82 to 1229.68 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$. Atmospheric carbon dioxide 246.2 to 338.4 ppm, mesophilic retention 93 to 191.80 ppm and Net photosynthesis 18.0 to 31.93 $\mu\text{molCO}_2/\text{m}^2/\text{s}$. There is a significant difference in at least two morphotypes in photosynthetically active radiation, net photosynthesis, and transpiration. No significant correlation was found between leaf area, specific leaf area with tuber production by morphotypes; as well as specific foliar area and stomatal conductance.

KEYWORDS: Ecophysiology. Gas exchange. CO₂. *Tropaeolum tuberosum*

1 INTRODUCCIÓN

Tropaeolum tuberosum R.&P. – mashua, es una planta originaria de la región andina, su cultivo está catalogado como el cuarto en importancia en esta zona después de la papa, oca y papalisas. Se cultiva desde Colombia hasta el norte de Argentina y Chile, es conocida con diferentes nombres en cada país: mashua, mashwa (Perú y Ecuador); isaño, año, k'isaño (Perú y Bolivia), mashwallo, masuko, mascho (Perú), cubio (Colombia) (Tapia, 1992; Arbizu *et al.*, 1993). Sus tubérculos poseen un alto valor nutricional, Presentan elevada diversidad; de allí la importancia de realizar trabajos fisiológicos, comparativos de su actividad fotosintética, interrelacionados con las condiciones medio ambientales, con capacidad adaptativa a la variación climática. Por lo que en el presente trabajo se analiza la influencia de factores ambientales en su trabajo fotosintético y productividad, asociada con el intercambio gaseoso, tales como transpiración, tasa fotosintética, conductancia estomática, temperatura, radiación lumínica, radiación fotosintética activa (PAR), relacionado con su estructura anatómica, área foliar, materia seca, a partir de ello recomendar el control de algunos factores ambientales para mejorar el rendimiento, encaminando al mejoramiento genético.

Los recursos vegetales nativos y su variabilidad intraespecífica, merecen especial atención debido al alto riesgo de erosión genética a la que están expuestos.

2 MATERIALES

2.1 LUGAR DE EJECUCIÓN

La investigación se realizó en campo abierto en los establecimientos de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco a una altura de 3365 m, 13°31'16" latitud sur, 71°57'53" longitud oeste.

Los tubérculos de las accesiones (morfortipos) seleccionadas provienen del Jardín de germoplasma de la Comunidad Campesina de Viacha, distrito de Pisac provincia de Calca, Región Cusco.

Fig. 1. *Tropaeolum tuberosum* accesión -ACC-46 - A1.



Datos de pasaporte

	N° Acc	Dpto.	Provincia	Distrito	Localidad	Altitud	Latitud Sur	Longitud Oeste	Nombre Comun
A1	ACC-46	Cusco	Calca	Lamay	Huama	3692	13°20'14,3"	71°52'11,0"	Q'ello Cachun Wacachi

Fig. 2. *Tropaeolum tuberosum* accesión ACC23 - A2-



	N° Acc	Dpto.	Provincia	Distrito	Localidad	Altitud	Latitud Sur	Longitud Oeste	Nombre Comun
A2	ACC-23	Cusco	Calca	Lamay	Huama	3692	13°20'14,3"	71°52'11,0"	Q'ello Trompus

Fig. 3. *Tropaeolum tuberosum* accession ACC39 – A3-



	N° Acc	Dpto.	Provincia	Distrito	Localidad	Altitud	Latitud Sur	Longitud Oeste	Nombre Comun
A3	ACC-39	Cusco	Calca	Lamay	Huama	3692	13°20'14,3"	71°52'11,0"	Yurac Yanañahui

Fig.4. *Tropaeolum tuberosum* accession ACC14 – A4-



	N° Acc	Dpto.	Provincia	Distrito	Localidad	Altitud	Latitud Sur	Longitud Oeste	Nombre Comun
A4	ACC-14	Cusco	Calca	Lamay	Huama	3692	13°20'14,3"	71°52'11,0"	Puka Marcos

Fig.5 *Tropaeolum tuberosum* accession ACC49 – A5-



	N° Acc	Dpto.	Provincia	Distrito	Localidad	Altitud	Latitud Sur	Longitud Oeste	Nombre Comun
A5	ACC-49	Cusco	Calca	Lamay	Huama	3692	13°20'14,3"	71°52'11,0"	Puka Qasqa

Fig.6. *Tropaeolum tuberosum* accession ACC-29 – A6-



	N° Acc	Dpto.	Provincia	Distrito	Localidad	Altitud	Latitud Sur	Longitud Oeste	Nombre Comun
A6	ACC-29	Cusco	Calca	Lamay	Huama	3692	13°20'14,3"	71°52'11,0"	Puka Soqo

Fig.7 *Tropaeolum tuberosum* accession ACC27 – A7-



	N° Acc	Dpto.	Provincia	Distrito	Localidad	Altitud	Latitud Sur	Longitud Oeste	Nombre Comun
A7	ACC-27	Cusco	Calca	Lamay	Huama	3692	13°20'14,3"	71°52'11,0"	Yana Ruckii

Fig.8 *Tropaeolum tuberosum* accession ACC21 – A8-



	N° Acc	Dpto.	Provincia	Distrito	Localidad	Altitud	Latitud Sur	Longitud Oeste	Nombre Comun
A8	ACC-21	Cusco	Calca	Lamay	Huama	3692	13°20'14,3"	71°52'11,0"	Yana Pitiquiña

Fig.9. *Tropaeolum tuberosum* accesión ACC3 – A9-



	N° Acc	Dpto.	Provincia	Distrito	Localidad	Altitud	Latitud Sur	Longitud Oeste	Nombre Comun
A9	ACC-3	Cusco	Calca	Lamay	Huama	3692	13°20'14,3"	71°52'11,0"	Sayllaseray

2.2 EQUIPO DE CAMPO

- Photosynthesis System modelo CI-340 .

3 METODOLOGIA

3.1 INSTALACIÓN DEL CAMPO EXPERIMENTAL

Se sembraron tres surcos de siete golpes por morfotipo, separados 80 cm entre surcos y 40 cm entre golpe, haciendo un total de 21 golpes por cada accesión, con un total de 27 surcos con 189 golpes.

Para la evaluación se tomaron las cinco plantas centrales de cada surco, dejando las plantas laterales por estar expuestas a condiciones medioambientales diferentes.

3.2 CORTES HISTOLÓGICOS

Las porciones de órganos vegetativos se fijaron en solución FAA (formol, alcohol, ácido acético) por espacio mínimo de 48 horas, antes de realizar la deshidratación y fijación en parafina. Los cortes se realizaron en micrótopo, para luego ser coloreados con colorantes ácidos y básicos y ser observados al microscopio compuesto y su descripción.

3.3 EVALUACIÓN DE PARÁMETROS FISIOLÓGICOS

Las plantas fueron evaluadas en los períodos de crecimiento vegetativo, y floración, entre las 9 y 13 horas, tomando las cinco plantas centrales de cada surco, de la siguiente manera:

- En el período de crecimiento vegetativo se evaluó a los 85, 116 y 137 días de su siembra.
- En el período de floración a 162 días de su siembra a 30 y 50% de floración.
- La cosecha se realizó a los 220 días de su siembra.

La evaluación de los diferentes parámetros fisiológicos se realizó utilizando el equipo Photosynthesis System modelo CI-340, que emplea rayos infra-rojos para el análisis de gases (IRGA).

Los parámetros evaluados fueron:

- Concentración interna de CO₂
- Diferencia de presión de vapor
- Temperatura interna
- Conductancia estomática
- Radiación fotosintéticamente activa
- Fotosíntesis neta
- Transpiración

3.4 ANÁLISIS DE DATOS

Para el análisis y presentación de datos se utilizó Excel (2016) del paquete Microsoft Office y el programa R (V.3.5.1) para el análisis estadístico y creación de gráficos.

Para la presentación de datos de potencial hídrico, área foliar y densidad de estomas se utilizó la media y el error estándar, con la finalidad de realizar comparaciones con trabajos de investigación similares.

4 RESULTADOS

4.1 DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DE TROPAEOLUM TUBEROSUM R. & P

Anatomía caular.- En un corte transversal el tallo es irregularmente cilíndrico, presenta un tejido epidérmico continuo, formado por células circulares, con paredes primarias y capa cuticular gruesas y continuas, debajo de la cual se diferencia una sola capa de células colenquimatosas del tipo laminar, inmediatamente debajo se diferencia las células parenquimatosas del cortex. El cilindro central se diferencia claramente por la capa celular del periciclo, que se muestran de color claro y formado por células de mayor tamaño, en cuya parte interior se diferencia la eustela, coformada por el floema primario hacia el exterior y el xilema hacia el interior, dispuestos de manera discontinua, con una médula amplia en la parte central.

Fig.10. Corte transversal de tallo de *Tropaeolum tuberosum* Mashua.



Anatomía foliar.- Las hojas son de tipo hipoestomático, debido a que presentan estomas únicamente en la superficie abaxial, son de tipo anomocítico, dispuestos sin ningún orden, las células epidérmicas de la superficie adaxial son grandes isodiamétricas, sin espacios intercelulares, con la superficie libre ondulada que le da un brillo característico. La epidermis abaxial es un tanto irregular, presenta células de menor tamaño comparadas con los de la superficie adaxial, pudiendo ser algunas células semiglobosas, expandidas pudiendo ser del tipo glanduloso. El mesófilo presenta un parénquima de empalizada, conformada por células cilíndricas alargadas, conformada por una sola capa celular, que ocupan mas de la mitad de este mesófilo; el parénquima esponjoso está conformado por células cortas globosas o alargadas. El tejido vascular se dispone debajo de mesófilo esponjoso.

Fig.11: Corte transversal de hoja de *Tropaeolum tuberosum* Mashua.

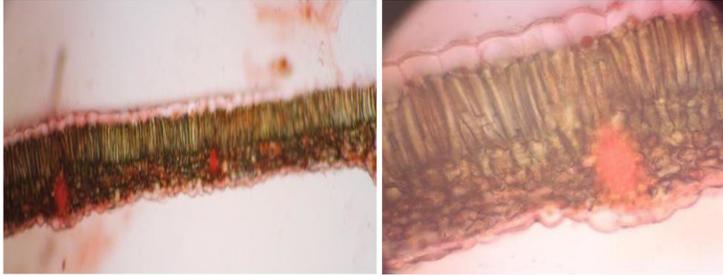
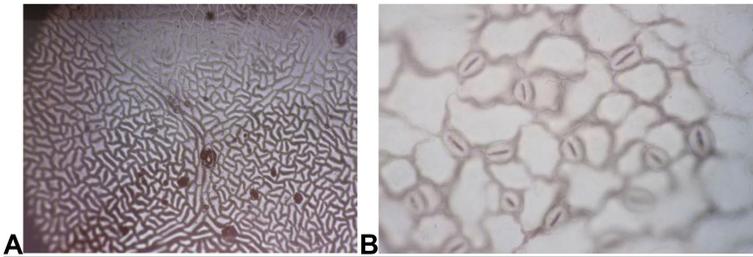
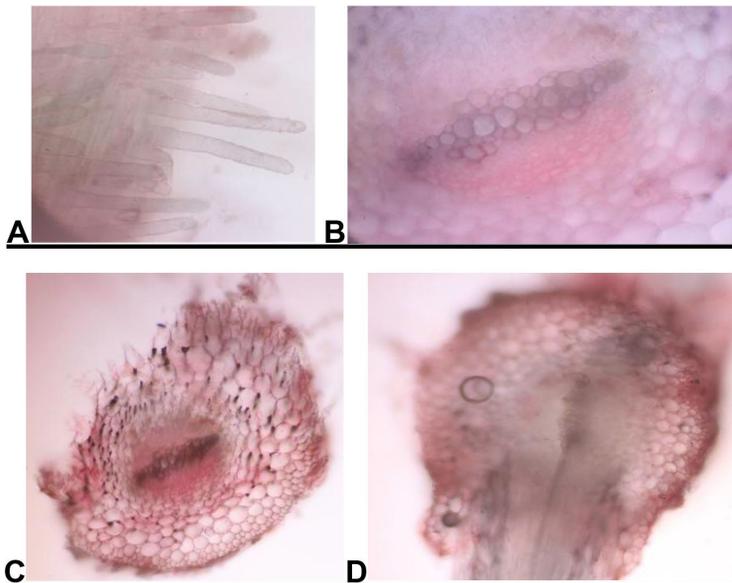


Fig.12: Epidermis foliar A superficie adaxial, B superficie abaxial de *Tropaeolum tuberosum*.



Anatomía radicular.- La estructura radicular presenta una epidermis densamente poblada por pequeños pelos absorbentes. La zona cortical es amplia en comparación al tallo, y presenta un cilindro vascular tipo diarca por que presenta dos polos protoxilemáticos, de cuyos extremos se ramifican.

Fig.13: *Tropaeolum tuberosum* – raíz A pelos absorbentes. B-C corte radial. D ramificación.



4.2 EVALUACIÓN ECOFISIOLÓGICA

Se evaluaron siete parámetros en cultivo de mashua por morfotipos y por estadio del cultivo -vegetativo y -floración, bajo condiciones de: presión atmosférica de 68.1 KPa, temperatura ambiental directa promedio de 32.64 °C, anhídrido carbónico atmosférico variante de 246.2 a 338.4 ppm, humedad atmosférica de 59.5 a 68.167%.

Tabla 1. Descripción de los parámetros evaluados.

Nº	Abreviatura	Descripción	Unidades
1	Int_CO2	Concentración interna de CO2	µmol/mol
2	H2O_dif	Diferencia de presión de vapor	kPa
3	Internal_T	Temperatura interna	°C
4	C	Conductividad estomática	mmol/m ² s
5	PAR	Radiación fotosintéticamente activa	µm/m ² s
6	Net_Photosint	Fotosíntesis neta	µm/m ² s
7	E	Transpiración	mmol/m ² s

4.2.1 Evaluación por morfotipo

Se obtuvieron promedios de los siete parámetros evaluados por morfotipo de mashua.

Tabla 2. Parámetros evaluados por morfotipos de mashua (parte 1).

Morfotipos	Int_CO2		H2O_dif		Internal_T		C	
	x	SE	x	SE	x	SE	x	SE
1A	121.40	10.52	0.77	0.02	31.70	0.45	229.80	8.94
2A	175.36	6.42	1.47	0.17	37.08	0.93	515.29	28.28
3A	159.75	8.08	0.93	0.13	36.11	0.29	366.25	61.08
4A	93.00	8.32	1.22	0.11	39.48	0.83	409.20	2.39
5A	182.00	5.57	1.23	0.14	34.75	0.40	595.07	50.17
6A	172.82	6.27	0.72	0.11	35.32	0.81	260.73	39.95
7A	191.80	8.03	0.85	0.20	36.12	0.28	357.00	23.10
8A	187.78	6.43	1.00	0.10	33.95	0.32	522.10	49.18
9A	178.69	16.76	0.59	0.09	28.16	0.35	411.75	32.19

Donde X: promedio, SE: error estándar.

Tabla 3. Parámetros evaluados en los morfotipos de mashua (parte 2).

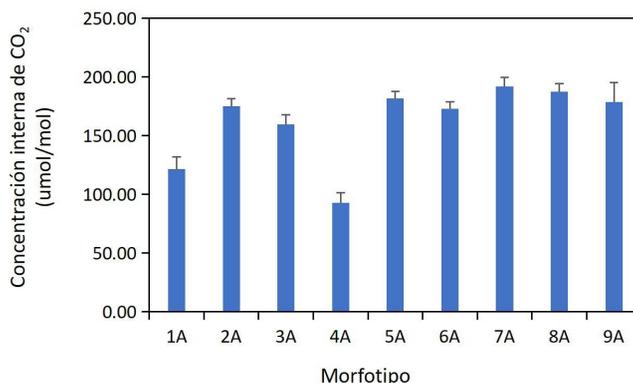
Morfotipos	PAR		Net_Photosint		E	
	x	SE	x	SE	x	SE
1A	606.79	100.13	23.23	2.17	5.58	0.19
2A	1229.68	155.75	27.64	1.74	9.47	0.93
3A	777.43	100.84	27.96	2.20	7.43	0.62
4A	1150.29	200.36	23.71	2.69	8.50	0.74
5A	1217.36	136.68	24.00	1.95	8.25	0.83
6A	701.80	127.41	19.59	2.55	6.31	0.63
7A	494.29	74.34	31.93	2.23	11.48	1.04
8A	721.12	75.69	19.09	2.47	11.39	0.45
9A	468.82	17.48	18.00	1.14	5.51	0.47

Donde X: promedio, SE: error estándar.

4.2.1.1 Concentración interna de CO₂

La concentración interna de CO₂ promedio en los cultivos de mashua fue de 162.51 μmol/mol, siendo el morfotipo 4A el que presentó el menor valor con 93.00 μmol/mol y el morfotipo 7A el que presentó el mayor promedio con 191.80 μmol/mol.

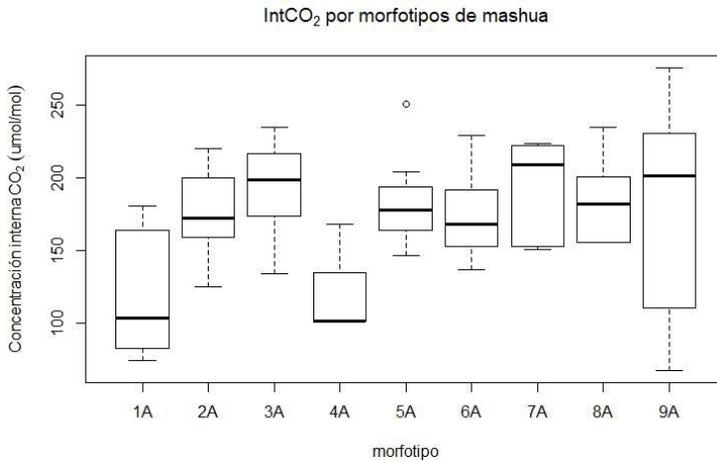
Fig. 14. Diagrama de barras de la concentración interna de CO₂ por morfotipos de mashua.



- Comparación entre morfotipos de mashua

El morfotipo 9A presentó valores más dispersos, mientras que el morfotipo 5A fue el que presentó valores más concentrados, aunque con un dato atípico.

Fig. 15. Diagrama de cajas de la concentración interna de CO² por morfotipos.



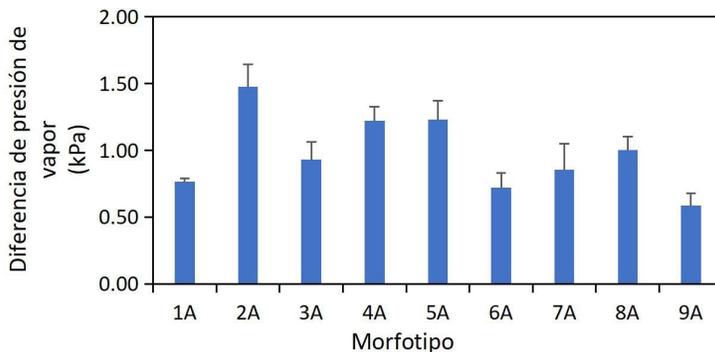
Debido a que los datos resultaron normales, se realizó un análisis de ANOVA para la comparación, encontrando que sí existe una diferencia significativa entre los morfotipos de mashua estudiados o al menos dos morfotipos son estadísticamente diferentes.

Se realizó una prueba de Tukey para realizar la comparación entre pares de morfotipos, encontrando que sólo los promedios de los morfotipos 1A y 3A son estadísticamente diferentes.

4.2.1.2 Diferencia de presión de vapor

La diferencia de presión de vapor promedio en los cultivos de mashua fue de 0.98 kPa, siendo el morfotipo 9A el que presentó el menor valor con 0.59 kPa y el morfotipo 2A el que presentó el mayor promedio con 1.47 kPa.

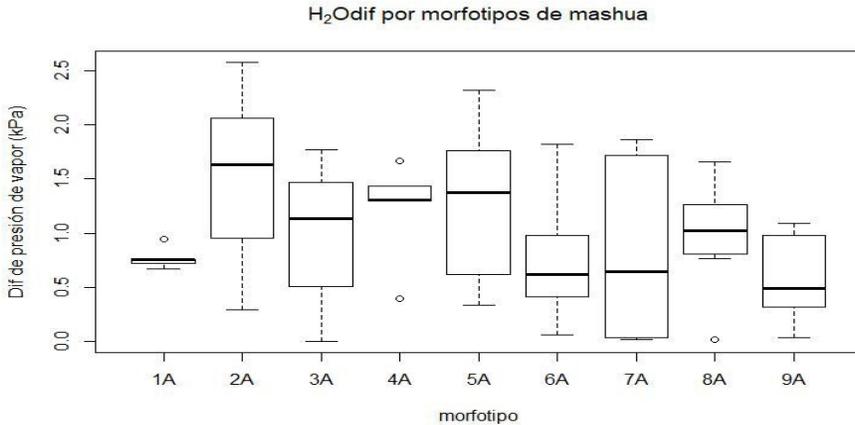
Fig. 16. Diagrama de barras de la diferencia de presión de vapor por morfotipos de mashua.



- Comparación entre morfotipos de mashua

Los morfotipos 2A, 5A y 7A presentaron valores más dispersos, mientras que el morfotipo 1A fue el que presentó valores más concentrados, aunque con un dato atípico.

Figura 17. Diagrama de cajas de la diferencia de presión de vapor por morfotipos.



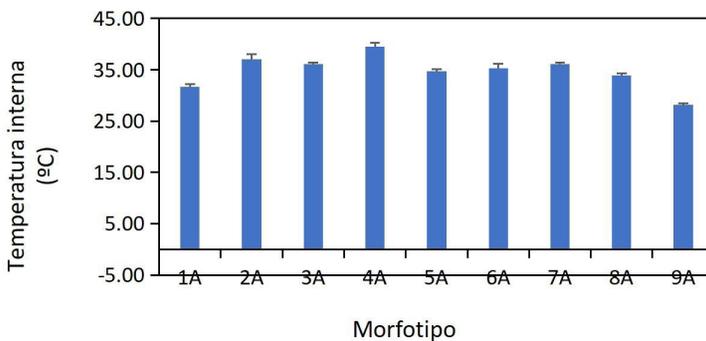
Debido a que los datos resultaron normales, se realizó un análisis de ANOVA para la comparación, encontrando que sí existe una diferencia significativa entre los morfotipos de mashua estudiados o al menos dos morfotipos son estadísticamente diferentes.

Se realizó una prueba de Tukey para realizar la comparación entre pares de morfotipos, encontrando que sólo los promedios de los morfotipos 2A y 9A son estadísticamente diferentes.

4.2.1.3 Temperatura interna

La temperatura interna promedio en los cultivos de mashua fue de 34.74 °C, siendo el morfotipo 9A el que presentó el menor valor con 28.16 °C y el morfotipo 4A el que presentó el mayor promedio con 39.48 °C.

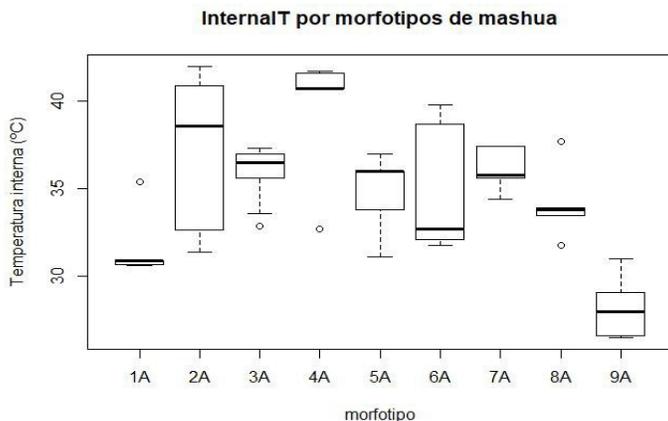
Fig. 18. Diagrama de barras de la temperatura interna por morfotipos de mashua.



- Comparación entre morfotipos de mashua

Los morfotipos 2A y 6A presentaron valores más dispersos, mientras que los morfotipos 1A y 8A presentaron valores más concentrados con uno o dos valores atípicos.

Fig. 19. Diagrama de cajas de la temperatura interna por morfotipos.



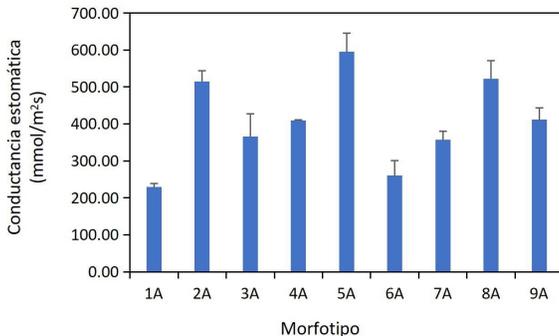
Debido a que los datos resultaron normales, se realizó un análisis de ANOVA para la comparación, encontrando que sí existe una diferencia significativa entre los morfotipos de mashua estudiados o al menos dos morfotipos son estadísticamente diferentes.

Se realizó una prueba de Tukey para realizar la comparación entre pares de morfotipos, encontrando que existe diferencia significativa entre los morfotipos 1A y 2A; 1A y 4A; 2A y 9A; 3A y 9A; 4A y 5A; 4A y 8A; 4A y 9A; 5A y 9A; 6A y 9A; 7A y 9A; y finalmente entre 8A y 9A.

4.2.1.4 Conductancia estomática

La conductancia estomática promedio en los cultivos de mashua fue de 407.46 mmol/m²s, siendo el morfotipo 1A el que presentó el menor valor con 229.80 mmol/m²s y el morfotipo 5A el que presentó el mayor promedio con 595.07 mmol/m²s.

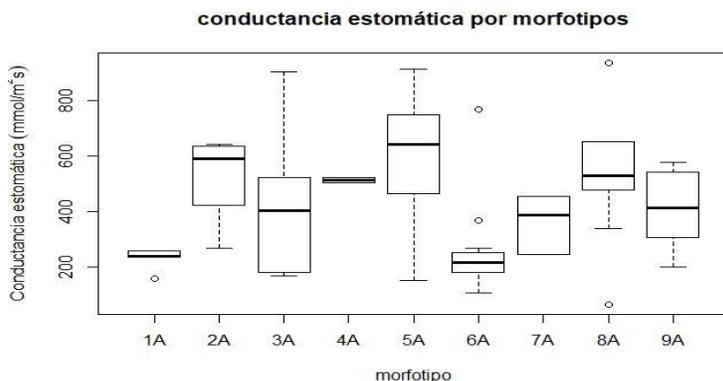
Figura 20. Diagrama de barras de la conductancia estomática por morfotipos de mashua.



- Comparación entre morfotipos de mashua

Los morfotipos 3A y 5A presentaron valores más dispersos, mientras que los morfotipos 1A y 4A presentaron valores más concentrados.

Fig. 21. Diagrama de cajas de la conductancia estomática por morfotipos.

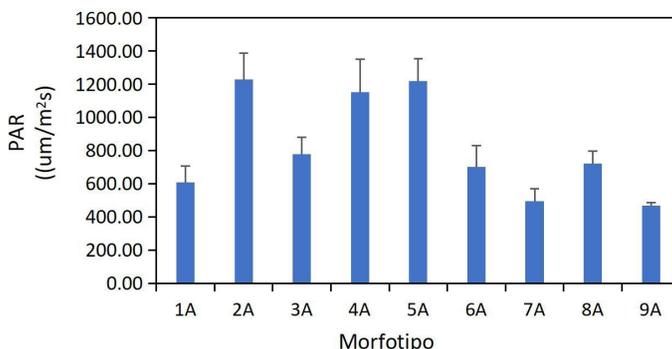


Con la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney encontrando que existe diferencia significativa entre el morfotipo 1A con 2A, 4A, 5A y 8A; el morfotipo 2A con 6A y 9A; el morfotipo 4A con 6A y 7A; el morfotipo 5A con 6A, 7A y 9A; el morfotipo 6A con 8A; y finalmente el morfotipo 7A con 8A

4.2.1.5 Radiación fotosintéticamente activa

La radiación fotosintéticamente activa promedio en los cultivos de mashua fue de $818.62 \mu\text{m}/\text{m}^2\text{s}$, siendo el morfotipo 9A el que presentó el menor valor con $468.82 \mu\text{m}/\text{m}^2\text{s}$ y el morfotipo 2A el que presentó el mayor promedio con $1229.68 \mu\text{m}/\text{m}^2\text{s}$.

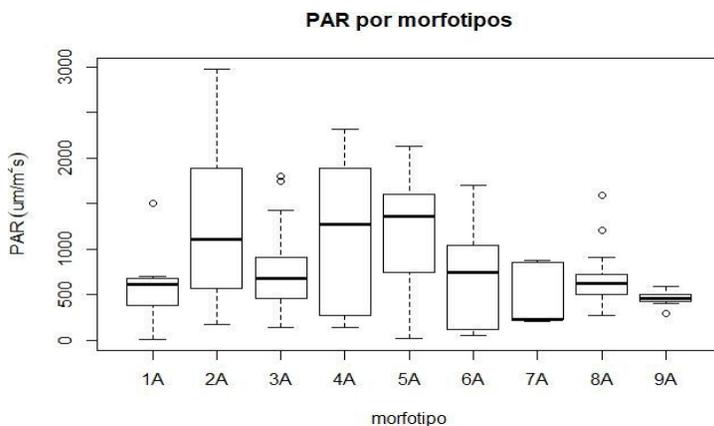
Fig. 22. Diagrama de barras de la radiación fotosintéticamente activa por morfotipos de mashua.



- Comparación entre morfotipos de mashua

Los morfotipos 2A y 4A presentaron valores más dispersos, mientras que el morfotipo 9A presentó valores más concentrados.

Fig. 23. Diagrama de cajas de la radiación fotosintéticamente activa por morfotipos.



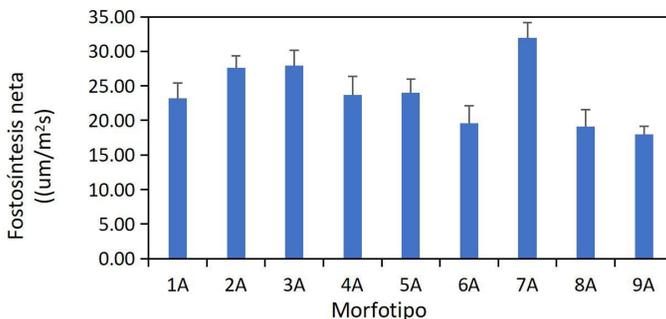
Debido a que los datos no presentan una distribución normal, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para la comparación, encontrando que sí existe diferencia entre los morfotipos de mashua estudiados o al menos dos pertenecen a diferentes poblaciones.

Se realizó la comparación entre pares de morfotipos, utilizando la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney encontrando que existe diferencia significativa entre el morfotipo 1A con 5A; el morfotipo 2A con 6A, 7A, 8A y 9A; el morfotipo 3A con 5A y 9A; el morfotipo 5A con 6A, 7A, 8A y 9A; y finalmente el morfotipo 8A con 9A.

4.2.1.6 Fotosíntesis neta

La fotosíntesis neta promedio en los cultivos de mashua fue de $23.91 \mu\text{m}^2/\text{s}$, siendo el morfotipo 9A el que presentó el menor valor con $18.00 \mu\text{m}^2/\text{s}$ y el morfotipo 7A el que presentó el mayor promedio con $31.93 \mu\text{m}^2/\text{s}$.

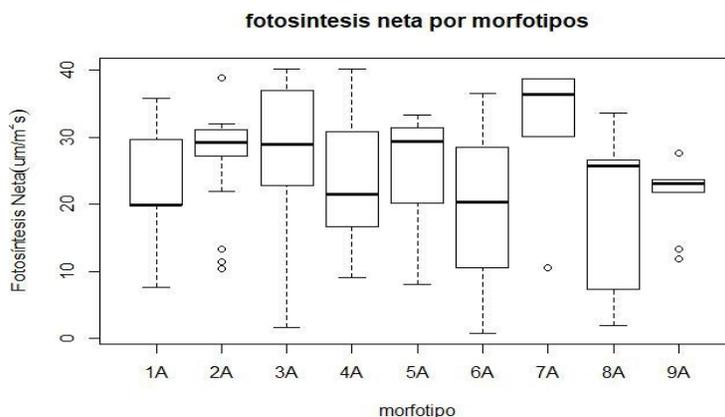
Fig. 24. Diagrama de barras de la fotosíntesis neta por morfotipos de mashua.



- Comparación entre morfotipos de mashua

Los morfotipos 3A y 6A presentaron valores más dispersos, mientras que el morfotipo 9A presentó valores más concentrados con tres datos atípicos.

Fig. 25. Diagrama de cajas de la fotosíntesis neta por morfotipos.



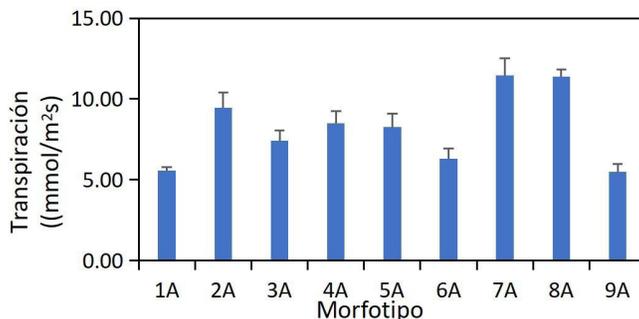
Debido a que los datos no presentan una distribución normal, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para la comparación, encontrando que sí existe diferencia entre los morfotipos de mashua estudiados o al menos dos pertenecen a diferentes poblaciones.

Se realizó la comparación entre pares de morfotipos, utilizando la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney encontrando que existe diferencia significativa entre el morfotipo 2A con 6A, 8A y 9A; el morfotipo 3A con 6A y 9A; el morfotipo 5A con 7A y 9A; el morfotipo 6A con 7A; y finalmente el morfotipo 7A con 8A y 9A.

4.2.1.7 Transpiración

La transpiración promedio en los cultivos de mashua fue de $23.91 \mu\text{m}/\text{m}^2\text{s}$, siendo el morfotipo 9A el que presentó el menor valor con $18.00 \mu\text{m}/\text{m}^2\text{s}$ y el morfotipo 7A el que presentó el mayor promedio con $31.93 \mu\text{m}/\text{m}^2\text{s}$.

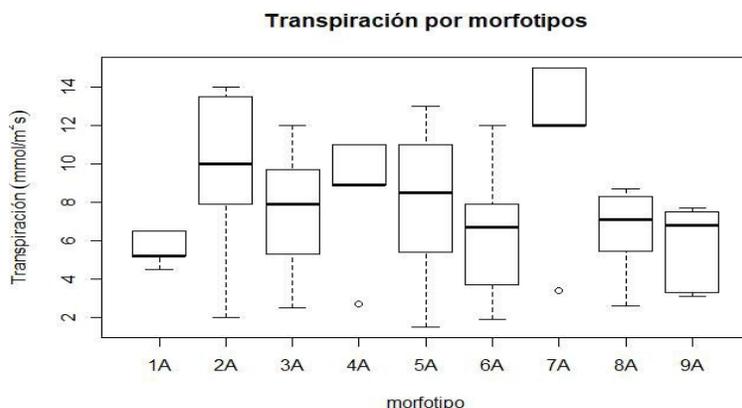
Fig. 26. Diagrama de barras de la transpiración por morfotipos de mashua.



- Comparación entre morfotipos de mashua

Los morfotipos 2A y 5A presentaron valores más dispersos, mientras que los morfotipos 1A y 4A presentaron valores más concentrados con un dato atípico.

Fig. 27. Diagrama de cajas de la transpiración por morfotipos.



Debido a que los datos no presentan una distribución normal, se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para la comparación, encontrando que sí existe diferencia entre los morfotipos de mashua estudiados o al menos dos pertenecen a diferentes poblaciones.

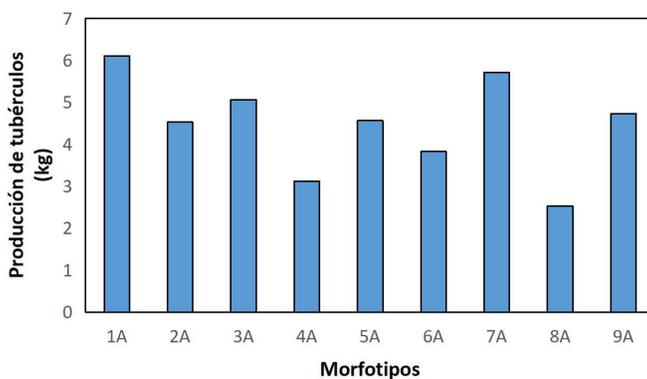
Se realizó la comparación entre pares de morfotipos, utilizando la prueba de Wilcoxon-Mann Whitney encontrando que existe diferencia significativa entre el morfotipo 2A con 6A y 9A; el morfotipo 3A con 7A; el morfotipo 5A con 9A; y finalmente el morfotipo 7A con 9A.

4.3 PRODUCCIÓN DE TUBÉRCULOS POR MORFOTIPOS

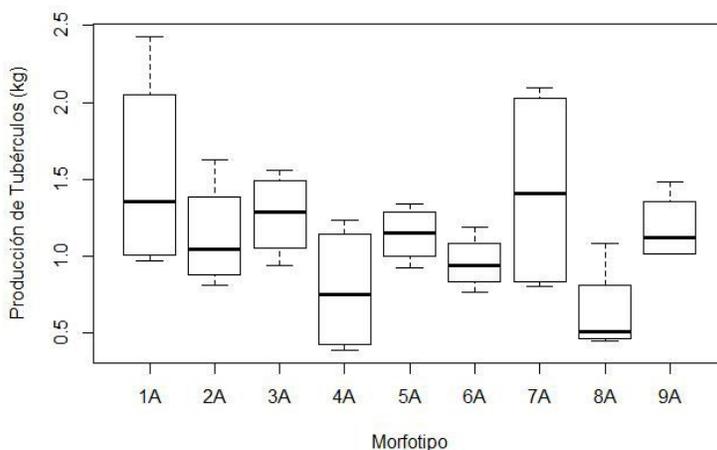
La producción promedio de tubérculos es 4.47 kg, siendo el morfotipo 8A el que tuvo menor producción y el morfotipo 1A el que tuvo mayor producción.

Tabla 31. Mediciones de la producción de tubérculos por morfotipos.

Morfotipo	SUMATORIA	PROMEDIO
ACC1	6.11	1.53
ACC2	4.53	1.13
ACC3	5.07	1.27
ACC4	3.12	0.78
ACC5	4.56	1.14
ACC6	3.83	0.96
ACC7	5.72	1.43
ACC8	2.53	0.63
ACC9	4.73	1.18



Se encontraron valores más dispersos de producción de tubérculos en el morfotipo 1A y 7A, mientras que los datos menos dispersos fueron encontrados en los morfotipos 5A y 6A.



No se encontró diferencia significativa entre la producción de tubérculos por morfotipos.

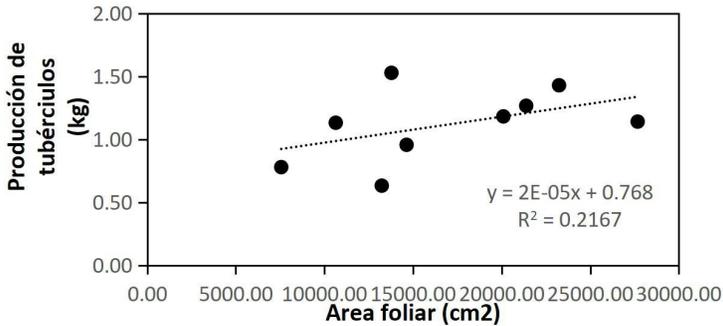
Tabla 32. Resultados de la prueba de ANOVA.

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de cuadrados	Valor F	Valor P
Morfotipo	8	2.671	0.3338	1.971	0.09
residuos	27	4.574	0.1694		

4.4 INTERRELACIONES

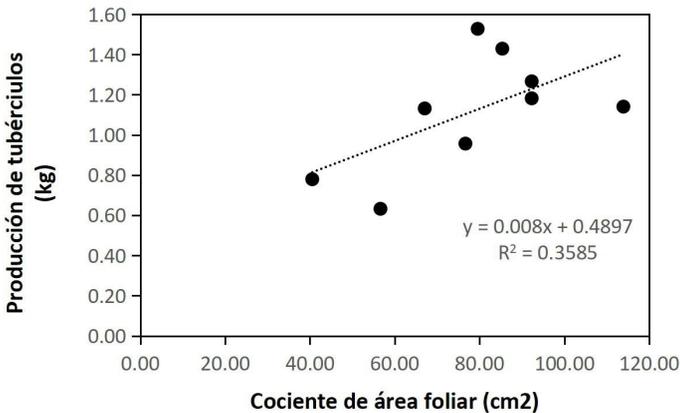
4.4.1 Relación entre el área foliar y la producción de tubérculos

La correlación encontrada entre el área foliar y la producción de tubérculos de mashua ($r=0.47$), fue sólo de 21.67 % de los datos se ajustaron a la recta.



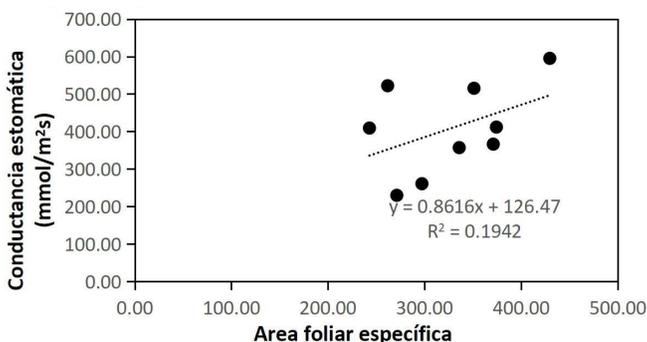
4.4.2 Relación entre el área foliar específica y la producción de tubérculos

Existe una correlación de 35.85% de los datos que se ajustaron a la recta, entre el área foliar específica y la producción de tubérculos de mashua ($r=0.60$).



4.4.3 Relación entre el área foliar específica y la conductancia estomática

La correlación encontrada entre el área foliar específica y la producción de tubérculos de mashua ($r=0.44$), sólo alcanzó el 19.42 % de los datos se ajustaron a la recta.



5 DISCUSIONES

- En la estructura anatómica de *Tropaeolum tuberosum* R&P- mashua, se coincide con el análisis y descripción que realizan Bulacio & Ponessa de presentar estomas hipoestomáticos, de estomas anomocíticos, tallo de eustela ectoflemática y raíces diarcas.
- La radiación fotosintéticamente activa, comparada con el cultivo de papa, obtenida por Wheeler y Tibbitts (1986); Vreugdenhil (2007) afirman que en las plantas de papa, la Radiación Fotosintéticamente Activa (PAR) la longitud de onda esta entre 400 y 700nm, es interceptada por el follaje que a su vez depende de las variedades. El desarrollo y acumulación de materia seca en los tubérculos es mayor a radiaciones continuas de 400 $\mu\text{moles}/\text{m}^2/\text{s}$ por periodos de 12 h de irradianza; en el tercio superior del follaje en el cultivo de papa, las hojas pueden absorber hasta 1200 $\mu\text{moles}/\text{m}^2/\text{s}$ y dejar pasar la Radiación Fotosintéticamente Activa restante a los tercios medio e inferior del follaje para ser aprovechada en estos niveles de radiación inferiores a 250 $\mu\text{moles}/\text{m}^2/\text{s}$, fotones generan efectos negativos en cuanto a la distribución de biomasa, lo cual coincide con los valores obtenidos para el cultivo de mashua cuyos valores varían entre 468.82 $\mu\text{moles}/\text{m}^2/\text{s}$ y 1229.68 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$.
- El valor de la temperatura según Sarquis (1996), Haverkort (1990), Yuan y Bland, (2004), Vreugdenhil (2007) indican que el cultivo de papa se adapta a climas fríos tropicales con temperaturas medias entre 15 y 18°C en el suelo y en el aire, a temperaturas más altas favorecen el desarrollo de follaje y retardan la tuberización, en este caso se acercó a estos valores encontrándose fluctuación entre 12°C a 20°C en tanto a la temperatura interna foliar hasta de 32 °C.

- Según Medina, E. (2005) indica que la concentración natural del CO₂ en el aire esta entre 300 a 350 ppm, es un factor limitante de la fotosíntesis, el valor de CO₂ atmosférico medido en el campo experimental varía entre 246.2 a 338.4 ppm y con una captación por el mesófilo foliar de entre 93 y 191.80 ppm. entre estos valores considerados, la retención de CO₂ por el cultivo de mashua se comporta de manera normal dentro de estos parámetros.
- Loyla R. (2015) en su trabajo sobre cultivo de papa mostro variaciones de fotosíntesis neta de 6.79 $\mu\text{mol /CO}_2 \text{/m}^2 \text{/ s}$; 16.27 $\mu\text{mol /CO}_2 \text{/m}^2 \text{/ s}$ y 23.50 $\mu\text{mol /CO}_2 \text{/m}^2 \text{/ s}$. Los valores obtenidos en el presente trabajo fue de 18.0 $\mu\text{mol /CO}_2 \text{/m}^2 \text{/ s}$ y 31.93 $\mu\text{mol /CO}_2 \text{/m}^2 \text{/ s}$, siendo mayor comparado con el cultivo de papa.
- El índice de área foliar según Gómez (1999) el máximo valor se da en las etapas de floración e inicio de tuberización en cambio en el cultivo de mashua el máximo valor de índice de área foliar se alcanza en el estadio de prefloración.
- TAN.- La tasa de asimilación neta como indicador de la eficiencia fotosintética promedio presentó los mayores valores en la etapa de crecimiento vegetativo y se coincide con Segura (2006), debido a que las plantas se encontraban al inicio de desarrollo de hojas, en el trabajo realizado por Gaitán y González (1999) hallaron valores entre 12,4 y 18,4 mg/cm²/semana y los valores hallados en el trabajo fue de 17.15 y 22.15 mg/cm²/semana.

6 CONCLUSIONES

- De acuerdo a la estructura anatómica foliar de *Tropaeolum tuberosum* R&P – mashua, presenta un mesófilo con parénquima de empalizada y parénquima esponjoso el que corresponde a una plantas tipo C3, por el tipo de metabolismo de anhídrido carbónico.
- Los factores como concentración de anhídrido carbónico, agua, temperatura y humedad intervienen de manera conjunta en la fotosíntesis, tasa de asimilación neta y productividad del cultivo.
- Existe diferencia significativa por lo menos para más de dos morfotipos para radiación fotosintéticamente activa, fotosíntesis neta, y transpiración.
- La correlación entre área foliar, área foliar específica con la producción de tubérculos por morfotipos; así como área foliar específica y conductancia estomática fue poco significativa.

BIBLIOGRAFÍA

Acuña, E. (2010). *Estadística no Paramétrica*. UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGUEZ.

Alisdair, R.F. y L. Willmitzer. (2001). Molecular and biochemical triggers of potato tuber development. *Plant. Physiol.* 127, 1459-1465.

Allen, E. (1978). *The potato crop. The scientific basis for improvement. Second edition.* Harris and Hall, London. Azcón-Bieto, J. y M.

Arbizu, C y Tapia, M, 1992, "Tubérculos Andinos". Colección FAO: Producción y Protección vegetal Nº 26, FAO, Roma, Italia.

Arsenault, W. J.; Cristie, B. R. (2004). Effect of wholese edtubersize and pre-plants toragecondition sonyield and tubersize distribution of RussetBurbank. *American Journal of Potato Research* (81), 371-376.

Bateman, J., 1961, Una Prueba Exploratoria de la alimentación usando *Tropaeolum tuberosum*. Turrialba.

Beukema, H.P. & D.E. Van der Zaag. (1990). *Introduction to Potato Production.* Pudoc, Wageningen, 208 pp.

Bulacio, Eva; Graciela Ponessa. 2012. "Morfología y anatomía de órganos vegetativos de *Tropaeolum tuberosum ssp. silvestre* (Tropealaceae)". *Lilloa* 49 (1). San Miguel de Tucumán, Argentina.

Brown, C.R. (1993). Origin and history of the potato. *Amer. Pot. J.* 70, 63-373.

Burton, W.G. (1966). *The Potato. A survey of it shistory and factors influencing gitsyield, nutritivevalue, quality and storage.* H. Vennman and Zonen N.V.Wageningen, 382 pp.

Chacón, Máximo; Quispe, Cinthia; Baudoin, J.Pierre; Moscoso, Edwin 2014. *Catálogo de Tropaeolum tuberosum R. & P. AÑU.* CIUF-Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

Chacón, O, 1960, "Estructura y Variabilidad de Mashua". Instituto de Interamericano de Ciencias Agrarias, Turrialba, Costa Rica.

Clavijo, J. (1989). Análisis de crecimiento en malezas. *Revista Comalfi*, (15), 1 2-16 pp.

Conn, J. y V. Cochran. (2006). Response of potato (*S.tuberosum* L.) to elevated atmospheric CO₂ in the North American Subarctic. *Agr. Ecosyst. Environ.* 112, 49-57.

Collasos, C. 1996, " Tablas Peruanas de Composición de Alimentos". Ministerio de Salud, 7º edición Instituto Nacional de Salud, Lima, Perú.

Cortes, H. 1981, "Avances de la Investigación en tres Tubérculos Andinos", Huaraz. Serie Ponencias, Resultados, Recomendaciones de eventos técnicos. Nº235. Bogota, Colombia.

Dwelle, R. B. (2003). *Potato Growth and Development,* in: *Potato Production Systems.* STARK, J. C.; LOVE, S. L. (Eds.). Idaho Center of Potato Research and Education, 9-19 pp.

Eckardt, F. E. (1965). "Rem.arques prélim.inaires concernant la Méthodologie de Éco-physiologie végétale et Organisation du Colloque de Montpellier.En: *Methodology of Plant Ecophysiology.* Proc. Montpellier SYITlp. Unesco, Paris.

- Espejo-Ruiz, M.** (2017). Estimación de la desviación estándar. *Estadística Española*, 59(192), 37–44.
- Ewing, E. y P. Wareing.** (1978). Shoot, stolon and tuber formation on potato (*S. tuberosum* L.) cuttings in response to photoperiod. *Plant Physiol.* 61, 348-353.
- FAO statistics.** En: <http://www.fao.org>, 4p.; consulta: septiembre de 2010.
- FAO (2006).** Estado de la inseguridad alimentaria en el mundo, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Farrar, J.F. y M.L. Williams.** (1991). The effects of increased atmospheric carbon dioxide and temperatura on carbon partitioning, source sink relations and respiration. *Plant Cell Environ.* 14, 819- 830.
- Finnan, J.; A. Donnelly; J. Burke y M. Jones.** (2002). The effects of elevated concentrations of carbón dioxide and ozone on potato (*S. tuberosum* L.) yield. *Agr. Ecosyst. Environ.* 88, 11-22.
- Foyer, C. and M. Paul.** (2001). Source-Sink Relationships. pp.11. In: *Encyclopedia of Life Sciences.* Nature Publishing Group, United Kingdom.
- Gawronska, H.; R.B. Dwelle; J.J. Pavék y P. Rowe.** (1984). Partitioning of photoassimilates by for potato clones. *Crop Sci.* 24, 1031-1036.
- Girardin, C. A. J., Silva Espejob, J. E., Doughty, C. E., Huaraca Huasco, W., Metcalfe, D. B., Durand-Baca, L., Malhi, Y.** (2013). Productivity and carbon allocation in a tropical montane cloud forest in the Peruvian Andes. *Plant Ecology & Diversity.*
- Gómez, C; Buitrago, C; Cante, M; Huertas, B.** 1999. Ecofisiología de papa (*Solanum tuberosum*) utilizada para cultivo fresco y para la industria. En: *Revista Comalfi.* Vol. XXVI. No. 1 – 3. Bogotá, D.C., pp. 42 – 55.
- Hay, R. y A. Walker.** (1989). Anintroduction to the physiology of cropyield. Second edition. Chapingo, México.
- Haverkort, A.J.** (1990). Ecology of potatocropping systems in relation to latitude and altitude. *Agric. Syst.* (32), 251-272 pp.
- Hawkes, J.G.** (1990). *The Potato. Evolution, Biodiversity and Genetic Resources,* Smithsonian Institute Press. Washington D.C. 250 pp.
- Hay, R. y A. Walker.**(1989). An introduction to the physiology of cropyield. Second edition. Chapingo, México.
- Herrera, F. 1921.** Contribución a la flora del departamento del Cuzco. Primera parte. Universidad del Cuzco, Peru.
- Hijmans, R.** (2001). Global distribution of the potato crop. *Amer. J. Pot. Res.* 78(6), 403-412.
- Högy, P. y A. Fangmeier.** (2009). Atmospheric CO₂ enrichment affects potatoes: 1. Aboveground biomass production and tuber yield. *Eur. J.Agron.* 30, 78-84.
- Hunt, R.** (1978). *Plant growthanalysis.* Edward Arnold Publishers, London. 67 p.
- Huynh, K.L.** 1967. Caryosystème dans le genre *Tropaeolum* L.1: *T. cochabambae* Buch., *T. pubescens* H.B.K., et *T. tricolor* Sweet. *Bulletin de la Société Botanique de Suisse* 77:309–313. Johns & Torres (1981).

- Hodge, W.H.** 1951. Three native tuber foods of the high Andes. *Economic Botany* 5(2):185–201.
- KJAER, A.** 1978, “Seed Volatiles Within the Family Tropaeolaceae”. *Phytochemistry*.
- Körner, CH. & Diemer, M.** (1987). In situ Photosynthetic Responses to Light, Temperature and Carbon Dioxide in Herbaceous Plants from Low and High Altitude. *Functional Ecology* 1(3), 179-194 pp.
- Kooman, P. L.; M. Fahem; P. Tegera y A. Haverkort.** (1996). Effects of climate on different potato genotypes 2. Dry matter allocation and duration of the growth cycle. *Eur. J. Agron.* 5, 207-217.
- Ku, S.B.; G. Edwards y C. Tanner.** (1977). Effects of light, carbon dioxide, and temperature on photosynthesis, oxygen inhibition of photosynthesis, and transpiration in *S. tuberosum*. *Plant Physiol.* 59, 868-872.
- Krug, H.** (1997). Environmental influences on development growth and yield. En: H.C. Wien (ed.) *The physiology of vegetable crops*. CABI Publishing. London, pp. 101 - 180.
- Larcher, W.** (2003). *Physiological Plant Ecology: Ecophysiology and stress Physiology of Functional Groups*. Alemania: Springer. 513 p.
- Lorenzen, J. y E. Ewing.** (1992). Starch accumulation in leaves of potato (*S. tuberosum* L.) during the first 18 days of photoperiod treatment. *Ann. Bot.* 69, 481–485.
- Mackerron, D. K y P. D. Waister.** (1983). Light interception and drymatter accumulation in potato cultivars of contrasting habit. *Potatoes*, (26), 88- 89 pp.
- Medina Ernesto.** (2014). *Introducción a la ecofisiología vegetal*. Caracas. Venezuela: The General Secretariat of the Organization of American States Washington, D.C.
- Menzel, C.M.** (1985). The control of storage organ formation in potato and other species. *Field Crops* 38, 527-537.
- Morales, D. and J. Rea.** 1982. Evaluación de germoplasma de tubérculos Andinos. Pp. 317– 320 in *Tercer congreso internacional de cultivos andinos*, La Paz, Bolivia Delhey y Monasterios 1977).
- Nelson, D.C. & M.C. Thoreson.** (1981). Competition between potatoes (*Solarium tuberosum* L.) and weeds. *Weed Science*,(29), 672-677pp.
- Nosberger, J. y E. Humpries.** (1965). The influence of removing tuber on dry matter production and net assimilation rate of potato plants. *Ann. Bot.* 29, 579-588.
- Patrick, J.W. and C.E. Offler.** (1996). Post-sieve element transport of photo assimilates in sink regions. *Journal of Experimental Botany* 47 (Special Issue): 1165-1177.
- Piikki, K.; V.Vorne; K.Ojanpera y H. Pleijel.** (2006). Impact of elevated O₃ and CO₂ exposure on potato (*S.tuberosum* L. cv. Bintje) tuber.
- Pocco, P.** 1976, “Biología Floral del Isaño (*Tropaeolum tuberosum* R et P)” Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional Técnica del Altiplano. Puno, Perú.
- Reigosa M, Nuria P, Sánchez A.** (2003) *Ecofisiología vegetal: Una Ciencia de síntesis*. Thompson. Australia. 1993 p.
- Roitsch, T.** 1999. Source-sink regulation by sugar and stress. *Current Opinion in Plant Biology* 2(3): 198-206.

Schapendonk, A.; V. Oijen; P. Dijkstra; C. Pot; W. Jordi y G.M. Stoop. (2000). Effects of elevated CO₂ concentration on photosynthetic acclimation and productivity of two potato cultivars grown in open-top chambers. *Aust. J. Plant Physiol.* 27, 1119-1130.

Shalom, Diego. (2016). *Introducción a estadística.*

Sonnewald, W. (2001). Control of potato tuber sprouting. *Trends Plant Sci.* 6(8), 333-335.

Soria, S.L., R. Vega, V.D. Damsteegt, L.L. McDaniel, S.L. Kitto and T.A. Evans. 1998. Occurrence and partial characterization of a new mechanically transmissible virus in mashua from the Ecuadorian highlands. *Plant Disease* 82(1):69-73.

Sukumaran, N.P. y C.D. Weiser. (1972). Freezing injury in potato leaves. *Plant Physiol.* 50, 564-567.

Talón. (2008). *Fundamentos de fisiología vegetal.* Second edition. Interamericana McGraw-Hill, Madrid.

Taiz, L. y E. Zeiger. (2006). *Plant physiology.* Forth edition. Sinauer Associates Inc. Publ., Massachusetts, MA.

Tekalign, T. y P.S. Hammes. (2005). Growth and productivity of potato as influenced by cultivar and reproductive growth II. Growth analysis, tuberyield and quality. *Scientia Hort.* (105), 29- 44 pp.

Terrazas, F. and F. Valdivia. 1998. Spatial dynamics of *in situ* conservation: handling the genetic diversity of Andean tubers in mosaic systems. *Plant Genetic Resources Newsletter* 114:9-15.

Turgeon, R. and R. Medville. (2004). Phloem loading. A reevaluation of the relationship between plasmodesmatal frequencies and loading strategies. *Plant Physiology*:136: 3795-3803.

Vallenas, M. 1977, "Biología Floral en Isaño (*Tropaeolum tuberosum R et P*)". I Congreso Internacional de Cultivos Andinos. Ayacucho, Perú.

Van-Delden, A.; A. Pecio y A. Haverkort (2000). Temperature Response of Early Foliar Expansion of Potato and Wheat. *Ann. Bot.* 86, 355-369.

Wardlaw, I.F. (1990). Tansley Review No. 27 The control of carbon partitioning in plants. *New Phytologist* 116(3): 341-381.

Wheeler, R.M. y T.W. Tibbits. (1986). Growth and tuberization of potato (*Solanum tuberosum L.*) under continuous light. *Plant Phys.* 80, 801-804.

Wilson, J.W. (1981). Analysis of growth, photosynthesis and light interception for single plants and stands. *Annals of Botany* 48: 507-512.

CAPÍTULO 3

LOCALIZACIÓN DE ANTOCIANINAS Y DUREZA DEL ENDOSPERMO EN GERMOPLASMA DE MAÍZ AZUL

Data de submissão: 05/11/2023

Data de aceite: 20/11/2023

Estela Flores-Gómez

Instituto Politécnico Nacional
Unidad Profesional
Interdisciplinaria de Biotecnología
Av. Acueducto s/n. La Laguna Ticomán
C. P. 07340
Ciudad de México, México
ORCID: 0000-0002-4634-455X

Germán Fernando Gutiérrez-Hernández

Instituto Politécnico Nacional
Unidad Profesional
Interdisciplinaria de Biotecnología
Av. Acueducto s/n. La Laguna Ticomán
C. P. 07340
Ciudad de México, México
ORCID: 0000-0003-3312-3747

Patricia Vázquez-Lozano

Instituto Politécnico Nacional
Unidad Profesional
Interdisciplinaria de Biotecnología
Av. Acueducto s/n. La Laguna Ticomán
C. P. 07340
Ciudad de México, México
ORCID: 0000-0002-5945-6307

José Luis Arellano-Vázquez

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Valle de México
C. P. 56250
Coatlinchán, Estado de México, México
ORCID: 0000-0002-2231-2940

Luis Fernando Ceja-Torres

Instituto Politécnico Nacional
Centro Interdisciplinario de
Investigación para el
Desarrollo Integral Regional
Unidad Michoacán Justo Sierra 28
C. P. 59510
Jiquilpan, Michoacán, México
ORCID: 0000-0002-8397-0701

RESUMEN: Junto con el trigo y el arroz, el maíz es de los cereales más importantes del mundo, es componente esencial de la dieta humana, materia prima básica de la industria en la que se producen almidón, aceite, proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios y combustibles. Los colores negros, morados y rojos que se observan en el endospermo del maíz son causados por pigmentos vegetales, entre los que sobresalen las antocianinas que le dan el color azul al grano de maíz. Las antocianinas están presentes en las vacuolas de las células de la capa de aleurona, endospermo o pericarpio del grano. Es importante conocer la ubicación específica del pigmento en el

grano porque de esto depende que se mantenga en el alimento que llega al consumidor después del proceso de nixtamalización. En el procesamiento alcalino-térmico del grano se desprende el pericarpio de los granos, por lo que, si las antocianinas se localizan únicamente en esa estructura, se perderán. Otro factor por considerar en el maíz azul es la dureza del endospermo debido a que se relaciona directamente con la susceptibilidad a plagas de almacén y con la longevidad de las semillas. Por tanto, el objetivo del presente estudio fue ubicar las antocianinas en los componentes morfológicos de la semilla y establecer el grado de dureza del endospermo de semillas de 14 genotipos de maíz azul. Las semillas se disecaron en sus estructuras morfológicas principales y se determinó la ubicación del pigmento y el grado de dureza del endospermo. Se obtuvo que los materiales genéticos acumularon las antocianinas en la capa de aleurona del grano, aspecto muy favorable para su valor alimenticio. Además, los genotipos mostraron heterogeneidad genética en el grado de dureza del grano. Por tanto, los genotipos analizados fueron útiles para formar híbridos y variedades mejoradas de maíz azul.

PALABRAS CLAVE: *Zea mays*. Aleurona. Endospermo. Pericarpio.

LOCATION OF ANTHOCYANINS AND ENDOSPERM HARDNESS IN BLUE CORN GERMOPLASM

ABSTRACT: Along with wheat and rice, corn is one of the most important cereals in the world. It is an essential component of the human diet and a basic raw material for the industry, producing starch, oil, proteins, alcoholic beverages, food sweeteners, and fuels. The black, purple, and red colors observed in the endosperm of corn are caused by plant pigments, among which anthocyanins stand out, giving the corn kernel its blue color. Anthocyanins are present in the vacuoles of the cells of the aleurone layer, endosperm, or pericarp of the grain. It is important to know the specific location of the pigment in the grain because it determines whether it is maintained in the food that reaches the consumer after the nixtamalization process. In the alkaline-thermal processing of the grain, the pericarp of the grains is detached. Therefore, if the anthocyanins are located only in that structure, they will be lost. Another factor to consider in blue corn is the hardness of the endosperm because it is directly related to the susceptibility to storage pests and the longevity of the seeds. The objective of the present study was to locate anthocyanins in the morphological components of the seed and establish the degree of hardness of the endosperm of seeds of 14 blue corn genotypes. The seeds were dissected into their main morphological structures, and the location of the pigment and the degree of hardness of the endosperm were determined. It was found that the genetic materials accumulated anthocyanins in the aleurone layer of the grain, a very favorable aspect for its nutritional value. Furthermore, the genotypes showed genetic heterogeneity in the degree of grain hardness. Therefore, the analyzed genotypes were useful for forming hybrids and improved varieties of blue corn.

KEYWORDS: *Zea mays*. Aleurone. Endosperm. Pericarp.

1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el maíz rebasó al trigo y al arroz en importancia como componente esencial de la dieta humana a nivel mundial, estos cereales permanecieron

muchas décadas con el privilegio de ser los cultivos alimenticios principales, sobre todo el arroz.

El maíz también es materia prima básica en la industria de transformación con la que se producen almidón, aceite y proteínas, bebidas alcohólicas, edulcorantes alimenticios y, desde hace poco, combustible (López *et al.*, 2009).

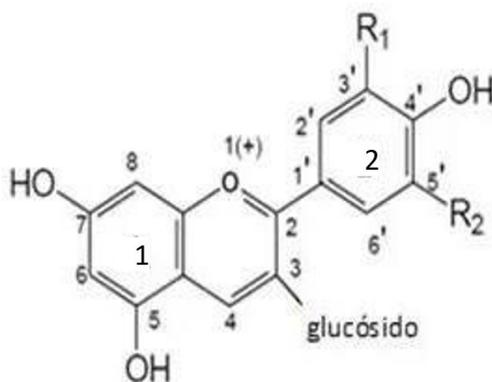
Entre las variantes múltiples del maíz, destacan los que presentan granos de color azul, en diversas variaciones y tonalidades de ese color, son los llamados maíces azules, clasificados como maíces pigmentados junto a otros, por ejemplo de color amarillo debido a su contenido de carotenos.

Los maíces azules sintetizan y acumulan antocianinas en las células de la capa de aleurona, en el endospermo o en ambos tejidos del cariósido, estos pigmentos vegetales se derivan de la cianidina y pelargonidina y son compuestos fenólicos del grupo de los flavonoides (Salinas *et al.*, 2013).

Las antocianinas, que son moléculas cromóforas solubles en agua, poseen propiedades químicas relacionadas con la reducción de colesterol y triglicéridos del torrente sanguíneo humano; de las antocianinas del maíz también se obtienen pigmentos naturales útiles como colorantes de vinos, mermeladas y jugos de frutas. La principal fuente de antocianinas naturales, muy demandadas en la actualidad, son frutos rojos, vino y maíz azul.

El color de las antocianinas varía con el número de los sustituyentes químicos que estén presentes y con la disposición éstos en el grupo flavilio de la molécula.

Figura 1. Estructura y sustituyentes de las antocianinas. 1, anillo benzopirilo; 2, anillo fenólico. (Modificado de Hid *et al.*, 2010).



Los colores negros, morados y rojos que se observan en el endospermo del maíz son causados por antocianinas presentes en el endospermo, la capa de aleurona y/o pericarpio de la semilla o grano de maíz (Salinas *et al.*, 1999).

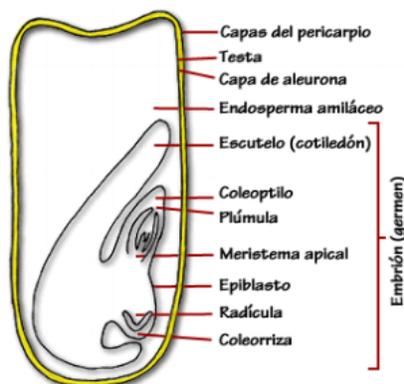
Actualmente, las antocianinas del maíz morado y azul están siendo usadas para la producción de tortillas azules. La incorporación de antocianinas como colorantes alimenticios, además de mejorar el aspecto visual del producto, son muy benéficas para la salud y, principalmente son de origen natural. Diversos estudios evidencian que los extractos ricos en antocianinas pueden mejorar la agudeza visual, tienen actividad antioxidante, inactivan radicales libres y actúan como quimio protectores. Las antocianinas también asumen un papel relevante en el control de lípidos, secreción de insulina y efectos vaso protectores sanguíneos (Arellano *et al.*, 2013).

En la estructura de la semilla de maíz (Figura 2) las antocianinas se localizan en la capa de aleurona, en el pericarpio, o en ambas regiones, como ya se mencionó.

En un programa de desarrollo de híbridos y variedades mejoradas de maíz azul es menester conocer el tejido específico en el que se encuentran las antocianinas para encauzar los objetivos del fitomejoramiento hacia el aprovechamiento idóneo del germoplasma disponible, ya sea formar híbridos o variedades sintéticas, para su cultivo e ingesta directa, o bien, destinados a la extracción del pigmento (Salinas Moreno *et al.*, 2013). De igual manera, es relevante determinar la dureza del endospermo de los recursos genéticos disponibles de maíz azul, a causa de la susceptibilidad a plagas de almacén y escasa longevidad de semilla de este maíz pigmentado. En este sentido, se ha detectado variabilidad genética en el grado de dureza del grano, por lo es pertinente estimar esta característica en los recursos genéticos disponibles y dirigir el mejoramiento hacia la obtención de materiales mejorados con semillas compactas y con la mayor longevidad posible.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue ubicar las antocianinas en los componentes morfológicos de la semilla y establecer el grado de dureza del endospermo en 14 genotipos de maíz azul.

Figura 2. Componentes morfológicos de la semilla de maíz (https://www7.uc.cl/sw_educ/cultivos/cereales/maiz/semillas.htm).



2 MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon semillas de 14 genotipos de maíz azul (Cuadro 1), las cuales se disecaron en sus componentes morfológicos: pericarpio, aleurona y endospermo (Figura 2) y se determinó la ubicación espacial de las antocianinas y el grado de dureza del endospermo. Para lo anterior, se tomaron 50 semillas por repetición y los experimentos se manejaron según un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones de 25 semillas.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos (Cuadro 1) evidenciaron que todos los genotipos del germoplasma disponible para el programa de mejoramiento genético, tienen las antocianinas en la capa de aleurona, circunstancia favorable para que dicho pigmento no se pierda durante la nixtamalización; por tanto, todos los materiales son susceptibles de utilizarse para formar híbridos o variedades.

Otro dato relevante fue que el tipo de endospermo sí varió ampliamente entre los 14 genotipos. Con este resultado se constató la variabilidad genética para ese carácter en los recursos genéticos disponibles.

En términos de las actividades genotécnicas, los resultados anteriores posibilitarán la derivación de líneas endogámicas y la planeación de los cruzamientos, sobre la base de que el pigmento de interés se localiza en la aleurona y no se perderá durante el proceso de nixtamalización. Aunque sí habrá que evaluar la relación del grado de dureza del endospermo con la cantidad de antocianinas presente en el grano. Estas evaluaciones serán adicionales por supuesto a la evaluación agronómica y de rendimiento de los materiales en proceso de mejoramiento.

Cuadro 1. Localización de las antocianinas y grado de dureza del endospermo en 14 genotipos de maíz azul.

Tratamiento	Genotipo	Ubicación pigmento	Endospermo
1	L 3	Capa de aleurona	Muy suave
2	L 4	Capa de aleurona	Suave
3	L 8	Capa de aleurona	Muy suave
4	L 9	Capa de aleurona	Intermedio
5	L 10	Capa de aleurona	Muy suave
6	L 11	Capa de aleurona	Suave
7	L 12	Capa de aleurona	Muy suave
8	L 11 x L 12	Capa de aleurona	Intermedio
9	(L 11 x L 12) X L 10	Capa de aleurona	Intermedio
10	L 9 x L 4	Capa de aleurona	Suave

11	(L 9 x L 4) x L 11	Capa de aleurona	Suave
12	L 10 x L 8	Capa de aleurona	Intermedio
13	(L10 x L 8) x L 3	Capa de aleurona	Intermedio
14	(L 11 x L 12) x L 3	Capa de aleurona	Duro

4 CONCLUSIONES

Las antocianinas se ubicaron en la capa de aleurona del grano en todos los genotipos del germoplasma evaluado, por lo que es posible utilizarlos para formar híbridos y variedades mejoradas de maíz azul, cuyo contenido del pigmento no se pierda con la nixtamalización. Por otra parte, la dureza del grano varió ampliamente entre genotipos.

En los recursos genéticos analizados se determinaron las cualidades de ubicación de las antocianinas y dureza del endospermo indispensables para formar híbridos y variedades mejoradas de maíz azul.

REFERENCIAS

Arellano Vázquez, J.L., Rojas Martínez, I., Gutiérrez Hernández, G.F. (2013). Híbridos y variedades sintéticas de maíz azul para el Altiplano Central de México: potencial agronómico y estabilidad del rendimiento. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4 (7), 999-1011.

Hid-Cadena, R.; Bautista-Ortín, A.B.; Ortega-Regules, A.E.; Welte-Chanes, J.S.; Lozada-Ramirez, J.D.; Anaya de Parrodi, C. Cambios en contenido de compuestos fenólicos y color de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) sometidos a calentamiento con energía de microondas. IX Congreso Nacional del Color. Alicante 2010. Universidad de Alicante, España. 300 – 303 pp. ISBN: 978-84-9717-144-1

López-Martínez, L.X.; Oliart-Ros, R.M.; Valerio-Alfaro, G.; Lee, C.H.; Parkin, K.L.; García, S.H. 2009. Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Science and Technology*, 42: 1187-1192.

Salinas M., Y.; García S., C.; Coutiño E., B.; Vidal M., V.A. 2013. Variabilidad en contenido y tipos de antocianinas en granos de color azul/ morado de poblaciones mexicanas de maíz. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36: 285-294.

Salinas M.Y.; Soto H.M.; Martínez B.F.; González H.V.A.; Ortega P.R. 1999. Análisis de antocianinas en maíces de grano azul y rojo provenientes de cuatro razas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 22: 161-174.

CAPÍTULO 4

PARDEAMIENTO Y PORCENTAJE DE BROTAÇÃO EN TUBÉRCULOS DE CLONES Y VARIEDADES DE PAPA (*Solanum tuberosum* L.) INFECTADOS POR *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Data de submissão: 06/11/2023

Data de aceite: 20/11/2023

Margarita Díaz Valasis

Doctor en Ciencias
Especialidad en Fitopatología
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Valle de México
Km. 13.5, Carretera Los Reyes
Texcoco Coatlinchan. C.P. 56250
Texcoco, Edo. de México, México

Víctor Manuel Parga Torres

Doctor en Ciencias
Especialidad en Fitomejoramiento
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Saltillo
Hacienda de buena vista
km. 342+119 # 9515
Carretera Saltillo – Zacatecas
C.P. 25315, Saltillo Coahuila, México

María Genoveva Álvarez Ojeda

Doctor en Ciencias
Especialidad en Microbiología
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Río Bravo. Km 61
Carretera Matamoros-Reynosa
CP. 88900, Río Bravo
Tamaulipas, México
<https://orcid.org/0000-0002-2203-5402>

Ángel Ismael Narváez Rodríguez

Químico Bacteriólogo Parasitólogo
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental General Terán
Km 31, Carretera Montemorelos-China
Ex-hacienda Las Anacuas, C.P. 67400
Cd. General Terán, Nuevo León, México

Isidro Humberto Almeyda León¹

Doctor en Ciencias
Especialidad en Biotecnología
Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental General Terán
Km 31, Carretera Montemorelos-China
Ex-hacienda Las Anacuas, C.P. 67400
Cd. General Terán, Nuevo León, México
<https://orcid.org/0000-0002-8790-4437>

RESUMEN: Actualmente el manejo y control del síndrome de la Punta Morada de la Papa se realiza mediante el control químico del vector con aplicaciones masivas de pesticidas con un gran efecto adverso al ambiente y a la salud humana. Por lo tanto, es indispensable generar alternativas que permitan obtener una producción rentable y sustentable para el productor, como es el uso de variedades con características de tolerancia o resistencia a la enfermedad. El objetivo de este estudio fue determinar el grado del daño ocasionado

¹ Autor de correspondencia: almeyda.isidro@inifap.gob.mx

por *Candidatus Liberibacter solanacearum* en el pardeamiento y porcentaje de brotación de tubérculos de papa. Se evaluaron 14 genotipos generados en el INIFAP (13 clones y la variedad Norteña), también se incluyeron las variedades comerciales Fianna, Gigant y Mondial. En 11 clones y en las variedades Gigant y Mondial se registró daño de pardeamiento del tubérculo con valores que fluctuaron de leve (L) a muy fuerte (F+), sobre todo cuando no se realizó la aplicación de insecticidas. En los clones 07-09-35, 98-18-24 y en las variedades Norteña y Fianna, no se observaron síntomas visuales del síndrome de PMP en el tubérculo, pero si se detectó a la bacteria mediante PCR, menos en el clon 07-09-35. Con estos resultados, se puede inferir que los materiales mexicanos, sobre todos aquellos de período intermedio o semitardío se constituyen como una opción viable para la producción sostenible de la papa ya que pueden llegar a cosecha antes de estar sometidas a fuertes concentraciones de inóculo debido a poblaciones altas del vector. Además, la ausencia de la bacteria causante de la PMP en los tubérculos, sobre todo de aquellos que se pretenden usar como semilla, se debe establecer por métodos moleculares como el PCR y no por la apariencia de los brotes para evitar su diseminación a nuevas áreas de cultivo.

PALABRAS CLAVE: Papa. Punta morada. Pardeamiento. Brotación.

BROWNING AND SPROUT PERCENTAGE IN TUBERS OF CLONES AND VARIETIES OF POTATO (*Solanum tuberosum* L.) INFECTED BY *Candidatus Liberibacter solanacearum*

ABSTRACT: Currently, the management and control of Potato Purple Top syndrome is carried out through chemical control of the vector with massive applications of pesticides with a great adverse effect on the environment and human health. Therefore, it is essential to generate alternatives that allow profitable and sustainable production for the producer, such as the use of varieties with characteristics of tolerance or resistance to the disease. The objective of this study was to determine the degree of damage caused by *Candidatus Liberibacter solanacearum* in the browning and sprouting percentage of potato tubers. Fourteen genotypes generated at INIFAP were evaluated (13 clones and the Norteña variety), the commercial varieties Fianna, Gigant and Mondial were also included. In 11 clones and in the Gigant and Mondial varieties, tuber browning damage was recorded with values that fluctuated from mild (L) to very strong (F+), especially when insecticides were not applied. In clones 07-09-35, 98-18-24 and in the Norteña and Fianna varieties, no visual symptoms of PMP syndrome were observed in the tuber, but the bacteria was detected by PCR, less so in clone 07-09-35. With these results, it can be inferred that Mexican materials, especially those from the intermediate or semi-late period, constitute a viable option for the sustainable production of potatoes since they can reach harvest before being subjected to strong concentrations of inoculum due to high vector populations. Furthermore, the absence of the bacteria that causes PMP in potato tubers, especially those that are intended to be used as seeds, must be established by molecular methods such as PCR and not by the appearance of the sprouts to prevent its spread to new growing areas.

KEYWORDS: Potato. Purple tip. Browning. Sprouting.

1 INTRODUCCIÓN

En México, la papa (*Solanum tuberosum* L.) se siembra en una superficie aproximada de 60,000 ha bajo condiciones de riego y temporal, con una producción anual de 1´784,000 t (SIAP, 2020). La producción es afectada por diversos problemas fitosanitarios, el más importante es el síndrome Punta Morada de la Papa (PMP), el cual está asociado a *Candidatus Liberibacter solanacearum* (CaLso) y *Candidatus Phytoplasma* spp (CaPhy) (Munyanza, 2012; Caicedo *et al.*, 2020). CaLso es una bacteria α -proteobacteria gram-negativa, no cultivable *in vitro*, limitada al sistema vascular del floema, es un parásito obligado de plantas e insectos, y presenta transmisión horizontal y vertical (Bertolini *et al.*, 2015; Munyanza *et al.*, 2008, Munyanza, 2012). Este problema fitosanitario de la papa también es de gran importancia en otros países como Nueva Zelanda (Liefing *et al.*, 2008), Estados Unidos de América y Centro América (Munyanza *et al.*, 2007; Secor *et al.*, 2009). Las regiones más afectadas en México son el Centro (Edo. de México, Puebla, Tlaxcala, Hidalgo, Veracruz), el Noreste (Coahuila y Nuevo León) y el Bajío (Guanajuato y Michoacán). La región Noroeste (Sonora, Sinaloa, Baja California, Chihuahua) y la zona de Tapalpa, Jal., son afectadas en menor grado que las anteriores; sin embargo, el problema se ha ido incrementando (Rubio *et al.*, 2011a). La transmisión de estos patógenos se realiza principalmente por vectores, para el caso de CaLso se reporta como vector a *Bactericera cockerelli* (Sulc), conocido como el psilido de la papa. Los fitoplasmas están asociados con la presencia de cicadélidos y saltones de hojas, (Cuesta *et al.*, 2021). La transmisión también se realiza mediante tubérculos infectados los cuales se utilizan como semilla (Caicedo *et al.*, 2020; Cuesta *et al.*, 2021). En un estudio realizado en México Rubio, *et al.* (2011b), reportaron una estrecha asociación entre la población de *B. cockerelli* y la incidencia de la PMP y también observaron que el 54 % de los tubérculos con los síntomas de la enfermedad eran positivos a la bacteria Ca. *Liberibacter solanacearum* y solamente el 3.5 % fueron positivos a fitoplasmas, lo cual soporta lo reportado por otros investigadores (Hansen *et al.*, 2008; Liefing *et al.*, 2008; Venkatesan *et al.*, 2010) y confirma que el principal agente causal del síndrome de la PMP en México, al igual que en otros países, es la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*. Los tubérculos usados como semilla generalmente no brotan y si lo hacen estos presentan brotes muy alargados o ahilados, como resultado los rendimientos decrecen significativamente y el tamaño de los tubérculos se reduce (Munyanza, 2012). Dependiendo de la etapa de desarrollo en que las plantas son infectadas, el rendimiento de tubérculos puede disminuir entre 10 y 100 % o bien la calidad del tubérculo (manchado de la pulpa), no es adecuada para su comercialización y como consecuencia las pérdidas

económicas son muy cuantiosas (Rubio *et al.*, 2013). En la actualidad, el control de la PMP se basa casi exclusivamente en la aplicación intensiva de insecticidas químicos, por lo que es necesario establecer un sistema de control integrado de la enfermedad que incluya el uso de variedades tolerantes, insecticidas biológicos y prácticas culturales (Rubio *et al.*, 2013) y hasta el final hacer uso del control químico, con productos, que respeten la fauna benéfica. Por esa razón el objetivo de este trabajo fue determinar el grado del daño ocasionado por *Candidatus Liberibacter solanacearum* en el pardeamiento y porcentaje de brotación de tubérculos de papa.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 COLECTA DE MATERIALES

Durante el 2022 y 2023, se colectaron tubérculos 11 clones de papa y las variedades comerciales Gigant y Mondial, los cuales presentaban brotes normales, sin síntomas de infección por la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Figura 1).

Figura 1. Tubérculos de papa sin síntomas aparentes de infección por PMP.



Estos materiales se cultivaron bajo condiciones de campo en el Estado de México, con aplicación y sin aplicación de insecticidas y se registró el grado de pardeamiento y porcentaje de brotación. En el estudio también se incluyeron los clones 07-09-35 y 98-18-24, así como las variedades Norteña y Fianna, producidas bajo condiciones de campo en el Estado de Coahuila con aplicación de insecticidas. Estos materiales han presentado estabilidad en el rendimiento y calidad de la cosecha.

2.2 DETECCIÓN DE LA BACTERIA *Candidatus Liberibacter solanacearum*

La extracción del ADN de las muestras (tubérculos y brotes) se realizó con la metodología reportada por Almeйда *et al.*, 2001. La detección de la bacteria se realizó

mediante la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa-Punto final y se utilizaron los iniciadores Lp16S-2F/Lp16S-2R, diseñados sobre la secuencia del gen que codifica para el ARN ribosomal 16S de la bacteria y que amplifican un fragmento de aproximadamente 872 pb. Para el caso de los clones 07-09-35 y 98-18-24, así como las variedades Norteña y Fianna también se utilizaron los iniciadores Lp16S-ISR-RF/Lp16S-ISR-RR diseñados sobre la secuencia del gen que codifica para el ARN ribosomal 16S y en la región intergénica entre los genes ribosomales 16S y 23S de la bacteria, los cuales amplifican un fragmento de aproximadamente 662 pb (Hansen *et al.*, 2008). Las reacciones de PCR se realizaron en un volumen final de 25 µL conteniendo: 5.0 µL de Buffer PCR (1X) que incluye a los dNTP's y el NaCl₂, 2.0 µL de cada indicador (25 pMoles), 100 ng de ADN y 0.3 Unidades de la DNA Taq Polymesara y 13.7 µL de H₂O estéril. El programa de amplificación fue: Un ciclo de desnaturalización inicial a 95 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos a 95 °C por 1 min, 60 °C por 30 s y 72 °C por 1 min, y un ciclo de extensión final a 72 °C por 10 min. Los fragmentos amplificados fueron fraccionados en geles de agarosa al 1.5 %, se tiñeron con el colorante Gel-Red y se visualizaron en un transiluminador de luz ultravioleta.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 PORCENTAJE DE PARDEAMIENTO Y BROTAÇÃO DE TUBÉRCULOS

El grado de pardeamiento registrado varió de leve (L) hasta muy fuerte (F+), en los clones y variedades evaluadas, los mayores valores de pardeamiento se observaron cuando no se realizó la aplicación de insecticidas. El clon 1-13-1 y la variedad Gigant registraron valores de pardeamiento del tubérculo de moderado (M) a moderado-fuerte (M-F) sin aplicación de insecticidas e incluso el porcentaje de brotación fue mayor bajo esta condición de manejo (Cuadro 1). Sin embargo, es importante destacar que la brotación de los tubérculos de todos los clones y de las dos variedades fue del tipo conocido como tallo de hilo, lo cual no es deseable si se quiere utilizar este material como semilla en un siguiente ciclo de cultivo. Con base en la detección de CaLso por PCR, se puede inferir que el grado de pardeamiento está relacionado con la concentración de la bacteria, ya que este patógeno fue detectado con mayor sensibilidad en los tubérculos procedentes de plantas sin aplicación de insecticidas, es decir donde la presión del inóculo fue mayor debido a la presencia del vector.

Cuadro 1. Grado de pardeamiento y porcentaje de brotación de los tubérculos de 11 clones y dos variedades de papa con y sin aplicación de insecticidas.

Clon	Tratamiento		Grado de pardeamiento	Porcentaje de brotación	Tipo de brotación
	Con aplicación	Sin aplicación			
1-6-1	X		M, F	73.8	Brote fino
1-6-1		X	F	56.2	Brote fino
8-29	X		M-F	30.0	Brote fino
8-29		X	F	0.0	-----
1-13-1	X		L, M-F, F	51.5	Brote fino
1-13-1		X	M, M-F	71.4	Brote fino
3-7-8	X		M, M-F	71.8	Brote fino
3-7-8		X	F	27.5	Brote fino
4-5-6	X		M, M-F	72.7	Brote fino
4-5-6		X	F	42.8	Brote fino
01-8	X		M	40	Brote fino
01-8		X	F	6.8	Brote fino
4-6-7	X		M-F	44.1	Brote fino
4-6-7		X	M	10.0	Brote fino
4-5-6	X		M, M-F	72.7	Brote fino
4-5-6		X	F	42.8	Brote fino
4	X		F+	79.1	Brote fino
4		X	M-F	38.7	Brote fino
Gigant	X		M-F	92.3	Brote fino
Gigant		X	M	100.0	Brote fino
Mondial	X		F+	77.5	Brote fino
Mondial		X	F+	50.0	Brote fino

L= Leve M= Moderado M-F= Moderado a fuerte F= Fuerte F+= Muy fuerte.

3.2 DETECCIÓN DE LA BACTERIA *Candidatus Liberibacter solanacearum*

Se detectó a la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* a partir del ADN extraído de todos los tubérculos colectados durante el 2012 y 2013. Sin embargo, la bacteria no se detectó cuando se utilizó el ADN extraído de los brotes provenientes de los mismos tubérculos que resultaron positivos (en el cuadro 2, se muestran los resultados obtenidos en 10 tubérculos y sus brotes).

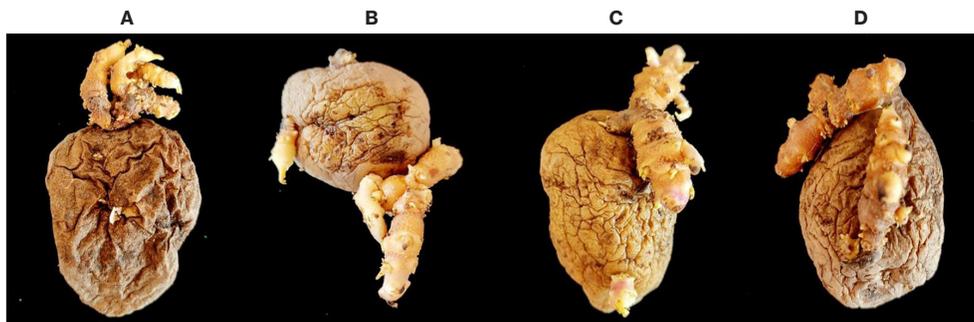
Por lo que corresponde a los clones 98-18-24 y 07-09-35 y las variedades comerciales Norteña y Fianna, de 10 tubérculos colectados al azar, de cada uno de los materiales, todos estuvieron libres del manchado de la pulpa o pardeamiento interno, así

como de síntomas en el haz vascular, que son los síntomas característicos de infección por el síndrome de la PMP. Además, los tubérculos muestreados presentaron brotación normal sin la presencia de brotes alargados o ahilados (Figura 2).

Cuadro 2. Resultados del análisis para la detección de *Ca. Liberibacter solanacearum* en tubérculos y sus brotes.

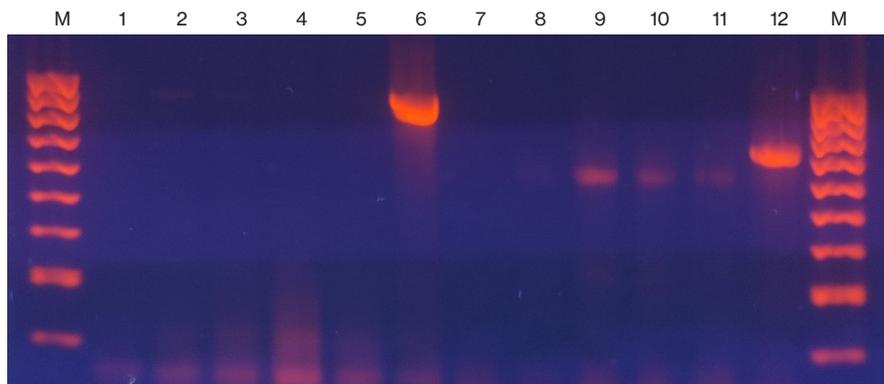
Muestra	Resultado	Muestra	Resultado
Tubérculo 1	+	Tubérculo 6	+
Brote 1	-	Brote 6	-
Tubérculo 2	+	Tubérculo 7	+
Brote 2	-	Brote 7	-
Tubérculo 3	+	Tubérculo 8	+
Brote 3	-	Brote 8	-
Tubérculo 4	+	Tubérculo 9	+
Brote 4	-	Brote 9	-
Tubérculo 5	+	Tubérculo 10	+
Brote 5	-	Brote 10	-

Figura 2. Tubérculos de papa con brotación normal, sin síntomas de brotes alargados o ahilados. A= Clon 07-09-35; B= Clon 98-18-24; C= Variedad Norteña; D= Variedad Fianna.



Sin embargo, cuando se realizó el análisis mediante PCR para la detección de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum* en los tubérculos muestreados, la presencia del patógeno se registró en el clon 98-18-24 y en las variedades Norteña y Fianna con los iniciadores Lp16S-ISR-RF/Lp16S-ISR-RR. Cuando se utilizaron los iniciadores Lp16S-2F/Lp16S-2R, la bacteria no se detectó en ninguno de los genotipos evaluados (Figura 3). Estos resultados pueden estar asociados a una baja concentración de la bacteria o a que los primers Lp16S-2F/Lp16S-2R, no tienen un 100 % homología con el gen ARN ribosomal 16S, por lo tanto, en bajas concentraciones la bacteria no puede ser detectada.

Figura 3. Amplificación mediante PCR de fragmentos del gen RNA ribosomal 16S y de la región intergénica entre el gen RNA ribosomal 16S y el gen 23S de *Candidatus Liberibacter solanacearum* a partir del ADN extraído de diferentes genotipos de papa. Carriles M: Marcador de Peso Molecular HiperLadder™ 100bp; Carril 1: Testigo negativo; Carril 2: Clon 07-09-35; Carril 3: Clon 98-18-24, Carril 4: Variedad Norteña; Carril 5: Variedad Fianna, Carril 6: Testigo positivo, con los iniciadores Lp16s-2F/Lp16s-2R; Carril 7: Testigo negativo, Carril 8: Clon 07-09-35; Carril 9: Clon 98-18-24, Carril 10: Variedad Norteña; Carril 11: Variedad Fianna, Carril 12: Testigo positivo, con los iniciadores Lp16S-ISR-RF/Lp16S-ISR-RR.



Es importante señalar que tanto el clon 98-18-24 como la variedad Norteña son de ciclo tardío (120 días después de la emergencia), por lo tanto, estuvieron más tiempo expuestos a la presencia del vector el psílido *Bactericera cockerelli* (Sulc). Por consecuencia, la presión y presencia del patógeno fue mayor en estos dos genotipos, lo que permitió a la bacteria ser transmitida e infectar a estos materiales en la última etapa de su ciclo, ya que la aparición de los síntomas del síndrome de PMP fue entre los 90 y 100 días después de la emergencia del cultivo. En esta etapa el clon 07-09-35 y la Variedad Fianna prácticamente estaban en la etapa de cosecha (desvare) ya que son de ciclo semitardío (100 a 120 días después de la emergencia). Sin embargo, en la variedad Fianna también se detectó a la bacteria, aunque se puede asumir que su concentración fue menor que en el clon 98-18-24 y la variedad Norteña en virtud a la menor resolución del fragmento amplificado (Figura 3-11). Por otra parte, se puede inferir que la variedad Norteña presenta mayor tolerancia al síndrome de PMP que el clon 98-18-24, ya que la resolución de amplificación fue mayor en este último genotipo (Figura 3-9). Es conveniente señalar que si los tubérculos no presentaron síntomas de manchado o pardeamiento interno, ni tampoco síntomas en el haz vascular, no se puede inferir que fue debido a características de tolerancia de estos genotipos, si no que tal vez fue debido a que la población de los vectores fue baja y además su control dejó de realizarse en los últimos días del ciclo del cultivo. Por lo tanto, la infección fue en la última etapa de desarrollo de los genotipos principalmente de aquellos de ciclo tardío, por consecuencia los síntomas no se expresaron en los tubérculos pero si en la parte aérea. Por otra parte, si bien es

cierto que no se observaron síntomas de infección de la bacteria en los tubérculos y se tuvieron brotes sanos (diferiendo con lo que señalado por Munyaneza *et al.*, 2012), eso no quiere decir que dicho material se deba utilizar como semilla ya que como señalan Pitman *et al.* (2011), la transmisión de CaLso de semilla tubérculo a planta es factible como pudo comprobar mediante el análisis por PCR, ya que la bacteria estuvo presente en al menos tres genotipos y se constituye como el inóculo inicial para un siguiente ciclo de cultivo, teniendo mayor impacto en la presencia y diseminación de la enfermedad que los propios vectores como lo mencionan Hernández *et al.* (2018), lo cual implica un alto riesgo de pérdida entre el 60 al 80 % del rendimiento y del 100 % de la producción para su uso en la industria.

4 CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos, se puede establecer que todos los materiales de papa evaluados en mayor o menor grado presentan daño de pardeamiento y brotación anormal de tubérculo sobre todo cuando no se realiza el control químico del vector de la bacteria *Candidatus Liberibacter solanacearum*. Sin embargo, se puede inferir que los materiales mexicanos, sobre todos aquellos de período intermedio o semitardío se constituyen como una opción viable para la producción sostenible de la papa. La ausencia de la bacteria causante de la PMP en tubérculos de papa, sobre todo de aquellos que se pretenden usar como semilla, se debe establecer por métodos moleculares como el PCR, pero a partir del ADN extraído de tubérculo y no por la apariencia de sus brotes.

LITERATURA CITADA

- Almeyda, L. I.H., Rocha, P. M.A., Piña, R. J. and Martínez, S. J.P. 2001. The use of polymerase chain reaction and molecular hybridization for detection of *Phytoplasma* sp. in different plant species in México. 2001. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19: 1-9.
- Bertolini, E., Teresani, G.R., Loiseau, M., Tanaka, FAO, Barbé, S. and Martínez, C. 2015. Transmission of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' in carrot seeds. *Plant Pathology* 64: 276-285.
- Caicedo, D., Simbaña, L. L., Calderón, D. A., Lalangui, K. P., and Rivera V.L.I. 2020. First report of "*Candidatus Liberibacter solanacearum*" in Ecuador and in South America. *Australasian Plant Disease Notes* 15(1): 6.
- Cuesta, X., Peñaherrera, D., Velásquez, J., Racines, M. and Castillo, C. 2021. Guía de manejo de la punta morada de la papa. Segunda edición. Manual técnico No. 104. Quito (Ecuador). Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 20 págs.
- Hansen, A.K., Trumble, J.T., Stouthamer, R., and Paine, T.D. 2008. New Huanglongbing (HLB) *Candidatus* species, "*C. Liberibacter psyllauros*", found to infect tomato and potato is vectored by the psyllid *Bactericerca cockerelli* (Sulc). *Applied and environmental microbiology* 74(18): 5862–5865.

Hernández, G.V., Salas, M.M.A., Frías T.G.A., Aguirre, U.L.A., Flores, O.A. and Almeyda, L.I.H. 2018. Importance of the Seed-tuber and the Overgrowth *Lycium berlandieri* (Dunal) for the Potato Purple Top/Zebra Chip Epidemic. *Rev. Bio-Cien.* 5(nesp), e442. doi: <https://doi.org/10.15741/revbio.05.nesp.e442>.

Liefting, L.W., Pérez-Egusquiza, Z.C. and Clover, G.R. 2008. A New '*Candidatus Liberibacter*' Species in *Solanum tuberosum* in New Zealand. *Plant Disease* 92(10): 1474.

Munyanza, J.E., Crosslin, J.M. and Upton, J.E. 2007. Association of *Bactericera cockerelli* (Homoptera: Psyllidae) with "Zebra Chip," a New Potato Disease in Southwestern United States and Mexico. *Journal Economic Entomology* 100(3): 656-663.

Munyanza, J.E., Buchman, J.L., Upton, J.E., Goolsby, J.A., Crosslin, J.M., Bester, G., Miles, G.P. and Sengoda, V.G. 2008. Impact of Different Potato Psyllid Populations on Zebra Chip Disease Incidence, Severity, and Potato Yield. *Subtropical Plant Science* 60: 27-37.

Munyanza, J.E. 2012. Zebra Chip Disease of Potato: Biology, Epidemiology, and management. *American Journal Potato Research* 89: 329-350.

Pitman, A.R., Drayton, G.M., Kraberger, S.J., Gent, R.A. and Scott, A. 2011. Tuber transmission of *Candidatus Liberibacter solanacearum* and its association with zebra chip on potatoe in New Zealand. *European Journal of Plant Pathology* 129: 389.

Rubio, C.O.A., Cadena, H.M.A. and Almeyda, L.I.H. 2011a. A summary of research work on potato zebra chip in the central part of Mexico. Proceedings of the 11th annual zebra chip reporting session. San Antonio Tx. USA.

Rubio, C.O.A., Almeyda, L.I.H., Cadena, H.M.A., and Lobato, S.R. 2011b. Relación entre *Bactericera cockerelli* y la presencia de *Candidatus Liberibacter psyllaurosus* en lotes comerciales de papa. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.* 2(1): 17-28.

Rubio, C.O.A., Cadena, H.M.A. and Carrillo, G. 2013. Manejo integrado de la punta morada de la papa en el Estado de México. Folleto Técnico No. 2, diciembre, 2013. Metepec, Estado de México, México.

Secor, G.A., Rivera, V.V., Abad, J.A., Lee, M., Clover, G. R.G., Liefting, L.W., Li, X. and De Boer, S.H. 2009. Association of '*Candidatus Liberibacter solanacearum*' with Zebra Chip Disease of Potato Established by Graft and Psyllid Transmission, Electron Microscopy, and PCR. *Plant Disease* (93)6: 574-586.

SIAP. 2020. Panorama Agroalimentario. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Ciudad de México, México. 200 p. <https://www.inforural.com.mx/wp-content/uploads/2020/11/Atlas-Agroalimentario-2020.pdf>.

Venkatesan, G.S., Munyanza, J.E., Crosslin, J.M., Buchman, J.L. and Pappu, H.R. 2010. Phenotypic and etiological differences between psyllid yellows and zebra chip disease of potato. *American Journal Potato Research* 87: 41-49.

CAPÍTULO 5

ATAQUE DE *Frankliniella williamsi* HOOD (*Thysanoptera*: Thripidae) EN CULTIVARES DE YUCA (*Manihot esculenta* Crantz) EN TABASCO, MÉXICO

Data de submissão: 21/09/2023

Data de aceite: 10/10/2023

Dante Sumano López

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Huimanguillo, Km 1
Carretera Huimanguillo-Cárdenas
Municipio de Huimanguillo, Tabasco
CP. 86400. Área Agrícola sanidad vegetal
<https://orcid.org/0000-0002-1947-4949>

Mario Rodríguez Cuevas

Instituto Nacional de Investigaciones
Forestales, Agrícolas y Pecuarias
Campo Experimental Huimanguillo, Km 1
Carretera Huimanguillo-Cárdenas
Municipio de Huimanguillo, Tabasco
CP. 86400. Área Agrícola
<https://orcid.org/0009-0006-4217-6030>

Víctor Hugo Arias López

Centro de Bachillerato Tecnológico
Agropecuário No. 266
General Carlos Greene Ramírez
Prolongación Calle 3. Poblado C-29
General Vicente Guerrero
Municipio de Cárdenas, Tabasco
México. CP. 86460
<https://orcid.org/0009-0003-3878-7013>

RESUMEN: El trips *Frankliniella williamsi* Hood (*Thysanoptera*: Thripidae), es una de las principales plagas del cultivo de yuca (*Manihot*

esculenta Crantz) en zonas productoras de México. Es un insecto pequeño (1,5 mm de longitud), color amarillo dorado, ataca a brotes, hojas jóvenes y maduras. El objetivo del trabajo fue evaluar la severidad de daño causado de *F. williamsi* en tres variedades de Yuca (Sabanera, Criolla y Esmeralda) en el INIFAP Campo experimental Huimanguillo, Tabasco, México, localizado en las coordenadas decimales 17.851007 y -93.396118. La investigación se realizó de marzo-mayo de 2017, donde se presenta una etapa de altas temperaturas y mínimas precipitaciones, lo cual favorece el desarrollo del insecto. Se realizaron muestreos semanales completamente al azar, con tres repeticiones cada uno. Se calculó la severidad de daños usando la escala modificada para daños de trips. Los resultados indican un porcentaje de daños elevados en la variedad Criolla 92 %, Sabanera 67 % y Esmeralda 0 %. La variedad Esmeralda presenta una mayor cantidad de vellosidades en la hoja lo cual puede disminuir el ataque de trips, lo cual concuerda con algunos autores que cultivares pubescentes son tolerantes a trips. Las variedades evaluadas presentan rendimientos entre 21- 29 t/ha. Siendo de la más usada la Criolla y Sabanera, debido a su mayor vida de anaquel, aunque, la Esmeralda supera en rendimiento a las anteriores. Por lo cual se concluye que la variedad Esmeralda es menos susceptible a trips en la época de mayor incidencia en Tabasco, México.

PALABRAS CLAVE: Daños. Trips. Cultivares.

ATTACK OF *Frankliniella williamsi* HOOD (Thysanoptera: Thripidae) ON CASSAVA VARIETIES (*Manihot esculenta* Crantz) AT TABASCO, MEXICO

ABSTRACT: The thrips *Frankliniella williamsi* Hood (Thysanoptera: Thripidae), is one of the main pests of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) cultivation in producing areas of Mexico. It is a small insect (1.5 mm in length), golden yellow in color, it attacks shoots, young and mature leaves. The objective of the work was to evaluate the severity of damage caused by *F. williamsi* in three varieties of cassava (Sabanera, Criolla and Esmeralda) in the INIFAP Experimental Field Huimanguillo, Tabasco, Mexico, located at decimal coordinates 17.851007 and -93.396118. The research was carried out from March to May 2017, when there is a stage of high temperatures and minimal rainfall, which favors the development of the insect. Completely random weekly sampling was carried out, with three repetitions each. Damage severity was calculated using the modified scale for thrips damage. The results indicate a high percentage of damage in the variety Criolla 92%, Sabanera 67% and Esmeralda 0%. The Esmeralda variety has a greater number of hairs on the leaf which can reduce the attack of thrips, which agrees with some authors that pubescent cultivars are tolerant to thrips. The varieties evaluated have yields between 21-29 t/ha. The Criolla and Sabanera are the most used, due to their longer shelf life, although the Esmeralda surpasses the previous ones in performance. Therefore, it is concluded that the Esmeralda variety is less susceptible to thrips during the time of highest incidence in Tabasco, Mexico.

KEYWORDS: Damage. Thrips. Cultivars.

1 INTRODUCCIÓN

La yuca *Manihot esculenta* Crantz es una planta originaria de América tropical, utilizada hace más de 4,000 años en Perú y por los mayas en Mesoamérica, dispersándose por el mundo a través de las conquistas. Actualmente la yuca para África, Asia y América es un cultivo básico para la alimentación de 800 millones de personas lo que incrementa su importancia agrícola (FAO 2013). Se estima una producción de 2,700 millones de t anuales, los países con mayor producción son Nigeria (54.8), Tailandia (30.02), Indonesia (23.4) y Brasil (23.2) millones de toneladas (FAOSTAT, 2014).

La OECD/FAO (2022) destaca dentro del mercado de raíces y tubérculos en primer lugar al cultivo de yuca, la proyección del mercado de demanda para el periodo 2022-2031. Las ventajas destacan, requiere pocos insumos y flexibilidad de cosecha ya que permite conservarla en el suelo mucho después de su madurez, se adapta a condiciones erráticas del clima, es tolerante a la sequía la cual se considera un cultivo estratégico para el cambio climático.

En México, se cuenta con un inventario de 15 millones de suelos tropicales con potencial productivo para la yuca, localizados la mayor parte en los litorales de la República Mexicana; en la Región Sureste de México cuenta con al menos 450 mil hectáreas aptas

para este cultivo, en estados como Yucatán, Campeche, Quintana Roo, Chiapas, Oaxaca, Tabasco, Veracruz y Guerrero, entre otros (Rivera et al. 2012).

México produce 18,135 toneladas de yuca, con un rendimiento por hectárea de 13.3 t ha⁻¹ en 1,521.34 ha distribuidas en siete estados: Tabasco con una superficie plantada de 1,409 ha (82.83 %), Morelos con 112.0 ha (7.08 %), Michoacán 109.0 ha (6.40 %), Veracruz 30.0 ha (1.76 %), Yucatán 26.0 ha (1.52 %), Guerrero 4.0 ha (0.24 %) y el Estado de México 2.5 ha (0.15 %) (Rivera et al. 2012; SIAP, 2014). Sin embargo, en el 2013 los rendimientos (14.64 t-ha⁻¹) fueron competitivos y superaron a los mundiales (10.5 t-ha⁻¹) (Ponce y Oña, 2009; SIAP, 2014, FAOSTAT, 2014).

Los trips, es una de las plagas fitófagas con mayor importancia económica en diferentes cultivos, debido a su agresividad, producto de su alimentación en periodos cortos de tiempo, además de la capacidad de posibles vectores de virus (Rodríguez-Romero et al. 2011), se han diseminado por gran parte del continente americano debido a que la yuca se cultiva en casi todos los países tropicales y subtropicales y el extenso intercambio de germoplasma entre agricultores, dentro de ellas se han propagado los trips donde se cultiva la yuca (Bellotti, 1983).

Los trips, son insectos pequeños que miden alrededor de 0.25 milímetros de ancho y 1 milímetro de largo, y se localizan en la parte inferior de las hojas del cogollo. Al atacar causan manchas amarillentas en las hojas jóvenes cercanas al cogollo, provocan el crecimiento irregular de las mismas y la muerte de las yemas apicales (Zanchez et al. 1998). Poseen una capacidad elevada de reproducción, además de su fácil diseminación por diferentes medios como lo son agua o viento (Pérez y Rodríguez, 2004).

De los principales generos de trips que causan daño se encuentran los géneros de la familia Thripidae: *Frankliniella* y *Scyrtotrips*. En el cultivo de yuca causan daños a las yemas en las yemas terminales de las plantas, lo que impide el correcto desarrollo, deformando los folíolos, sobre todos brotes jóvenes y yemas terminales de la planta, estos se tornan cloróticos y deformes. En los tallos y pecíolos aparece un tejido de color marrón. Esto provoca el acortamiento de los entrenudos. Al morir la yema apical, la planta forma numerosas yemas laterales, las cuales pueden ser atacadas con igual severidad (Bellotti et al. 2002).

Los trips *Frankliniella williamsi* Hood (Thysanoptera: Thripidae), son de color amarillo-dorado, mide aproximadamente 1.1mm de longitud. Se desarrolla en el envés de los folíolos. Con la presencia de *F. williamsi*, las hojas se desarrollan de manera anormal, presentando estrangulamiento, manchas amarillas-cloróticas, como pequeñas rasgaduras en los folíolos, causadas por el aparato bucal al momento de su alimentación

raspando la superficie de las hojas para que el contenido de las células de las hojas aflore (Bellotti et al. 2002). En este proceso los trips liberan sustancias que ayudan a pre digerir los tejidos, causando rasgaduras en las primeras capas de la epidermis. Los espacios dañados son semejantes manchones o rayas de coloraciones plateadas, impidiendo así el proceso natural de fotosíntesis, disminuyendo el crecimiento y al final, el rendimiento, que se refleja en pérdidas económicas (Gamundi et al. 1997).

Los trips son considerados como plagas oportunistas, ya que el ataque de estos se presenta durante los periodos de sequía, aumentando sus poblaciones y el daño hacia el cultivo (Bellotti, 2002). Su control generalmente se realiza de forma química con moléculas como dimethoato, carbamato o imidacloprid, sobre todo en ataques severos, realizando aspersiones cubriendo los cogollos y alternando las moléculas para no generar resistencia posteriormente (Valdez, 2014), aunque Sánchez et al. (1998), recomiendan utilizar variedades tolerantes a esta plaga de la yuca.

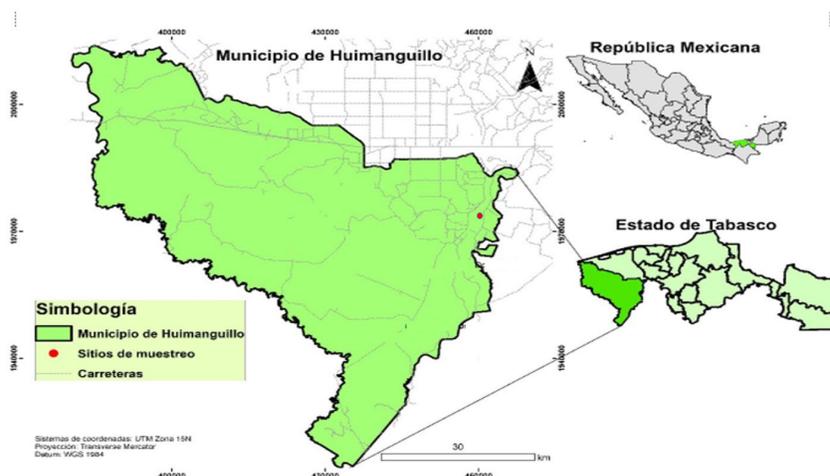
Las condiciones climatológicas favorecen el ataque de estos insectos para el estado de Tabasco, México, la época más benéfica para la presencia de los trips es el periodo de secas que coincide en los meses de marzo, abril y mayo, con altas temperaturas y baja humedad relativa, cuando la planta está en las primeras etapas de desarrollo debido a las siembras que se realizan en el periodo de invierno (diciembre-enero) (Sánchez et al. 1998) que pueden reducir el rendimiento hasta en un 15 por ciento.

Considerando que en el banco de germoplasma de yuca del Campo Experimental Cotaxtla y Huimanguillo se tienen accesiones colectadas en el trópico húmedo de México, es factible que entre toda esa diversidad genética existan genotipos con alto potencial de rendimiento para la producción de raíces frescas y que sean tolerantes a plagas de importancia económica, como lo son los trips. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la severidad de daño causado de *F. williamsi* en tres variedades de Yuca (Sabanera, Criolla y Esmeralda) en el INIFAP Campo experimental Huimanguillo, Tabasco, México.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a en el municipio de Huimanguillo, durante los meses de marzo a mayo de 2017, específicamente en el banco de Germoplasma de yuca del Campo Experimental Huimanguillo, el cual se encuentra ubicado en las coordenadas geográficas 17°51'3.62» LN y -93°23'46.02»O LO (Figura 1).

Figura 1. Ubicación de zona de estudio en el Municipio de Huimanguillo.



En la zona predomina un clima cálido Húmedo (Af), con altitud promedio de 40 msnm, una precipitación anual de 2,290.3 mm (INAFED, 2010). El cultivo de yuca fue establecido en el mes de enero. Se seleccionaron tres variedades del banco de germoplasma tomando como referencia su uso en la región y potencial productivo, las cuales fueron Criolla, Sabanera y Esmeralda. Cada parcela cuenta con 24 plantas por variedad. Durante el periodo de muestreo no se realizó ninguna aplicación de plaguicidas.

Se realizaron muestreos semanales completamente al azar durante los meses de marzo a mayo de 2017, donde se colectaron cuatro hojas por cada planta (tres repeticiones de cada variedad), y se revisaron específicamente en el envés que es donde se aloja el insecto.

La severidad es el porcentaje de tejido visiblemente dañado o afectado de una planta con relación al total evaluado.

Para determinar el grado de severidad del daño del trips se utilizó la escala de severidad, propuesta por Jiménez-Martínez (2006). Para obtener el grado porcentual de la severidad se utilizó la fórmula general planteada por Vanderplank (1963).

$$S (\%) = \frac{\sum i}{N} \times 100 \quad N (VM)$$

Donde:

S = Porcentaje de severidad (daño de trips)

$\sum i$ = Sumatoria de valores observados. N = Número de plantas muestreadas.

VM = Valor máximo de la escala.

Escala o grado de severidad del daño del trips.

- 0 No hay presencia de síntomas.
- 1 Débil corrugado en la lámina foliar de las hojas nuevas y brotes nuevos.
- 2 Coloración amarilla y opaca en la lámina foliar de las hojas nuevas.
- 3 Necrosis en las hojas afectadas.
- 4 Retraso en el desarrollo de la planta, caída de hojas

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados de los muestreos indican una diferencia muy marcada entre las variedades. Para el caso de la variedad Criolla se obtuvo un 92% de severidad, para la variedad Sabanera un 67% y en la Esmeralda 0%. La variedad criolla es una de las más usadas en la zona de la sabana de Huimanguillo, con rendimientos aceptables que oscilan las 21 toneladas por hectárea. Para el caso de las otras variedades la producción es mayor, siendo la variedad esmeralda la de mayor producción.

La variedad esmeralda, presentó un 0% en la escala de severidad; lo que puede ser atribuido a una mayor cantidad de pubescencia en la hoja (Figura 2).

Figura 2. Variedades Evaluadas. Criolla, Sabanera y Esmeralda.



Catalayud y Munera (2000), mencionan que la pilosidad de la hoja contribuye como método físico de defensa hacia los trips, impidiendo que estos se establezcan y puedan alimentarse.

Para el caso de las variedades criolla y sabanera. La presencia de trips fue mayor, debido a un menor número de vellosidades. Permitiendo que los insectos puedan alimentarse de la planta (Figura 3). La variedad esmeralda es una de las que han presentado mayor rendimiento de raíz fresca.

Figura 3. Larva de trips alimentándose de la Hoja.



Los ataques de trips son marcados específicamente durante las épocas con menores precipitaciones, es decir, secas. Ya que son directamente afectados por las gotas de agua, propiciando un lavado de los insectos Gamundi et al. 1997.

4 CONCLUSIONES

De las variedades evaluadas, se concluye que la variedad criolla es la más susceptible a ataque de trips, y la variedad esmeralda, es tolerante a estos ataques. Lo anterior se expresa como una diferencia en los costos de producción del cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Bellotti, A. C. (1983). Yuca: Control Integrado de plagas de la yuca, In: Programa de yuca. In: “Reyes J.A. (Compilador), Referencia de los cursos de Capacitación sobre control Integrado de plagas de la yuca dictados por el Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), PNUD. p. 248-264.

Bellotti, A. C., Arias, B., Vargas, O., Reyes, J. y Guerrero, J. (2002). Insectos y ácaros dañinos a la yuca y su control In: La yuca en el tercer milenio. Sistemas modernos de producción, procesamiento, utilización y comercialización. Compilado por B. Ospina y H. Ceballos. Centro Internacional de Agricultura Tropical Cali Colombia 586 p. <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/55244/capitulo10.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Consultado 14/sep/2023).

Catalayud, Paul-A, Munera D-F. (2000). Defensas naturales de la yuca a las plagas de Artrópodos. En: simposio Avances en el manejo de plagas. *Memorias XXVIII congreso SOCOLEN*. Medellín, Colombia. 265-271.

FAOSTAT. (2014). Production. Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. Base de datos de cultivos agrícolas. Roma, Italia. (Consultado en noviembre de 2016).

FAO. (2013). Food and Agriculture Organization of the United Nations. Save and Grow: Cassava, A guide to sustainable production intensification, Rome, Pag. 129. <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/55244/capitulo10.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (Consultado en noviembre de 2016).

Gamundi, J. C., Molinari, A.M. y Lorenzatti, S. (1997). Presencia de trips en cultivos de maíz y sorgo. En: Para mejorar la producción: Maíz campaña 1996/97, EEA Oliveros INTA, N° 6, 2 p.

INAFED. (2010). Enciclopedia de los municipios de México. Instituto Nacional para el Federalismo y desarrollo municipal del gobierno de Tabasco. Secretaria de Gobierno. Mexico. En: <https://www.gob.mx/inafed/acciones-y-programas/guia-consultiva-de-desempeno-municipal-198105>

Jiménez-Martínez, E. (2006). Guía de manejo integrado de mosca blanca y virus en Nicaragua. Ph.d. Entomología- docente. Investigador UNA, coordinador proyecto UNA-CIAT-mosca blanca. Nicaragua 30 p.

OECD/FAO. (2021). "Otros productos", in *OCDEFAO Perspectivas Agrícolas 20212030*, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/241a5a08-es>. (Consultado 14 septiembre 2023).

Pérez, I., Blanco, E. y Rodríguez, Á. M. (2004). Especies del género *frankliniella karny* en cuba. Resultados de la encuesta de detección de especies peligrosas de trips en el período 1998-2000. *Fitosanidad*, 8 (3) 19-23.

Ponce, T. y Oña, X. (2009). Perfil de yuca. Centro de información e inteligencia comercial- CICO de CORPEI. En: <http://www.pucesi.edu.ec/pdf/yuca.pdf> (consultado el 20 de junio de 2016).

Rivera, H. B., Aceves, N., L. A., Juárez, L. J. F., Palma, L. J. D., González, M. R., González, J. V. (2012). Zonificación agroecológica y estimación del rendimiento potencial del cultivo de la yuca (*Manihot esculenta* Crantz) en el estado de Tabasco, México. *Avances agropecuarios*. ISSN 0188789-0. 16 (1) 29-47.

Rodríguez-Romero, A, Posos, P. P., Yoannia, C. D. y Suris, C. M. (2011). Especies de los géneros *thrips* y *frankliniella* (thysanoptera: thripidae) asociadas a cultivos en la provincia de guantánamo. *Revista de Protección Vegetal*, 26 (3), 144-148. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S101027522011000300002&Ing=es&tIng=es. Consultado (30 de junio de 2017).

Sánchez E. D., Acosta, E. J., Rodríguez, C. M., Olivera. D. S. A. (1999). Manual para producir follaje de yuca *Manihot esculenta* Crantz, en Tabasco. INIFAP. CIRGOC. Campo Experimental Huimanguillo. Libro Técnico Núm. 3 Tabasco, México. 95p.

SIAP. (2014). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera en: <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php> (consultado el 18 de junio de 2016).

Valdez, J. y Hernández, R. (2014). Guía técnica para la producción de yuca. Instituto Dominicano de Investigaciones Agropecuarias y Forestales (Idiaf). Santo Domingo, DO. 64 p.

Vander Plank, J.E. (1963) Plant Disease Epidemics and Control. Academic Press, Cambridge, MA, 349 p.

CAPÍTULO 6

DISEÑO BOX-BEHNKEN USANDO EL CRITERIO DE DESEABILIDAD PARA LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS POR *Aspergillus niger* ITV 02 A PARTIR DE BAGAZO DE CAÑA DE AZÚCAR DESLIGNIFICADO

Data de submissão: 01/10/2023

Data de aceite: 18/10/2023

Maria Guadalupe Aguilar-Uscanga¹

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Veracruz-UNIDA
Av. M. A. de Quevedo Núm. 2779
C.P. 91860
Veracruz, Veracruz, México
<https://orcid.org/0000-0002-3875-7928>

Marin I. Infanzón-Rodríguez

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Veracruz
Departamento de Química
Bioquímica-UNIDA
Av. Miguel A. de Quevedo Núm. 2779
C.P. 91860
Veracruz, Veracruz, México
<https://orcid.org/0000-0002-2301-9105>

Daniel A. Zavala-Ortiz

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Veracruz
Departamento de Química
Bioquímica-UNIDA
Av. Miguel A. de Quevedo Núm. 2779
C.P. 91860
Veracruz, Veracruz, México
<https://orcid.org/0000-0002-9572-4807>

Javier Gómez-Rodríguez

Tecnológico Nacional de México
Instituto Tecnológico de Veracruz
Departamento de Química
Bioquímica-UNIDA
Av. Miguel A. de Quevedo Núm. 2779
C.P. 91860
Veracruz, Veracruz, México
<https://orcid.org/0000-0002-7411-3003>

RESUMEN: El diseño Box-Behnken es una herramienta efectiva en la optimización de una sola variable de respuesta, sin embargo cuando se tienen dos o más variables de respuesta es necesario recurrir a la optimización multi-respuesta usando la función de deseabilidad con la finalidad de encontrar los parámetros óptimos para satisfacer simultáneamente cada respuesta en el diseño. En este trabajo la producción de celulasas: exoglucanasas (FPasa), endoglucanasas (CMCasa) y B-glucosidasas (BGL) en *Aspergillus niger* ITV 02 utilizando como residuo lignocelulósico el bagazo de caña de azúcar deslignificado (BCd) fue optimizado usando un diseño Box-Behnken, donde las variables independientes fueron concentración de BCd, concentración de Tween 80 y pH. La optimización multi-respuestas fue aplicado para maximizar las tres respuestas (FPasa, CMCasa y BGL) simultáneamente y encontrar un valor óptimo entre la optimización simple y la multi-respuestas aplicando el criterio

¹ Autor de correspondencia Tel. +52 229 9345701 ext. 211. maria.au@veracruz.tecnm.mx

de deseabilidad. Los parámetros óptimos fueron 20.69 g/L de BCd, 0.24 % v/v de Tween 80 y 5.67 de pH, obteniendo una actividad FPasa 0.42 U/mL, CMCasa 0.35 U/mL y BGL 10.23 U/mL. La actividad FPasa, CMCasa y BGL después de la optimización incrementaron 47.62 %, 9.32 % y 47.4 %, respectivamente con respecto a la actividad antes de optimizar. La optimización multi-respuesta usando la función de deseabilidad permitió obtener un extracto enzimático rico en actividad exoglucanasa, endoglucanasa y B-glucosidasa usando BCd y *A. niger* ITV 02, el cual logró hidrolizar celulosa de bagazo de caña de azúcar pretratado eficientemente, logrando obtener 48 g/L de glucosa, y un rendimiento de etanol de 0.46 g/g, una productividad de 1.6 g/Lh y una eficiencia de 90.77 %, valores muy prometedores para la producción de bioetanol de segunda generación (2G).

PALABRAS CLAVE: Celulasas. Optimización. Bioetanol. Box-Behnken.

BOX-BEHNKEN DESIGN AND THE DESIRABILITY FUNCTION APPLICATION IN CELLULASE PRODUCTION BY *ASPERGILLUS NIGER* ITV02 USING A DELIGNIFIED SUGARCANE BAGASSE

ABSTRACT: The Box-Behnken design is an effective tool in the optimization of a single response variable, however when there are two or more response variables it is necessary to resort to multi-response optimization using the desirability function in order to find the optimal parameters to simultaneously satisfy each response in the design. In this work, cellulases production: exoglucanases (FPase), endoglucanases (CMCase) and B-glucosidases (BGL) by *Aspergillus niger* ITV 02 using delignified sugarcane bagasse (BCd) as lignocellulosic residue was optimized using a Box-Behnken design. The independent variables were BCd concentration, Tween 80 concentration and pH. Multi-response optimization was applied to maximize the three responses (FPase, CMCase and BGL) simultaneously and find an optimal value between simple and multi-response optimization by applying the desirability criterion. The optimal parameters obtained were BCd: 20.69 g/L, Tween 80: 0.24% (v/v) and pH:5.67, obtaining an FPase activity of 0.42 U/mL, CMCase 0.35 U/mL and BGL 10.23 U/mL, respectively. FPase, CMCase, and BGL activity after optimization increased 47.62%, 9.32%, and 47.4%, respectively, relative to the activity before optimization. The multi-response optimization using the desirability function allowed us to obtain an enzymatic extract rich in exoglucanase, endoglucanase and B-glucosidase activity using BCd and *A. niger* ITV 02, which managed to hydrolyze cellulose from pretreated sugarcane bagasse efficiently, achieving 48 g/L of glucose, and an ethanol yield of 0.46 g/g, a productivity of 1.6 g/Lh and an efficiency of 90.77%, very promising values for second generation (2G) bioethanol production.

KEYWORDS: Optimización. Celulasas. Bioetanol. Box-Behnken.

1 INTRODUCCIÓN

La creciente preocupación por la seguridad de los suministros de petróleo y el impacto negativo de los combustibles fósiles en el medio ambiente, en particular las emisiones de gases de efecto invernadero, ha impulsado a la sociedad para encontrar alternativas de energía para reemplazar los combustibles fósiles. El bioetanol de segunda generación (2G) obtenido a partir de biomasa lignocelulósica es una de las alternativas más atractivas para desarrollarse como combustible. Entre las diferentes estrategias para la conversión de residuos lignocelulósicos a azúcares fermentables, la etapa de hidrólisis enzimática de la celulosa y hemicelulosa tiene un gran potencial para mejorar la viabilidad económica del proceso de producción de bioetanol.

Uno de los principales retos claves en la producción de bioetanol 2G es la conversión de la celulosa principal componente presente en los lignocelulósicos a azúcares fermentables, el costo de las enzimas celulasas para la hidrólisis de la celulosa se considera que es aproximadamente el 40% del costo total de la producción de bioetanol 2G y la eficiencia de la hidrólisis (Deshavath et al., 2018; Ferreira et al, 2010). La conversión enzimática de celulosa en azúcares reductores es un proceso que requiere la acción de tres tipos de enzimas que actúan de forma sinérgica. Endoglucanasas (E.C. 3.2.1.4), atacan aleatoriamente las cadenas de celulosa exponiendo extremos reductores y no reductores de la celulosa. Las celobiohidrolasas (E.C. 3.2.1.91) actúan en los extremos reductores y no reductores, liberando unidades de celobiosa, las cuales por acción de las enzimas celobiasa/ β -glucosidasa (E.C.3.2.1.21) son convertidos a glucosa (Lynd et al., 2002).

A gran escala la aplicación de celulasas en procesos de hidrólisis de residuos lignocelulósicos demanda microorganismos que favorezcan la actividad y productividad, así como celulasas más resistentes a inhibición por producto (Jiang et al., 2011). Las enzimas para la hidrólisis de los polisacáridos presentes en los residuos lignocelulósicos se han producido principalmente por hongos que pertenecen al género *Trichoderma*. Hongos como *T. reesei* and *T. viride* producen una gran cantidad de enzimas endoglucanasas y celobiohidrolasas, sin embargo, producen poca cantidad de β -glucosidasa, lo cual lleva a una acumulación de celobiosa y por lo tanto a una hidrólisis incompleta cuando los extractos enzimáticos de celulasas producidos por estos hongos son empleados en el proceso de hidrólisis (Jiang et al., 2011, Gottschalk et al., 2010, Adsul et al., 2007). Otro importante hongo productor de celulasas es *Aspergillus*, el cual produce la enzima β -glucosidasa y es usado frecuentemente para complementar cocteles enzimáticos comerciales (Chauve et al., 2010; Lynd et al., 2002). Además, A.

niger es muy apreciado en la industria por su capacidad de fermentación, elevados niveles de proteínas secretadas, y la variedad de enzimas producidas para diversas aplicaciones, incluyendo una combinación de enzimas para hidrolizar los polisacáridos presentes en la pared celular de las plantas (Bhat et al., 2000). Muchas preparaciones comerciales de celulasas son producidas por *T. reesei*: Celluclast 1.5 L (Novozymes A/S), la cual es suplementada con actividad β -glucosidasa de otras fuentes (*A. niger*), Novozym 188 (Novozymes A/S), para mejorar la hidrólisis de celulosa (Sorensen et al., 2011). La producción de estas enzimas está regulada, e inducida en presencia de polímeros (Amore et al., 2013). Cada polisacárido representa una señal específica en el hongo y como consecuencia induce una respuesta específica, cuando el hongo está en contacto con sustratos poliméricos y complejos secreta enzimas hidrolíticas para degradar estos sustratos y usarlos para su crecimiento y mantenimiento (Debeire et al., 2014). Mrudula y Murugammal (2011), reportaron que la producción de celulasas por *A. niger* en fermentación sumergida usando 30 g/L de residuos de coco como sustrato, suplementando el medio con nutrientes y sales, alcanza una actividad endoglucanasa (CMCasa) de 0.8 U/mL y exoglucanasa (FPasa) de 0.51 U/mL, a una temperatura óptima de 30°C y pH 6 a las 96 horas de la fermentación sumergida.

El presente trabajo tiene como objetivo optimizar bajo un criterio de multicomponentes la producción de celulasas por *A. niger* ITV02, cepa autóctona aislada de residuos lignocelulósicos, la cual no ha sido modificada genéticamente, y expresa actividad celulasa al utilizar una fuente de carbono compleja (bagazo de caña de azúcar deslignificado). Los parámetros de optimización a considerar fueron: la adición de fuentes de nitrógeno (urea, sulfato de amonio y extracto de levadura), las condiciones de pH, la concentración de sustrato y Tween 80. El objetivo de esta optimización es lograr un extracto enzimático rico en glucosa que pueda ser usado como sustrato en la producción de bioetanol 2G.

2 METODOLOGÍA

2.1 CONSERVACIÓN Y PRODUCCIÓN DE ENZIMAS CELULASAS POR *A. niger* ITV-22

A. niger ITV02 fue almacenado a 4°C en un medio que contenía 10 g/L extracto de levadura, 20 g/L peptona de caseína, 20 g/L glucosa y 25 g/L agar. Un pre-inoculo (6×10^6 esporas / mL) fue adicionado a un medio de cultivo que contenía bagazo de caña de azúcar deslignificado (BCd), 0.3 g/L KH_2PO_4 , 0.3 g/L CaCl_2 , 0.3 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 g/L peptona, 0.9 g/L urea, 1.5 g/L extracto de levadura, 2.4 g/L Sulfato de amonio, 5 mg/L

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1.6 mg/L $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1.4 mg/L $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ y 2 mg/L CoCl_2 , 0.24 % v/v Tween 80, el medio de cultivo fue ajustado a pH 5.67 y esterilizado por 20 minutos a 121 °C. Las fermentaciones fueron llevadas a cabo a 31°C, 100 rpm por 168 h. Las muestras de las fermentaciones fueron centrifugadas por 20 minutos a 4500 xg, el sobrenadante fue coleccionado y cuantificado la actividad celulasas.

2.2 CARACTERIZACIÓN DE LOS RESIDUOS LIGNOCELULÓSICOS POR LA METODOLOGÍA NREL

El bagazo de caña fue pretratado por una hidrólisis alcalina con H_2O_2 (6% v/v) en una relación líquido: sólido de 12:1 w/v, pH 11.5 con 10 M NaOH, por 37 h (Infanzón et al., 2023) obteniendo bagazo de caña deslignificado (BSd). La composición del residuo lignocelulósico, celulosa, hemicelulosa y lignina fueron determinadas usando la metodología del National Renewable Energy Laboratory (NREL) (Sluiter et al., 2008).

2.3 ELECTROFORESIS DE LAS ENZIMAS CELULASAS

Para determinar la presencia de enzimas celulasas se realizó la electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE), tal como lo describe Laemmli (1970). El gel de separación se realizó al 10% y al 12%, los pesos moleculares que se pueden separar en geles de poliacrilamida a diferentes concentraciones. El gel concentrador se preparó al 4%.

2.4 OPTIMIZACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO PARA LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS

Mediante un diseño Box-Behnken se optimizó la producción de celulasas con tres variables y tres niveles, medio (0), alto (+1) y bajo (-1); bagazo de caña deslignificado (10, 20 y 30 g/L), tween 80 (0.1, 0.35 y 0.6) y pH (4, 5 y 6) el cual fue diseñado con 12 combinaciones diferentes y tres puntos centrales, para tres respuestas actividad FPase, BGL y CMCCase. Los experimentos fueron realizados en triplicados. Posteriormente mediante la función de deseabilidad se optimizó simultáneamente la actividad FPase, CMCCase y BGL, con la finalidad de encontrar el conjunto de condiciones que son óptimas para todas las respuestas.

2.5 DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA β - GLUCOSIDASA, ENDOGLUCANASA Y EXOGLUCANASA

La actividad β -glucosidasa es medida usando como sustrato p-Nitrofenil- β -glucopiranosido (β -pNPG) (10 mM pNPG) en amortiguador de acetato de sodio 0.05 M pH 5), a 50°C, durante 30 minutos. La reacción consiste en poner el sustrato β -pNPG en amortiguador de acetato de sodio (pH 5) con la enzima, incubar a la temperatura de 50°C por 30 minutos. Después del periodo de incubación, la reacción es detenida al agregar 0.2 M de Na_2CO_3 en una relación 1:2 Mezcla de la reacción y Na_2CO_3 . La cantidad de para-nitrofenol (pNP) producido es medido a 400 nm (Singhanía et al., 2011). De acuerdo con la unión internacional de bioquímica, una unidad de enzima (U) es definida como la cantidad de enzima que se requiere para producir un μmol de pNP por minuto bajo las condiciones evaluadas en el ensayo. Las unidades de actividad β -glucosidasa son calculadas con la ecuación (1):

$$(U/mL) = \left(\frac{Abs\ final - c}{m} \right) \left(\frac{df}{V} \right) \left(\frac{1}{t} \right) \left(\frac{1000\ \mu g}{1\ mg} \right) \left(\frac{1\ \mu mol}{139.1\ \mu g} \right) \quad (\text{Eq.1})$$

Dónde:

m = pendiente de la curva estándar

abs = absorbancia

c = intercepto

df = factor de dilución

V = volumen de la muestra en (mL)

t = tiempo de reacción (minutos)

La actividad endoglucanasa fue cuantificada por el método descrito por Mandels et al. (1969). La mezcla de reacción consiste en 0.5 mL de 1% CMC en un amortiguador de acetato de sodio (pH 5) y 0.5 mL del extracto enzimático, que se incuba a una temperatura de 50°C por 30 minutos. Por el método de Miller et al. (1959) se cuantificaron los azúcares reductores usando ácido 3,5 dinitrosalicílico (DNS) midiendo absorbancia a 540 nm. Una unidad de actividad endoglucanasa se define como la cantidad de enzima capaz de liberar 1 μmol de glucosa por minuto a pH (5.5 para *A. niger* ITV02) y temperatura (50°C) establecidas en el ensayo. Las unidades de actividad endoglucanasa fueron calculados con la ecuación (2):

$$U/mL = \left(\frac{Abs\ final - c}{m} \right) \left(\frac{df}{V} \right) \left(\frac{1}{t} \right) \left(\frac{1000\ \mu g}{1\ mg} \right) \quad (\text{Eq. 2})$$

Dónde:

m = pendiente de la curva estándar

abs = absorbancia

c = intercepto

df = factor de dilución

V = volumen de la muestra (mL)

t = tiempo de reacción (minutos)

Actividad en papel filtro (FPasa) fue cuantificado de acuerdo a Ghose (Ghose, T.K. 1987). Los azúcares reductores fueron cuantificados por el método DNS (Miller, G.L. 1959). Una unidad de FPasa fue definido como la cantidad de enzima requerida para liberar 1 μmol glucosa por min bajo las condiciones evaluadas (Prajapati et al., 2020). Las unidades de papel filtro fueron calculados con la ecuación (3):

$$U/mL = \left(\frac{Abs\ final - c}{m} \right) \left(\frac{df}{V} \right) \left(\frac{1}{t} \right) \left(\frac{1000\ \mu g}{1\ mg} \right) \left(\frac{1\ \mu mol}{180.16\ \mu g} \right) \quad (\text{Eq.3})$$

Donde:

m = pendiente de la curva estándar;

abs = absorbancia;

c = intercepto

df = factor de dilución;

V = volumen (mL);

t = tiempo de reacción (minutos)

2.6 FERMENTACIÓN DEL HIDROLIZADO ENZIMÁTICO EN LA PRODUCCIÓN DE BIOETANOL 2G

La levadura *S. cerevisiae* ITV 01 fue usada para la fermentación del hidrolizado enzimático. La levadura fue activada en un medio de cultivo que contenía 30 g/L glucosa, 1 g/L de extracto de levadura, 2 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 5 g/L of KH_2PO_4 y 0.4 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Un tamaño de inóculo de 3×10^6 células/mL fue inoculado con un medio que contenía 50% de medio sintético y 50% de medio hidrolizado enzimático, incubado por 12 h, 30°C a 250 rpm, como una etapa de adaptación, posteriormente, este fue vertido como inóculo con un tamaño de inóculo de 6×10^6 células/mL de *S. cerevisiae* ITV 01 en un medio de cultivo que contenía el 100% de hidrolizado enzimático a una concentración de glucosa de 48 g/L para la etapa de producción de etanol. Todas las fermentaciones se llevaron a cabo por duplicado a 30°C y 150 rpm, durante 24 horas. Los parámetros obtenidos fueron: productividad (Q_p), rendimiento de etanol ($Y_{p/s}$) y la eficiencia (% ϵ) calculados a partir de las siguientes ecuaciones:

$$(Q_p) = [P]_{\max} / t_{\text{ferm}} \quad (\text{Eq.4})$$

$$(Y_{p/s}) = [P_f - P_o] / [S_o - S_f] \quad (\text{Eq.5})$$

$$(\% \epsilon) = Y_{p/s\ \text{obt}} / Y_{p/s\ \text{teor}} \quad (\text{Eq.6})$$

Donde;

$[P]_{\max}$ = la concentración máxima de etanol obtenida (g/L)

t_{ferm} = El tiempo donde se obtuvo la máxima concentración de etanol (h)

P_f = Concentración final de etanol (g/L)

P_o = Concentración inicial de etanol (g/L)

S_f = Concentración final de sustrato (g/L)

S_o = Concentración inicial de sustrato (g/L)

$Y_{p/s \text{ obt}}$ = Rendimiento obtenido en el proceso (g/g)

$Y_{p/s \text{ teor}}$ = Rendimiento teórico de la producción etanol = 0.51 (g/g)

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERIZACIÓN DEL BAGAZO DE CAÑA

El bagazo de caña deslignificado fue usado como fuente de carbono en la producción de celulasas por *A. niger* ITV 02 y caracterizado por NREL, cuya composición fue celulosa, hemicelulosa y lignina (Tabla 1).

Tabla 1. Composición de los residuos lignocelulósicos.

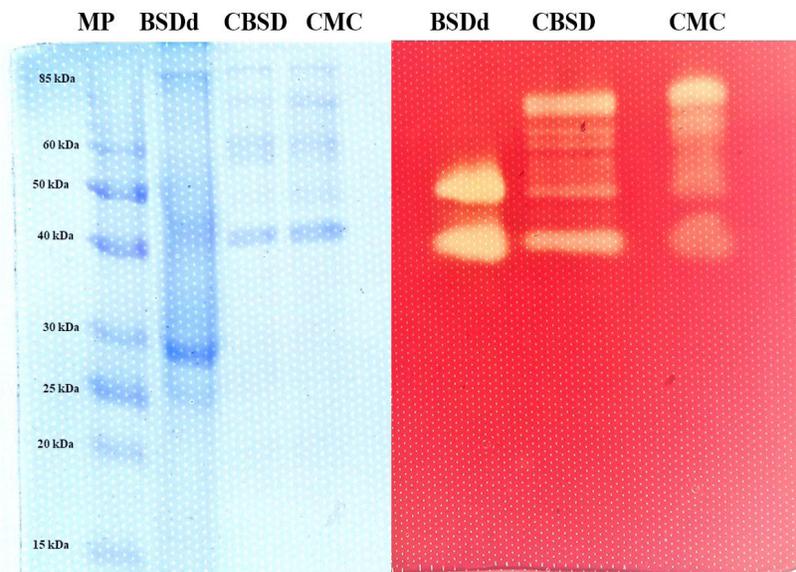
Residuos lignocelulósicos	Celulosa (%)	Hemicelulosa (%)	Lignina (%)
Bagazo de caña crudo	33.4	24.2	27.9
Bagazo de caña con tratamiento alcalino	54.0	27.9	18.2

Como podemos observar después del pretratamiento alcalino la cantidad de lignina disminuye, lo cual es un factor importante para facilitar la acción de las enzimas a la matriz celulosa-hemicelulosa-lignina. Por otro lado, la concentración de celulosa y hemicelulosa aumenta, lo que conlleva a una mejor composición de la matriz rica en estos componentes, los cuales son la clave para la inducción de las celulasas.

3.2 IDENTIFICACIÓN POR SDS-PAGE DE CELULASAS EN LOS EXTRACTOS OBTENIDOS POR *A. niger* ITV 02 EN DIFERENTES FUENTES DE CARBONO

En la Figura 1 se muestra el zimograma de los extractos crudos obtenidos de la fermentación sumergida de *A. niger* ITV 02 usando distintas fuentes de carbono: bagazo de sorgo dulce deslignificado (BSDd), celulosa de bagazo de sorgo dulce (CBSD) y carboximetilcelulosa (CMC).

Figura 1. Gel SDS-PAGE (10%) y zimograma con CMC (0.2 % p/v) expresadas por *A. niger* ITV 02 durante la fermentación sumergida usando BSDd, CBSD y CMC.



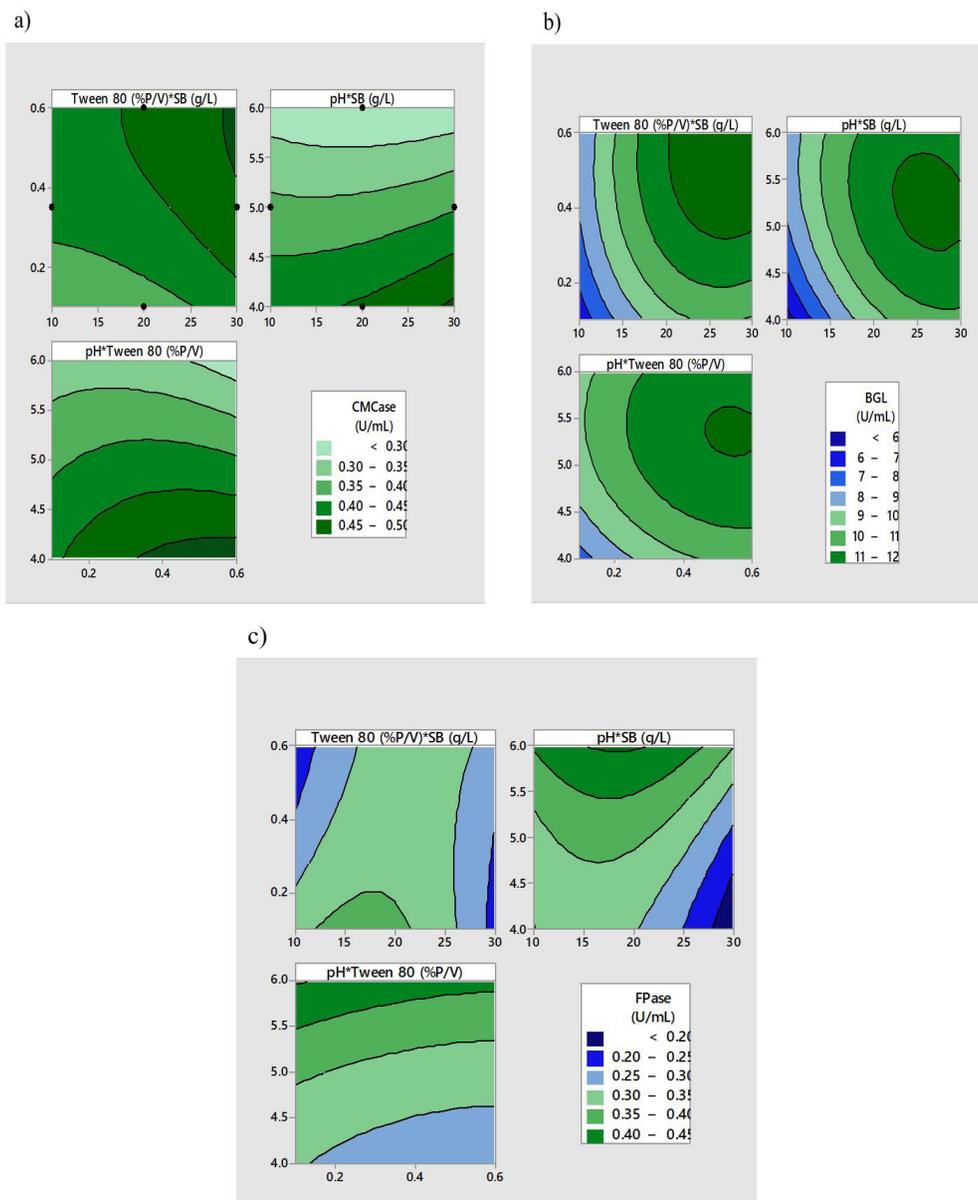
Se pueden observar que en los tres sustratos se expresan proteínas con actividad celulasas, sin embargo, las bandas observadas en cada caso son distintas. En el caso del BSDd se observa dos bandas de 50 kDa y 40 kDa más pronunciadas, en comparación con la CBSD y CMC, estas dos bandas muestran un perfil similar. Sin embargo, el sustrato que mostró una mayor actividad endoglucanasa fue el BSDd, seguido de CBSD y CMC. El peso molecular de las enzimas celulasas varía dependiendo del microorganismo productor. Tao et al. (2010) reportaron una endoglucanasa con peso molecular de 31 kDa producida por *A. glaucus* XC9, usando como fuente de carbono bagazo de caña, 30°C, 180 rpm. Por otro lado, Naika et al. (2007) aisló una endoglucanasa de peso molecular de 45 kDa de *A. aculeatus*. Con respecto a las otras bandas observadas en el gel de peso molecular de 55-85, se pueden tratar de enzimas β -glucosidasa y algunas endoglucanasas, que mostraron actividad en el zimograma de CMC con pesos moleculares mayores a 50 kDa.

3.3 OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE CELULASAS EN *A. niger* ITV 02

La composición del medio de cultivo es uno de los parámetros más importantes que tiene efecto en el crecimiento y producción de enzimas en microorganismos; el efecto combinado de la composición y concentración de sustrato, la fuente de nitrógeno, concentración de Tween 80 y el pH sobre la producción de celulasas por *Aspergillus niger* ITV 02 ha sido estudiado. En la Figura 2 se muestra la superficie de respuesta obtenida

para la actividad FPasa, CMCasa y BGL, en función de la concentración de sustrato (10 a 30 g/L), Tween 80 (0.1 a 0.6 %p/v) y pH (4 a 6). Podemos observar que concentraciones intermedias (20 g/L) de BCD y bajas concentraciones de Tween 80 (0.1% v/v) favorecen la actividad FPasa. Mientras que la actividad BGL y CMCasa incrementa al aumentar la concentración de BCD (30 g/L) y del tween 80 (0.6% p/v).

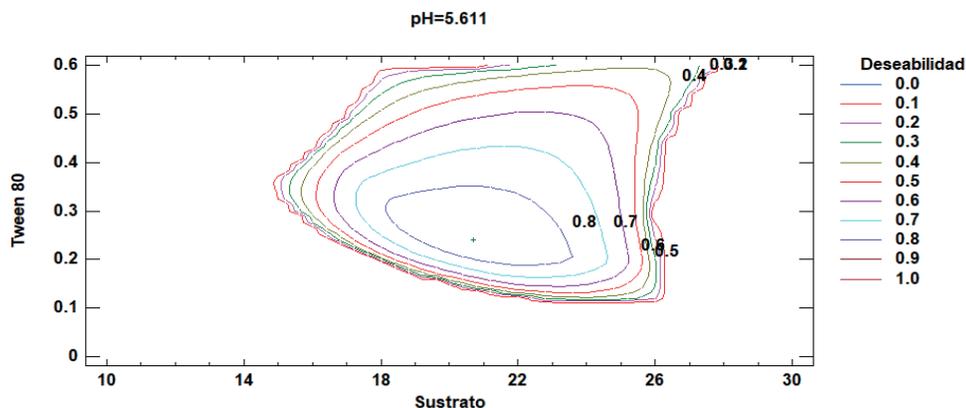
Figura 2. Efecto de la concentración de bagazo de caña, tween 80 y pH sobre la producción de endoglucanasa (a), β -Glucosidasa (b) y FPasa (c).



Estos resultados muestran que al incrementar la concentración de sustrato y la adición de tween 80 favorece la actividad celulasas. Li et al., (2019) evaluaron el efecto de la concentración de sustrato (Kraft hardwood pulp) en la producción de celulasas por *T. reesei* rut C-30 reportando que 40 g/L favoreció la actividad celulasas, sin embargo al incrementar la concentración de kraft hardwood pulp la actividad celulasa disminuyo debido a la limitación de la transferencia de masa a una mayor carga de sustrato.

Con la finalidad de favorecer la actividad celulasas sin que ninguna de estas se vea afectada se usó la herramienta estadística de la función de deseabilidad (d= 0.91) para optimizar la actividad FPasa, CMCasa y BGL (Figura 3 y Tabla 2). se muestran las condiciones óptimas de concentración de bagazo de caña deslignificado, tween 80 y el pH para la producción de celulasas.

Figura 3. Condiciones óptimas de concentración de bagazo de caña deslignificado, Tween 80 y el pH sobre la producción de celulasas, usando la función de deseabilidad.



La optimización mediante la función de deseabilidad permitió incrementar la actividad FPasa y BGL dos veces más con respecto al medio sin optimizar (Tabla 2).

Tabla 2. Optimización de producción de celulasas usando un diseño Box-Behnken y la función de deseabilidad por *A. niger* ITV O2.

Actividad	Condiciones optimas			Actividad (U/mL)		
	SB (g/L)	Tween 80 (%p/v)	pH	FPase	CMCase	BGL
No optimizada	10	0	5.3	0.2	0.33	4.85
FPase	18.31	0.11	6.0	0.41	0.302	8.55
CMCase	29.99	0.58	4.0	0.18	0.42	10.3
BGL	27.78	0.58	5.2	0.35	0.354	11.81
Con Desirabilidad	20.69	0.24	5.7	0.42	0.354	10.23

En la Tabla 3 se puede observar como la fuente de carbono, el microorganismos y condiciones de fermentación influyen en la actividad celulasas. Infanzon et al. (2020) reportaron una actividad BGL (0.41 U/mL) menor a la reportada en este trabajo, usando una concentración de 10 g/L de BSDd, cuando optimizaron las fuentes de nitrógeno (urea, sulfato de amonio y el extracto de levadura). Estos autores observaron que al incrementar la concentración del extracto de levadura, la actividad disminuyo, sin embargo favoreció el crecimiento de *A. niger* ITV 02. Por otro lado Vázquez-Montoya et al. (2020) usando *Penicillium funiculosum* usando como sustrato celulosa comercial (10 g/L) reportaron una actividad BGL de 0.401 U/mL, la concentración y la fuente de carbono tienen un efecto significativo en la expresión y producción de enzimas celulasas.

Tabla 3. Efecto de las condiciones de fermentación sumergida en la producción de enzimas celulasas.

Microorganismo	Sustrato	Condiciones de Fermentación				Actividad Enzimática (U/mL)			Referencia
		Tiempo (h)	SB (g/L)	Tween 80 (%p/v)	pH	FPase	BGL	CMCase	
<i>A. niger</i> ITV 02	BCSd	120	20.7	0.24	5.7	0.417	10.23	0.354	Este trabajo
<i>T. reesei</i> QM9414	Pea hulls	91	-	-	5.0	0.372	NR	NR	Sirohi et al. (2019)
<i>A. niger</i> ITV 02	BSDd	50	10.0	-	5.5	NR	NR	0.072	Infanzon-Rodriguez et al. (2020)
<i>P. funiculosum</i>	Avicel	168	10.0	-	4.0	0.206	0.401	0.606	Vazquez-Montoya et al. (2020),
<i>T. harzianum</i> (IOC-4038)	BC cellulignin	96	7.5			0.092	0.701	0.551	De castro et al., (2010)

3.4 PRODUCCIÓN DE BIOETANOL 2G A PARTIR DE UN HIDROLIZADO ENZIMÁTICO DE *A. niger* ITV 02

El extracto enzimático obtenido fue usado para hidrolizar el bagazo de caña de azúcar previamente tratado con ácido sulfúrico y peróxido de hidrogeno. La concentración inicial de glucosa en el hidrolizado enzimático fue de 48 g/L, el cual fue fermentado por *S. cerevisiae* ITV01, alcanzando una concentración de 22 g/L de etanol a las 14 h, un rendimiento ($Y_{p/s}$) de 0.46 g/g, una productividad de 1.6 g/Lh y una eficiencia de 90.77%. Los parámetros obtenidos demuestran que la producción de bioetanol 2G usando un hidrolizo enzimático de bagazo de caña a partir de *A. niger* ITV 02 es un proceso viable.

4 CONCLUSIONES

A niger ITV 02 es un hongo potencial para la producción de enzimas celulasas, principalmente BGL. El extracto enzimático tiene la capacidad de hidrolizar los residuos lignocelulósicos, para su aplicación en la producción de bioetanol 2G. Con la función de deseabilidad se optimizó la concentración de bagazo de caña, Tween 80 y pH con la finalidad de favorecer la actividad exoglucanasa, endoglucanasa y β -glucosidasa que actúan sinérgicamente en la hidrólisis enzimática de los residuos lignocelulósicos.

REFERENCIAS

1. Adsul, M. G., Bastawde, K. B., Varma, A. J., & Gokhale, D. V. (2007). Strain improvement of *Penicillium janthinellum* NCIM 1171 for increased cellulase production. *Bioresource Technology*, 98(7), 1467-1473.
2. Amore, A., Giacobbe, S., & Faraco, V. (2013). Regulation of cellulase and hemicellulase gene expression in fungi. *Current genomics*, 14(4), 230-249.
3. Bhat, M. K. (2000). Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology advances*, 18(5), 355-383.
4. Chauve, M., Mathis, H., Huc, D., Casanave, D., Monot, F., & Ferreira, N. L. (2010). Comparative kinetic analysis of two fungal β -glucosidases. *Biotechnology for Biofuels*, 3(1), 3.
5. de Castro, A. M., Pedro, K. C. N. R., da Cruz, J. C., Ferreira, M. C., Leite, S. G. F., Pereira, N. (2010). *Trichoderma harzianum* IOC-4038: a promising strain for the production of a cellulolytic complex with significant β -glucosidase activity from sugarcane bagasse cellulignin. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 162, 2111-2122.
6. Debeire, P., Delalande, F., Habrylo, O., Jeltsch, J. M., Van Dorselaer, A., Phalip, V. (2014). Enzymatic cocktails produced by *Fusarium graminearum* under submerged fermentation using different lignocellulosic biomasses. *FEMS Microbiology Letters*, 355(2), 116-123.
7. Deshavath, N. N., Sahoo, S. K., Panda, M. M., Mahanta, S., Goutham, D. S. N., Goud, V. V., ... & Jetty, A. (2018). The cost-effective stirred tank reactor for cellulase production from alkaline-pretreated agriculture waste biomass. In *Utilization and Management of Bioresources* (pp. 25-35). Springer, Singapore.
8. Ferreira, V., Faber, M. D. O., Mesquita, S. D. S., & Pereira Jr, N. (2010). Simultaneous saccharification and fermentation process of different cellulosic substrates using a recombinant *Saccharomyces cerevisiae* harbouring the β -glucosidase gene. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(2), 5-6.
9. Ghose, T.K., 1987. Measurement of cellulose activities. *Pure Appl. Chem.* 59(2), 257-268.
10. Gottschalk, L. M. F., Oliveira, R. A., & da Silva Bon, E. P. (2010). Cellulases, xylanases, β -glucosidase and ferulic acid esterase produced by *Trichoderma* and *Aspergillus* act synergistically in the hydrolysis of sugarcane bagasse. *Biochemical Engineering Journal*, 51(1-2), 72-78.
11. Infanzón-Rodríguez MI, del Moral S, Castro-Martínez C, Cano-Sarmiento C, Gómez-Rodríguez J, Aguilar-Uscanga MG (2023) Multi-Response Optimization Using the Desirability Function of Exoglucanases, Endoglucanases and β -Glucosidases Production by *Aspergillus niger* ITV-02 from Delignified Sugarcane Bagasse. *Sugar Tech* 25 (1): 86-98. <https://doi.org/10.1007/s12355-022-01191->

12. Infanzón-Rodríguez, M. I., Ragazzo-Sánchez, J. A., Del Moral, S., Calderón-Santoyo, M., Gutiérrez-Rivera, B., & Aguilar-Uscanga, M. G. (2020). Optimization of cellulase production by *Aspergillus niger* ITV 02 from sweet Sorghum bagasse in submerged culture using a Box–Behnken design. *Sugar Tech*, 22(2), 266-273.
13. Jiang, X., Geng, A., He, N., Li, Q. (2011). New isolate of *Trichoderma viride* strain for enhanced cellulolytic enzyme complex production. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 111(2), 121-127.
14. Li, J., Shi, S., Kang, L., Wang, W., Guan, W. (2019). Cellulase production from kraft hardwood pulp by *Trichoderma reesei* rut C-30. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 13(5), 1160-1168.
15. Lynd, L. R., Weimer, P. J., Van Zyl, W. H. Pretorius, I. S. (2002). Microbial cellulose utilization: Fundamentals and Biotechnology Microbiology. *Molecular Biology Review*, 66(3), 506-577.
16. Mandels, M. y Weber, J. 1969. The Production of cellulases. *Adv. Chem. Series* 95. 391-414.
17. Miller GL. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for the determination of reducing sugars. *Journal of Analytical Chemistry* 31: 426-428.
18. Mrudula S., Murugammal. Production of cellulose by *Aspergillus niger* under submerged and solidstate fermentation using coir waste as a substrate. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2011. 42: 1119-1127.
19. Naika, G.S., Kaul, P., Prakash, V. 2007. Purification and characterization of a new endoglucanase from *Aspergillus aculeatus*. *Journal of Agricultural and food Chemistry*. 55, 7566-7572.
20. Prajapati BP, Jana UK, Suryawanshi RK, Kango N (2020) Sugarcane bagasse saccharification using *Aspergillus tubingensis* enzymatic cocktail for 2G bio-ethanol production. *Renewable Energy* 152:653–663. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.01.063>
21. Singhania RR, Sukumaran RK, Rajasree KP, et al (2011) Properties of a major β -glucosidase-BGL1 from *Aspergillus niger* NII-08121 expressed differentially in response to carbon sources. *Process Biochemistry* 46:1521–1524. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.04.006>
22. Sirohi, R., Singh, A., Tarafdar, A., Shahi, N. C., Verma, A. K., Kushwaha, A. (2019). Cellulase production from pre-treated pea hulls using *Trichoderma reesei* under submerged fermentation. *Waste and Biomass Valorization*, 10, 2651-2659.
23. Sluiter A, Hames B, Ruiz R, Scarlata C, Sluiter J, Templeton D, Crocker DLAP (2008) Determination of structural carbohydrates and lignin in biomass. Laboratory analytical procedure. <http://www.nrel.gov/biomass/pdfs/42618.pdf>
24. Sørensen, A., Teller, P. J., Lübeck, P. S., Ahring, B. K. (2011). Onsite enzyme production during bioethanol production from biomass: screening for suitable fungal strains. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 164(7), 1058-1070.
25. Tao, Y. M., Zhu, X. Z., Huang, J. Z., Ma, S. J., Wu, X. B., Long, M. N., Chen, Q. X. 2010. Purification and properties of endoglucanase from a sugar cane bagasse hydrolyzing strain, *Aspergillus glaucus* XC9. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(10), 6126-6130.
26. Tolan J.S., Foody B. Cellulase from submerged fermentation. *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*. 1999. 65: 42-66.
27. Vázquez-Montoya, E. L., Castro-Ochoa, L. D., Maldonado-Mendoza, I. E., Luna-Suárez, S., Castro-Martínez, C. (2020). Moringa straw as cellulase production inducer and cellulolytic fungi source. *Revista Argentina de microbiología*, 52(1), 4-12.

CAPÍTULO 7

IDENTIFICACIÓN DE *MELOIDOGYNE JAVANICA* NEMATODO AGALLADOR EN BEGONIA CULTIVAR COCKTAIL

Data de submissão: 21/09/2023

Data de aceite: 12/10/2023

Kennedy Antonio Cortez Isordia

Estudiante en el Doctorado en Ciencias
Biológicas Agropecuarias
Universidad Autónoma de Nayarit
Nayarit, México

Ramón Rodríguez Blanco

Profesor e Investigador
Unidad Académica de Agricultura
Universidad Autónoma de Nayarit
Nayarit, México

José Israel Rodríguez Barrón

Profesor e Investigador
Instituto Tecnológico de Tepic
Tepic, Nayarit. México

Elia Cruz Crespo

Profesora e Investigadora
Unidad Académica de Agricultura
Universidad Autónoma de Nayarit
Nayarit, México

Fabiola Cinco García

Estudiante de Maestría en Ciencias
Biológicas Agropecuarias
Universidad Autónoma de Nayarit
Nayarit, México

Miguel Díaz Heredia

Profesor e Investigador
Unidad Académica de Agricultura
Universidad Autónoma de Nayarit
Nayarit, México

RESUMEN: Esta investigación presenta la identificación de la especie del nemátodo agallador *Meloidogyne* procedente de raíces agalladas de begonia cultivar Cocktail que crecieron en condiciones de invernadero. La tinción de las raíces con agallas se utilizó el método de Goodey, después bajo el microscopio estereoscópico las hembras de *Meloidogyne* fueron removidas de un fragmento de raíz. Las hembras de *Meloidogyne* se pusieron sobre un portaobjetos, y con una navaja de afeitar se cortaron en dos partes su cuerpo para eliminar su cutícula hasta formar un cuadro que contiene el patrón perineal, estos se limpiaron con ácido láctico al 45% durante 20 segundos y glicerina pura, los patrones perineales de *Meloidogyne* se montaron en lactofenol transparente. En el microscopio compuesto se observaron 20 patrones perineales para su identificación de especie de *Meloidogyne*, se comparó con claves morfométricas especializadas de *Meloidogyne*. Las características morfológicas que se observaron en los 20 modelos perineales, corresponden a estrías redondeadas en su parte dorsal y en su parte ventral, líneas laterales que dividen la parte

dorsal y ventral que es característica distintiva para esta especie que corresponde a *M. javanica*. Esta investigación puede considerarse como pionera en la identificación de la especie de *Meloidogyne* en begonia en México.

PALABRAS CLAVE: Nematodo del nudo de la raíz. Patrones perineales. Begonia.

IDENTIFICATION *MELOIDOGYNE JAVANICA* ROOT-KNOT NEMATODE IN BEGONIA CULTIVAR COCKTAIL

ABSTRACT: This investigation presents the identification specie of root- knot nematode *Meloidogyne*, by the perineal pattern. The root-knot were collected in the begonia plant cultivar Cocktail under greenhouse conditions. Staining nematodes in root tissues by the Goodey method, after under the stereoscopic microscope the *Meloidogyne* female were removed from root fragment. Continued the females were cut in half of their body with razor thin, thereby eliminating exposure of eggs. The perineal patters were cleaned with 45% lactic acid for 20 seconds, and a drop of pure glycerin, it was mounted on clear lactophenol. Perineal patters were cut to a square. Four perineal patters for sample in a glass microscope slide, with a total of 20 preparation, were observed in light microscope for your identification. The identification of specie *Meloidogyne* were compared with specialized *Meloidogyne* morphometric keys. The perineal model of nematode root-knot was identified as *M. javanica*. Its distinctive feature is the lateral lines o lateral ridges that divide the dorsal and ventral striae. The dorsal arch is low and rounded. This research can be considered as one of the pioneers in the identification of the *Meloidogyne* species by method perineal pattern in begonia in Mexico.

KEYWORDS: Nematode. *Meloidogyne javanica*. Begonia.

1 INTRODUCCIÓN

En México las especies de nemátodos cuarentenadas o regulados son: los nemátodos de los quistes del género *Globodera rostochiensis* y *G. pallida*, asimismo los nemátodos agalladores que constituye al menos 90 especies, de las cuales las especies *M. incognita*, *M. arenaria*, *M. javanica* y *M. hapla* son las consideradas de mayor impacto en la agricultura y están ampliamente distribuidas en todo el mundo (Ramírez, 2014). Las principales especies de *Meloidogyne* son: *M. arenaria*, *M. hapla*, *M. incognita* y *M. javanica*. En recientes revistas se considera una emergencia de especies menores de *Meloidogyne*: *M. chitwoodi*, *M. fallax*, *M. minor*, *M. enterelobii* (= *M. mayaguensis*), *M. exigua* y *M. paranaensis*. Estas especies causan problemas en la agricultura tropical, porque rompe la resistencia de las plantas que son resistentes a las principales especies de *Meloidogyne* (Elling, 2013).

Los perjuicios de los nemátodos son más severos cuando existe un buen hospedero o planta y con frecuencia se cultiva por un largo tiempo. Los deterioros por nemátodos en la agricultura son inadvertidos alrededor de todos nosotros, sin embargo,

las pérdidas de rendimiento son iguales a los daños de otros fitopatógenos, asimismo sus perjuicios son más cuantiosos cuando se asocian con otros patógenos (Mai W.F. 1985). El género *Meloidogyne*, es uno de los nematodos más estudiados en el mundo, por su importancia económica y su amplia gama de hospederos, sus daños varían desde un 5% cuando a los cultivos se les aplican nematicidas, sin embargo, el daño puede llegar hasta un 25% o más cuando no se tiene ningún control (Taylor y Sasser, 1983).

La familia Begoniaceae se encuentra ampliamente en los trópicos. Los géneros más importantes de esta familia son: *Begonia*, *Hillebrandia* y *Symbegonia*, con cerca de 1500 especies, de las cuales 1000 pertenecen al género *Begonia*. Esta familia se distingue por su importancia económica y desde el punto de vista ornamental, por su forma y color vistoso de sus hojas, asimismo por la gran afición por el cultivo y cuidado de estas plantas (Jiménez y Schaubert, 1997). Usos medicinales de la begonia, en los mercados de Asunción, Paraguay, se comercializa la planta llamada “agrial” que pertenece al género *Begonia cuculata* Will, para la faringitis y estomatitis. (Basualdo et al 2004).

Las enfermedades del cultivo de la begonia son causadas principalmente por hongos: cenicilla (*Oidium begoniae*), pudrición del tallo y la corona (*Pythium*), por bacterias: la manchas foliares y tizón bacteriano (*Xanthomonas begonias*), y nemátodos foliares (*Aphelenchoides fragarias*) en las begonias elatior Rieger (Larson, 1988). Desde el siglo pasado existen reportes del nemátodo agallador (*Meloidogyne sp.*) en la begonia. En estudio sobre la sensibilidad a *M. incognita* raza 3 en varios cultivos con sus respectivos cultivares, entre ellos la begonia, se observó que el cultivar Vodka es ligeramente susceptible, y cuatro cultivares de begonia fueron susceptibles al nemátodo agallador (Walker, Melin y Davis, 1994).

En la identificación de las especies de *Meloidogyne*, se citan 24 especies del nemátodo agallador para el clima cálido, y 12 especies de este nemátodo para las regiones frías (Taylor y Sasser, 1983). Las especies más comunes de *Meloidogyne* en climas cálidos son: *M. incognita*, *M. javanica* y *M. arenaria*, y en climas fríos la especie más común es *M. hapla*. Cuenta con una excelente descripción microfotográfica de las cuatro especies más comunes de *Meloidogyne*, que no deja duda para su identificación de este nemátodo, otras técnicas como bioquímica y citogenética que requieren de personal especializado y equipo sofisticado que no está disponibles en muchos laboratorios (Eisenback et al, 1983).

Con modelos perineales y análisis moleculares de *Meloidogyne sp.* en la planta de begonia no se obtuvo una identificación certera a nivel de especie, que puede ser una nueva especie (Solano et al, 2015). En la planta de begonia, se reportó a *M. javanica* y una especie no identificada del nematodo agallador (Doucet y Pinochet 1992). La begonia

demonstró susceptibilidad a *M. incognita* por la manifestación de agallas tanto en raíces, como en tallos y en hojas (Shepperson y Jordan, 1968). El propósito de una correcta identificación de los nemátodos es básico para un control eficiente. Los nematólogos necesitan realizar identificaciones para realizar investigaciones, enseñanza, extensión y otras actividades (Mai, 1985). Es necesario observar al menos 10 o más modelos para determinar la tendencia de la especie o especies del nemátodo agallador, antes de demostrar la especie en estudio Thorne (1961).

El objetivo de esta investigación fue identificar la(s) especie (s) de *Meloidogyne* presente(s) en el cultivo de la begonia.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

Se recolecto raíces agalladas con el nemátodo *Meloidogyne* en la planta de ornato begonia cultivar Cocktail, en condiciones de invernadero en la Unidad Académica de Agricultura de la Universidad Autónoma de Nayarit, en el año de 2017.

Las raíces agalladas fueron lavadas con agua corriente, después las raíces se colocaron en un vaso precipitado de 250 ml sobre una plancha marca IKA-C-MAG H57, por espacio de 2 minutos a una temperatura de 65° C, la tinción se realizó con la técnica de Goodey, que consiste en preparar 20 gramos de cristales de fenol, 20 cc de ácido láctico, 40 cc de glicerina, 20 cc de agua destilada y 5 cc de fucsina acida (1 gramo en 100 cc de agua) (Figura 1), esta mezcla se mantuvo hasta el punto de ebullición, seguido las raíces se lavaron con agua corriente para eliminar el agua, (Thorne, 1961, Taylor y Netscher, 1974).

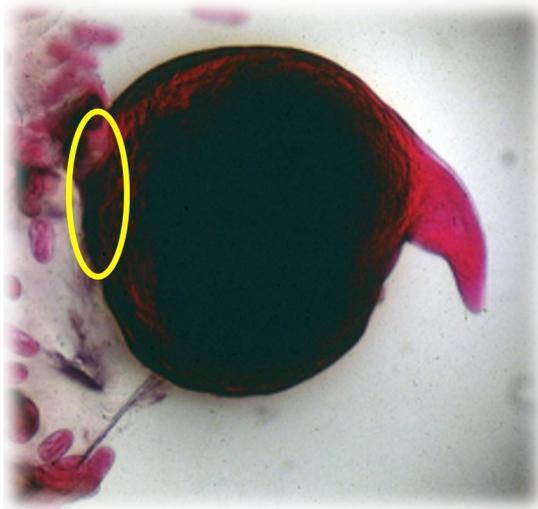
Figura 1. Raíces de begonia con tinción de acuerdo a la técnica de Goodey.



Las hembras de *Meloidogyne* se extrajeron bajo un microscopio estereoscópico Motic SMZ-11 con el objetivo de 4.5 X, con la ayuda de agujas de disección. Una vez aislado una hembra, de acuerdo a Thorne (1961), se realizó un corte con una navaja delgada de

afeitar en la parte posterior de *Meloidogyne*, a esta se hizo nuevamente un corte en la parte superior e inferior, dejando solo el modelo perineal, este se limpió de acuerdo a la técnica de Taylor y Netscher (1974) que consiste en colocar el modelo perineal sobre una gota de ácido láctico al 45% durante 20 segundos, con una astilla de bambú se eliminó el material granular del nematodo que están sobre el modelo, seguido el modelo perineal es trasferido a una gota de glicerina pura y se continua la limpieza con la astilla de bambú, hasta que el modelo se observe limpio. El corte se montó en un cubreobjetos con una gota de lactofenol claro, Thorne (1961). Aproximadamente en el circulo se encuentra el modelo perineal del nemátodo hembra de *Meloidogyne* (Figura 2).

Figura 2. Ubicación del modelo perineal en la Hembra de *Meloidogyne*.



El portaobjetos se selló con esmalte para uñas, para su posterior observación e identificación de las especies de *Meloidogyne*. En el microscopio compuesto MotiC B1 220-SP con los objetivos de 40 X y 100 X en aceite de inmersión se analizaron 20 montajes de los modelos perineales de *Meloidogyne*. La caracterización de las especies de *Meloidogyne*, se tomaron en consideración la forma del modelo perineal, presencia o ausencia de: líneas laterales, alas, hombreras, puntuaciones, que fueron comparadas con claves especializada de morfometría del género *Meloidogyne* (Eisenback et al 1983, Taylor y Sasser, 1983).

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los veinte patrones perineales de *Meloidogyne* analizados en la planta de la begonia cultivar. Cocktail, corresponden a la especie de *Meloidogyne javanica*. El número

de patrones perineales observados, se notó la clara característica de la especie de *M. javanica*, que se identifica por su arco dorsal en forma redonda a aplanada, con incisuras o líneas laterales bien visibles que divide al modelo perineal en dos regiones la dorsal y ventral, pocas o ninguna línea atraviesa las incisuras que dan una apariencia de un canal. La anterior descripción corresponde a lo citado por Eisenback et al, (1983) y Taylor y Sasser, (1983). En las figuras 3 y 4, se muestra dos modelos perineales *M. javanica*.

Figura 3. *Meloidogyne javanica* 40X.

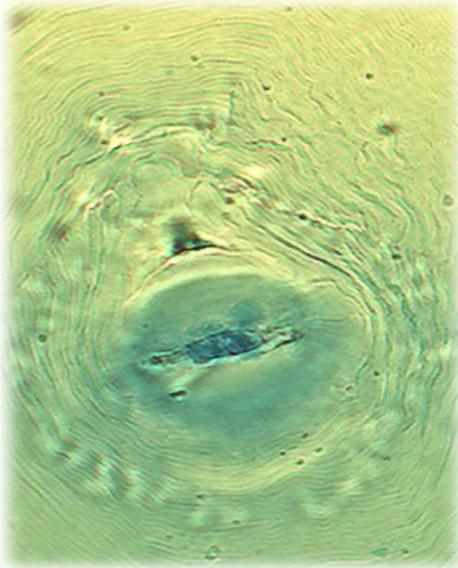
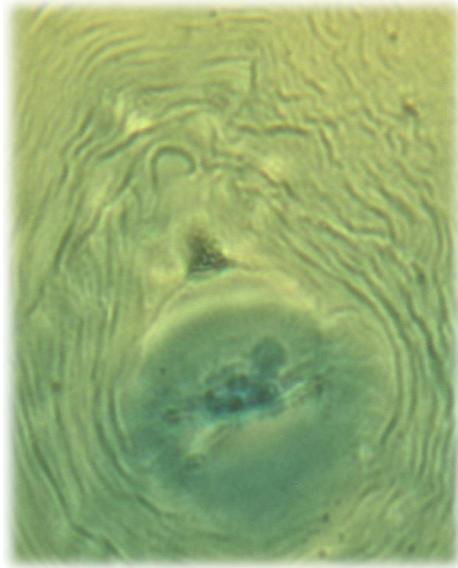


Figura 4. *M. javanica* 100X.



En la disección de las raíces de begonia, se observó un mayor número de nemátodos hembras, un menor número de larvas, y una ausencia de machos. Lo anterior coincide que es más confiable la identificación en hembras que en machos del nematodo agallador, porque hay más presencia de hembras que de machos en las raíces agalladas Sasser (1954).

La limpieza de modelos perineales es un poco ardua, puesto que, al momento de observar en el microscopio de luz, no se observa una total limpieza del modelo y por ello dificulta su identificación de la especie, sin embargo, la técnica de Taylor y Netscher, (1974) para limpiar los cortes perineales de *Meloidogyne*, es excelente, porque se obtienen modelos perineales claros y no dan origen a duda en la caracterización de las principales especies del nematodo agallador. La identificación de especies de *Meloidogyne*, por los modelos perineales es accesible a estudiantes e investigadores de las diferentes universidades del mundo, porque es una técnica accesible y con el uso de microscopía de luz y reactivos relativamente baratos. La identificación de las especies de *Meloidogyne*

se requiere de paciencia y dedicación, puesto que los modelos perineales constituyen características específicas fidedignas que los nematólogos en este género necesitan familiarizarse. La identificación de las especies de *Meloidogyne* no es tarea fácil para el observador casual (Thorne, 1961).

Existen pocas referencias en México y en el mundo sobre la identificación del nemátodo agallador en begonia. El presente trabajo coincide con la investigación por Doucet y Pinochet (1992), que identificaron a *Meloidogyne javanica* en begonia. La distribución mundial de *M. javanica* ocupa el segundo lugar de las cuatro especies más comunes con un 31% de las poblaciones estudiadas (Eisenback et al, 1983).

Las plantas de begonia cultivar Cocktail, fueron introducidas al estado de Nayarit de un invernadero del estado de México, con la finalidad de realizar un experimento en la Unidad Académica de Agricultura, cabe mencionar que la begonia es susceptible al nemátodo agallador como lo indicaron Shepperson y Jordan (1968). En este experimento se presentó un 4% de daño de una población de 300 plantas, esto indica que la begonia cultivar Cocktail es susceptible al nemátodo agallador, esto concuerda con lo indicado por Walker, Melin y Davis (1994), que sustentaron que la begonia cultivar Cocktail es ligeramente susceptible a susceptible al nemátodo agallador.

En la presente investigación se puede considerar a *Meloidogyne javanica* como una especie única en las plantas de la begonia porque no se observó ningún otro modelo perineal del nemátodo agallador. Sin embargo, hay que considerar que la diversidad de especies tiende a reducirse en comunidades bióticas estresadas, por competencia de otras comunidades y entornos físicos y ambientales (Odum y Barret, 2006).

4 CONCLUSIONES

La identificación de *Meloidogyne javanica* en begonia cultivar Cocktail, representa una aportación a la nematología de México y en el mundo por la escasa de información que existe entre *Meloidogyne javanica* y la begonia.

Esta investigación se puede considerar en México como una de las pioneras en la identificación con modelos perineales del nemátodo agallador *Meloidogyne* sp. en el cultivo de la begonia.

BIBLIOGRAFIA

BASUALDO, I.; N. SORIA; M. ORTIZ; R. DEGUEN. **Plantas medicinales comercializadas en los mercados de Asunción y la Gran Asunción**, Rojasiana, v.6 (1) p.95-114, 2004.

DOUCET, M. E.; PINOCHET, J. **Occurrence of *Meloidogyne* spp. in Argentina**, Supplement Journal of Nematology, v.24, p. 765-770, dec. 1992. Supl. 4.

EISENBACK, J.D.; HIRCHMANN, H.; SASSER, J. N.; TRIANTHAPHYLLOU, A.C. **Guía para la identificación de las cuatro especies más comunes del nemátodo agallador (*Meloidogyne species*), con una clave pictórica**, p. 48 1983.

Elling, A.A. **Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species**. Phytopathology, v.103 no 11 p.1092-1102. 2013.

JIMÉNEZ, R; SCHAUBERT, B. **Flora de Veracruz. Begoniaceae**, f. 100, p. 74, oct 1997.

LARSON, R. A. Begonias. *En: Introducción a la floricultura*,359-370, 1988.

MAI, W.F. Plant-parasitic nematodes: their threat to agriculture. *In: An advanced treatise on *Meloidogyne*. Biology and control*, v.1, p.11-17, 1985.

ODUM, E.P.; BARRET G.E. **Fundamentos de ecología**, p.598.

SHEPPERSON, R.; JORDAN, W.C. **A technique for isolating and maintaining cultures of *Meloidogyne***. Proceedings of the Helminthological Society of Washington, v. 35 n.1, p.106-108, jan, 1968.

RAMIREZ, S. A. **Especies cuarentenadas de nematodos fitoparásitos para México**. Revista Mexicana de Fitopatología v. 32 Supl., p.39-40, 2014.

SOLANO, G.S.; ESQUIVEL H.R.; MOLINA B.; MORERA B.B. **Identificación de especies de *Meloidogyne* asociadas a plantas ornamentales de altura en Costa Rica**. Agronomía Mesoamericana, v. 26 n. 2 p. 247-256, 2015.

TAYLOR, D.P.; NETSCHER C. **An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp**. Nematologica, v. 20 n 2 p. 268-269, 1974.

TAYLOR, A.L.; SASSER J.N. **Biología, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz**, p.110, 1983.

THORNE, G. Root-knot nematodes, genus *Meloidogyne* Goeldi, 1887. *In: Principles of nematology*, 1961. p.321-324.

WALKER, J.; MELIN, G. M.; DAVIS, J. **Sensitivity of bedding plants to Southern root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* raza 3**. The Journal of Nematology, v. 26 p.778-781, 1994. Supl. 4.

XANTONAS COMO AGENTES TERAPÉUTICOS PARA ENFERMEDADES INFLAMATORIAS DE LA PIEL

Data de submissão: 20/09/2023

Data de aceite: 12/10/2023

Mario E. Cancino-Díaz

Departamento de Inmunología
Escuela Nacional de
Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional
Manuel Carpio, Plutarco Elías Calles
Miguel Hidalgo, 11350
Ciudad de México, México
<https://orcid.org/0000-0003-0271-7892>

Gabriel Betanzos-Cabrera

Área Académica de
Nutrición y Medicina
Instituto de Ciencias de la Salud
Universidad Autónoma del
Estado de Hidalgo
Carretera Pachuca-Actopan
camino a Tilcuautla s/n.
Pueblo San Juan Tilcuautla, 42160
Pachuca Hidalgo, México

Juan C. Cancino-Díaz

Departamento de Microbiología
Escuela Nacional de
Ciencias Biológicas
Instituto Politécnico Nacional
Manuel Carpio, Plutarco Elías Calles
Miguel Hidalgo, 11350
Ciudad de México, México
<https://orcid.org/0000-0002-3708-7010>

RESUMEN: La inflamación y el estrés oxidativo son componentes importantes en las patologías de las enfermedades inflamatorias de la piel, entre estas la dermatitis atópica, el acné y la psoriasis que tienen como patogénesis estos dos componentes. Compuestos naturales presentes en las plantas con propiedades anti-inflamatorias y antioxidantes han sido descritas y es de gran interés para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias de la piel. Las xantonas son compuestos que están presentes en una variedad de plantas, hongos y líquenes. En el caso de las plantas, los géneros de *Calphyllum*, *Cratoxylum*, *Garcinia*, *Gentiana*, *Hypericum* y *Swertia* son las que tienen las más altas cantidades de xantonas. Actualmente, los compuestos derivados de xantonas de estas plantas tienen gran interés porque son potentes compuestos con propiedades anti-inflamatorias, antioxidantes, antimicrobianos y citotóxicas. Las xantonas tienen mecanismos de acción sobre la regulación de la expresión de citocinas pro-inflamatorias y afectan la inducción de las vías de señalización del NF- κ B y MAPK, además de inhibir el reclutamiento de células inmunes en la piel. Por otro lado, ellas tienen efecto antimicrobiano sobre *Cutibacterium acnes* y *Staphylococcus epidermidis* que son bacterias involucradas en el inicio y desarrollo del acné. Por último son reguladores de las vías de estrés oxidativo en la piel. En este capítulo se documenta sobre los avances de las xantonas en las enfermedades inflamatorias de la piel y su potencial uso como agentes terapéuticos.

PALABRAS CLAVES: Xantonas. Dermatitis atópica. Acné. Psoriasis. Piel. Inflamación.

XANTHONES AS THERAPEUTIC AGENTS FOR INFLAMMATORY DISEASES OF THE SKIN

ABSTRACT: Inflammation and oxidative stress are essential components in the pathologies of inflammatory skin diseases, among which atopic dermatitis, acne, and psoriasis have these two components as pathogenesis. Natural compounds present in plants with anti-inflammatory and antioxidant properties have been described and are of great interest for treating inflammatory skin diseases. Xanthones are compounds that are present in a variety of plants, fungi, and lichens. In the case of plants, the genera *Calphyllum*, *Cratoxylum*, *Garcinia*, *Gentiana*, *Hypericum*, and *Swertia* have high amounts of these compounds. Currently, xanthone-derived compounds from these plants are of great interest for study because they are potent compounds with anti-inflammatory, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic properties. Xanthones have mechanisms of action regulating pro-inflammatory cytokine expression and affect the induction of NF- κ B and MAPK signaling pathways; they also inhibit the recruitment of immune cells in the skin. Moreover, they have an antimicrobial effect on *Cutibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*, which are bacteria involved in the onset and development of acne. Finally, they regulate oxidative stress pathways in the skin. This chapter documents xanthones' advances in treating inflammatory skin diseases and their potential use as therapeutic agents.

KEYWORDS: Xanthones. Atopic dermatitis. Acne. Psoriasis. Skin. Inflammation.

1 INTRODUCCIÓN

En la actualidad existen varias enfermedades de la piel con propiedades inflamatorias que se desconoce con exactitud el agente causal de la enfermedad, clasificándolas como enfermedades con mecanismos múltiples para inducir la inflamación (1). Ejemplo de estas enfermedades están la dermatitis atópica, el acné y la psoriasis, y éstas tienen un componente inmunológico importante ya que en estas enfermedades hay una alteración de la expresión de citocinas y una errónea actividad de las células inmunes. El proceso inflamatorio también conlleva a otros eventos como son la generación de estrés oxidativo por la exposición a agresores de la piel como la radiación ultravioleta y los compuestos xenobióticos en donde estos eventos exacerban el estado redox intracelular y dañan las estructuras de las proteínas celulares (2). Los procesos inflamatorios en la piel están controlados por las vías de señalización NK- κ B, MAPK y PI3K/Akt que regulan y contribuyen a la activación de células inmunes y la producción de citocina pro-inflamatorias como la interleucina (IL)-1beta, IL-6, IL-8 y el factor de necrosis tumoral alpha (TNF-alpha)(3). Hay compuestos que tienen propiedades anti-inflamatorias y actividad antioxidante, uno de ellos son las xantonas,

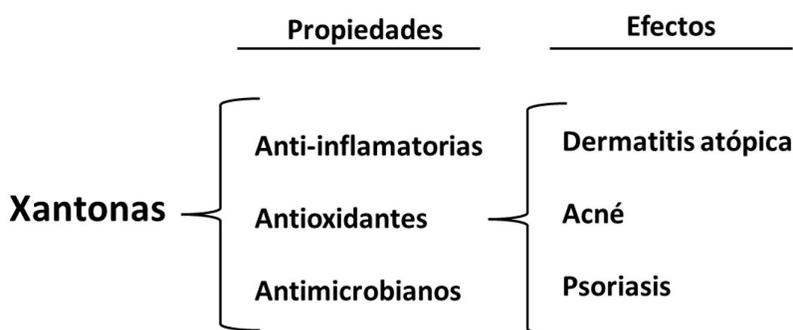
el cual ha sido investigado con gran interés para el tratamiento de las enfermedades inflamatorias de la piel (4).

Las xantonas tienen una estructura base y son muy versátiles y ellas consisten de un xanteno-9 tricíclico; las plantas, hongos y líquenes poseen estos compuestos (5). En el caso de las plantas algunas de ellas tienen xantonas como la planta *Garcinia mangostana* L., *Mangifera indica* L., *Calophyllum inophyllum* L. y los géneros de *Calphyllum*, *Cratoxylum*, *Garcinia*, *Gentiana*, *Hypericum* y *Swertia* son las que tienen las mas altas cantidades de xantonas (6). En este capítulo se documenta sobre los avances de las xantonas en las enfermedades inflamatorias de la piel y su potencial uso como agentes terapéuticos.

2 XANTONAS EN LA DERMATITIS ATÓPICA

La dermatitis atópica (eczema atópica), es un desorden crónico de la piel muy común en la población con una incidencia de alrededor del 3-20%. Esta enfermedad es caracterizada por inflamación de tipo alérgica, por un aumento de la inmunoglobulina E (IgE) y por altos niveles de histamina, también está asociada a esta enfermedad las especies reactivas del oxígeno (ROS). Las ROS pueden causar una peroxidación de lípidos y un daño en los componentes celulares, además de activar la respuesta inmune por la infiltración de linfocitos en la piel en donde estos linfocitos tienen un perfil de expresión de citocinas tipo Th1 y Th2. Por lo tanto, las xantonas como agentes antioxidantes y anti-inflamatorias pueden ser benéficas para la dermatitis atópica (7) (Figura 1).

Figura 1. Xantonas en las enfermedades de la piel. Las xantonas tienen varias propiedades y tienen efectos sobre enfermedades inflamatorias de la piel.



La utilización de un extracto de la planta de *Garcinia mangostana* L. tiene un efecto preventivo potencial sobre la dermatitis atópica ya que este extracto disminuye los síntomas clínicos de las lesiones de la piel (8). El extracto suministrado de forma oral a una dosis de 250 mg/kg/día en ratones NC/Tnd disminuye la producción del factor de

crecimiento del nervio (NGF) en los queratinocitos y en los fibroblastos y este factor está vinculado con el picor u hormiguero (8) de la enfermedad.

Las histaminas en la dermatitis atópica es otro elemento importante en la enfermedad. Un extracto etanólico al 40% de la cascara del mangostán (*G. mangostana* L.) inhibe el 80% de la liberación de histamina desde las células basófilas, además, a una concentración de 300 µg/mL de extracto etanólico inhibe la síntesis de prostaglandina E2 (PGE2) (9), este efecto anti-inflamatorio del extracto es atribuible a la xantona derivada llamada alpha-mangostina (9). Este mismo efecto de reducción de histamina se observa en el modelo de ratón de dermatitis tópica inducida por el 2,4-dinitrofluorobenceno (8).

La alpha-mangostina es un inhibidor selectivo y competitivo de los receptores de histamina H1 (10). Este efecto antihistamínico de este compuesto recalca la importancia de las xantonas para aliviar los efectos mediados por las histamina en las reacciones alérgicas.

Por otro lado, las xantonas están relacionadas con la regulación de la expresión de citocinas e IgE. La xantona-9 reduce la expresión del mRNA de IL-1beta, IL-6, IL-8, quimiocina reguladora de activación (TARC) y la quimiocina derivada del macrófago (MDC)(5) en las células inmunes que están presentes en el sitio de la inflamación de la piel, así como también una reducción de los niveles de IgE en suero y una baja presencia de células de mastocitos. Este mismo efecto se presenta con un extracto etanólico de la corteza del mangostán, rico en xantona, en un modelo de ratón donde una reducción significativa de IL-4 e IFN-gamma y TSLP (8), así como también la expresión de quimiocinas Th2 y eotaxina-2 involucradas en el reclutamiento de células T y eosinófilos, respectivamente. Otra xantona conocida como mangiferina, a una concentración de 20 y 100 µM, reduce la expresión de IL-1beta, IL-6, óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) en macrófagos, estas células también son componentes importantes de la enfermedad; la mangiferina tiene un efecto de reducción en la población de células Th1, Th2, Th9, Th17 y Treg (11). Este desbalance de población de células T por los compuestos de xantonas involucra la atenuación de la dermatitis atópica.

Las xantonas tienen otros efectos sobre la dermatitis atópica como la modulación del reclutamiento de los eosinófilos. Como se sabe los eosinófilos juegan un papel clave en las enfermedades alérgicas, por lo tanto la reducción en el reclutamiento de estas células puede reducir los efectos inflamatorias de la alergia. El extracto etanólico de la corteza del mangostán hace reducir de 2 a 3 veces los niveles de la población de eosinófilos en la piel de los ratones NC/Tnd a la dosis de 250 mg/Kg/día (8). El mecanismo por el cual hay una reducción en el reclutamiento de los eosinófilos es por la inhibición de la actividad de PI3K, que es conocido como una vía de traducción de

señal asociada hacia el reclutamiento y activación de eosinófilos. Otro compuesto de xantona, la mangiferina, en una dosis dependiente, inhibe el reclutamiento de eosinófilos comparado con la dexametasona, este hallazgo es soportado por histología de la piel de los ratones C57BL/6 con dermatitis atópica inducida con oxazolona (12).

Por otro lado la vía NF- κ B está relacionada con la dermatitis atópica, en esta vía se involucra las cascadas de MAPK/NF- κ B y el eje NF- κ B/caspasa-1 dando como resultado la inducción de la expresión de varias citocinas pro-inflamatorias como TNF- α , IL-8 e IL-1 β . Así de esta manera, modular la vía NF- κ B parece ser un mecanismo anti-inflamatorio importante para las xantonas. La xantona-9 atenúa significativamente la fosforilación de I κ B α y NF- κ B en células de HaCaT a una concentración de 0.001 a 10,000 mM, indicando el control de una respuesta inflamatoria alérgica por las xantonas (5). La xantona también puede regular la vía de la MAPK y la caspasa-1 en los queratinocitos y en células de mastocitos (5). Otras xantonas como la α -mangostina puede inhibir la vía NF- κ B a una concentración de 10 y 30 mg/kg/día en un modelo de ratón con inflamación en las vías respiratorias (13). La mangiferina, a una dosis de 50 mg/kg/día, regula negativamente la vía NF- κ B en los ratones con dermatitis inducida con oxazolona, demostrando que este compuesto puede ser considerado como un buen tratamiento para la dermatitis atópica (14), así como también las otras xantonas mencionadas arriba.

3 ACNÉ

El acné también conocido como *Acne vulgaris*, es una enfermedad cutánea con inflamación en los folículos pilosebáceos; esta enfermedad es considerada como la octava enfermedad más común en todo el mundo y es estimado que afecta el 9% de la población global. Las bacterias están involucradas en esta enfermedad y que son habitantes normales de la piel, como es el caso de *Cutibacterium acne* y *Staphylococcus epidermidis*. Estas bacterias participan en el inicio y desarrollo del acné por la producción de quimiocinas que atraen neutrófilos y citocinas pro-inflamatorias como IL-1, IL-6, IL-8 y TNF- α . Este reclutamiento de células inmunes conduce la generación de ROS el cual produce una irritación del epitelio folicular que termina en un daño de la piel y cicatrización. Por otro lado, las bacterias involucradas en el acné son resistentes a los antibióticos clásicos, por tal motivo la investigación sobre antibacterianos naturales y compuestos contra el acné es importante, en este punto, las xantonas son compuestos que pueden ser potencialmente usados para tratar el acné por sus propiedades anti-inflamatorias y antibacterianas (Figura 1).

Extractos etanólicos de la planta *G. mangostana* L. han mostrado la presencia de las xantonas alpha- y gamma-mangostina y estos compuestos tienen efectos anti-acné. Los extractos etanólicos tienen un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de *C. acnes* y *S. epidermidis*, inclusive siendo mejor al compararlo con 18 plantas medicinales ya descritas con actividad antimicrobiana (15). En otros estudios con extractos de *G. mangostana* L. obtenidos con Soxhlet se observa el mismo efecto antibacteriano sobre estas dos especies bacterianas (16) y en este tipo de extracto está el compuesto alpha-mangostina. La administración oral de cápsulas de la corteza del mangostán por tres semanas en 94 pacientes con acné moderado e intermedio decreta las lesiones de acné inflamadas y no inflamadas por 35 y 63%, respectivamente (16), indicando que la administración oral reduce significativamente el acné.

La actividad antimicrobiana del alpha-mangostina es debido a su grupo isoprenilo que está unido al carbono 8 de esta molécula, ya que este grupo permite la asociación con las cadenas alquilo de los lípidos bacterianos de las membranas para permitir la entrada de la xantona a la bacteria (17). La entrada de la xantona en la bacteria provoca un desarreglo de la integridad de la membrana citoplásmica provocando una pérdida rápida de los componentes intracelulares (17), por lo tanto el blanco molecular de las xantonas es la membrana citoplásmica. Como otro punto de acción antibacteriana de la alpha-mangostina es su efecto de inhibición de la formación de biopelícula en *S. epidermidis*, un factor de virulencia importante para esta bacteria (18). Otro punto importante es que las bacterias no generan resistencia contra las xantonas, ya que la exposición continua de *S. epidermidis* hacia el compuesto alpha-mangostina no generó resistencia antibacteriana a las concentraciones de 0.38-3.05 μM indicando que es seguro su utilización y con una fuerte actividad de muerte de esta bacteria (18). La baja resistencia microbiana hacia la alpha-mangostina es debido a que este compuesto tiene varios efectos sobre *S. epidermidis* como son la baja expresión de genes asociados a: la integridad de la membrana citoplásmica, la división celular, a los ácidos teicóicos y biosíntesis de ácidos grasos, la replicación de DNA y sistema de reparación del mismo (19). Estos blancos múltiples de acción hacen minimizar el riesgo de un desarrollo de resistencia bacteriana hacia las xantonas y ser utilizadas como potenciales compuestos terapéuticos para el tratamiento del acné.

4 MECANISMOS ANTI-INFLAMATORIOS

Los efectos anti-inflamatorios del extracto etanólico de *G. mangostana* L. han sido descubiertos y han revelado que este extracto a una concentración de 50 $\mu\text{g/mL}$ puede

suprimir la producción de citocinas pro-inflamatorias como el TNF- α hasta en un 94.5% en células mononucleadas de sangre periférica estimuladas con *C. acnes* muerta por calor (20). Este extracto también tiene actividad antioxidante mediante el mecanismo de captura de radicales libres, y se sugiere que el mecanismo anti-inflamatorio de este compuesto es debido a la atenuación del estrés oxidativo principalmente.

Los queratinocitos HaCaT tratados con *C. acnes* y con α - y γ -mangostina a una concentración de 2-8 μ M no producen las citocinas IL-1 β , IL-6 y TNF- α comparado con los queratinocitos tratados únicamente con *C. acnes* (21). El mecanismo de acción de estas xantonas es por la inactivación de las vías NF- κ B y MAPK y por un decremento de la fosforilación de las proteínas relacionadas a estas vías como la I κ B, p65, p38, ERK y JNK (21). Por otro lado, estas xantonas inhiben la actividad de las lipasas de *C. acnes* que son componentes importante para la virulencia de esta bacteria y además para la inducción de citocinas pro-inflamatorias (21). Esto demuestra que las xantonas contribuyen a su potencial biológico como agentes anti-acné.

5 PSORIASIS

Otra de las enfermedades con etiología desconocida es la psoriasis, esta enfermedad es de tipo inflamatoria de carácter crónico en la piel conducida principalmente por células T, fenotípicamente se caracteriza por lesiones en la piel de tipo de placas gruesas y escamosas. Factores genéticos y ambientales están involucrados con la patogénesis de esta enfermedad. Histológicamente las lesiones se observa con una hiperproliferación de los queratinocitos, una errónea diferenciación de los queratinocitos e infiltración de células inflamatorias. Con respecto a las citocinas existe un ambiente de células Th17 productoras de IL-17A, IL-22, IL-23 y IFN- γ que son las citocinas importantes para el inicio de la enfermedad, aunado a esto, la función de las células T efectoras que están mal reguladas y diferenciadas y que conducen la producción de citocinas por la vía del NF- κ B. Otras células infiltradas en la piel son los neutrófilos, éstos son cruciales ya que son la fuente principal de citocinas pro-inflamatorias como la IL-8 e IL-17A. Así como en otras enfermedades de la piel, la presencia de ROS y estrés oxidativo en la psoriasis también esta asociada; el ROS es generado por las células de queratinocitos, fibroblastos y células endoteliales de la piel para producir efectos quimiotácticos y la filtración de neutrófilos dentro de las lesiones de la piel. Los neutrófilos también contribuyen al estrés oxidativo por la generación de grandes cantidades del anión superóxido en un proceso conocido como estallido respiratorio, esto provoca el incremento de células inmunes en la piel y aumento de estrés oxidativo. Por tal motivo, el uso de antioxidantes son ideales para

el tratamiento de la psoriasis. De esta manera, la planta de *G. mangostana* L. es rica en xantonas que son antioxidantes y anti-inflamatorias y que ha sido usado tradicionalmente para el tratamiento de la psoriasis (Figura 1).

6 MECANISMOS ANTI-INFLAMATORIOS

Uno de las xantonas usadas para el tratamiento de la psoriasis es el ácido gambóxico y ha sido reportado como potencial agente terapéutico. El ácido gambóxico puede contrarrestar la hiperproliferación de los queratinocitos, ya que ensayos *in vitro* han mostrado inhibición de la proliferación de los queratinocitos HaCaT normales (22). Este compuesto también puede inhibir la translocación nuclear de la proteína p65 evitando la inducción de TNF- α y de esta manera prevenir la activación de NF- κ B y su respuesta inflamatoria. Otro evento, en un modelo murino transgénico K14-VEGF con un fenotipo de inflamación cutánea tipo psoriasis, la aplicación del ácido gambóxico en dosis y tiempo dependiente disminuye la hiperplasia epidermal, el infiltrado inflamatorio y la hiperqueratosis (22). En otros modelos de cobayos y ratones que producen una tipo psoriasis también se obtienen resultados semejantes (22). La aplicación de una crema al 0.5% de ácido gambóxico en estos modelos de tipo psoriasis provocan una reducción en la expresión de la IL-17 e IL-22, así como también una baja regulación de las moléculas de adhesión celular como ICAM-1 y E-selectina, importantes para el reclutamiento de linfocitos y acumulación en las lesiones psoriáticas. Otro evento observado es la expresión y fosforilación del transductor de señal de VEGF, el VEGFR-2 es expresado a la baja y consecuentemente disminuido la angiogénesis mediado por VEGF y también la producción de moléculas de adhesión durante la inflamación (22).

Con respecto a otros compuestos derivados de las xantonas para el tratamiento de la psoriasis es un poco limitado. Sin embargo el uso de agentes anti-TNF es importante para esta enfermedad y los derivados de las xantonas como alpha-mangostina, la gamma-mangostina, beta-mangostina y el ácido gambóxico tienen efectos inhibitorios hacia TNF- α como una respuesta anti-inflamatoria para la psoriasis (23). Otro estudio ha propuesto que la xantona del tipo mangiferina tiene un potencial uso en el tratamiento de la psoriasis por su capacidad de inhibir la producción de TNF- α (14). Los efectos anti-inflamatorias de la mangiferina se recalcan en la supresión de la expresión de las citocinas TNF- α , IL-1 β e IL-6 en los ratones con psoriasis artrítica inducida por colágeno y esta baja expresión de citocinas es atribuible a la inhibición de la activación de las vías NF- κ B y MAPK (24).

Con respecto al estrés oxidativo en la psoriasis, vesículas hechas con glicetosomas que contienen las xantonas alpha-mangostina, mangiferina y

garcicowanona A muestran un efecto citoprotectivo al 100% a las células de fibroblastos 3T3 estresadas con peróxido de hidrógeno in vitro (1). Además, en el modelo de ratón de psoriasis inducido con TPA, la aplicación tópica de mangiferina en forma de vesículas reduce el infiltrado inflamatorio, la actividad de la mieloperoxidasa (MPO), el edema y las alteraciones epidermales (1).

Otros derivados de las xantonas han sido aplicados en otros modelos diferentes a la psoriasis. La tovofilina A, que es aislado de *G. mangostana* L., tiene un efecto en reducir los niveles de MPO en el hígado de ratones tratados con acetaminofen, y este efecto es atribuido a la supresión de la infiltración de neutrófilos dentro del hígado (25). Por otro lado, la xantona alpha-mangostina reduce la inflamación inducida por carragenina en ratones ICR, de igual manera con una reducción de la infiltración de neutrófilos de alrededor del 82% (26), además en el fluido peritoneal de estos ratones hay un decremento en los niveles de TNF-alpha e IL-1beta por el mismo tratamiento (26). En ratas con inducción de estrés oxidativo por formilmetionil-leucil fenilalanina (fMLP) y dihidrocitocalasina B hay una reducción de la producción de peróxido por la xantona noratiriol y este efecto es atribuible por la inhibición del reclutamiento de los neutrófilos por la inhibición de la fosfolipasa C y la actividad de la NADPH oxidasa (27). Además, otras xantonas aisladas desde ramas de *Hipericum oblongifolium* que contiene a la hipericorina A, hipericorina B, quielcorina, 3,4,5-trihidroxixantona y 1,3,7-trihidroxixantona tienen efectos significantes de inhibición de la producción del peróxido producido por el estallido respiratorio de los neutrófilos. La actividad potente de estos derivados de xantonas es debido a la presencia del anillo 1,4-dioxano y grupos hidroxilos en sus estructuras químicas en donde estos grupos promueven su absorción dentro de las células inmunes. Por lo tanto, la capacidad de estos derivados de xantonas para disminuir el infiltrado de neutrófilos y su actividad en las áreas de inflamación sugiere que estos compuestos pueden ser candidatos adecuados para el tratamiento de la psoriasis.

7 EL FUTURO DE LAS XANTONAS EN LA PIEL

Como se ha descrito, los diferentes derivados de las xantonas tienen varios efectos biológico sobre las células el cual indica que estos compuestos son multiblancos de acción y estos pueden tener beneficios importantes para el tratamiento farmacológico de las enfermedades inflamatorias de la piel. Los mecanismos multiblanco de acción pueden ser ventajoso para la enfermedad del acné en el sentido de que las bacterias no desarrollan resistencia hacia las xantonas. Sin embargo, debe considerarse que el uso de

compuestos con acción multiblanco tiene el riesgo de tener efectos secundarios mayores con respecto a los compuestos de acción de un solo blanco, pero por otro lado debe considerarse que las enfermedades inflamatorias de la piel son complejas con varios componentes participantes el cual implica que compuestos multiblanco, como es el caso de las xantonas, pueden ser potenciales en el tratamiento de estas enfermedades.

A pesar del avance en investigación de las xantonas sobre las enfermedades inflamatorias de la piel, los mecanismos moleculares de acción son aún poco conocidas en detalle, además se requiere de mas estudios en modelos de animales. Por otro lado, las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de las xantonas faltan por realizarse para determinar su grado de biodisponibilidad y perfil de seguridad de estos compuestos para el desarrollo de un fármaco eficaz. Por lo tanto el futuro de la investigación de las xantonas sobre las enfermedades inflamatorias de la piel es prioritario y de interés para ser utilizado en la clínica como un fármaco idónea sobre estas enfermedades.

8 CONCLUSIÓN

Las xantonas presentes en las plantas tienen altas propiedades biológicas como antioxidantes, anti-inflamatorias y antibacterianas que pueden ser consideradas como una alternativa para diferentes enfermedades de la piel como la dermatitis atópica, el acné, la psoriasis y posiblemente para otras enfermedades de la piel donde la inflamación es el principal componente.

Las xantonas tales como alpha-mangostina, la gamma-mangostina, la mangiferina y el ácido gambógico son potenciales compuestos que pueden ser estudiados con mayor detalle para el desarrollo de compuestos farmacéuticos para el tratamiento clínico dentro de la dermatología. Sin embargo, la variedad de compuestos derivados de xantonas pueden también ser otros elementos de estudio de investigación para el uso terapéutico de ellos en las enfermedades inflamatorias de la piel. Si bien se requiere mas estudios para llegar al uso clínico, las xantonas son prometedoras como compuestos de acción anti-inflamatoria y antioxidante y deben ser consideradas para el futuro de la medicina dermatológica.

REFERENCIAS

- 1.- Pleguezuelos-Villa M, Díez-Sales O, Manca ML, Manconi M, Sauri AR, Escribano-Ferrer E, Nàcher A. Mangiferin glycosomes as a new potential adjuvant for the treatment of psoriasis. *Int J Pharm.* 2020;573:118844. doi:10.1016/j.ijpharm.2019.118844.
- 2.- Cidade H, Rocha V, Palmeira A, Marques C, Tiritan ME, Ferreira H. In silico and in vitro antioxidant and cytotoxicity evaluation of oxygenated xanthone derivatives. *Arab J Chem.* 2017;13(1):17–26. doi:10.1016/j.arabjc.2017.01.006.

- 3.- Guo H, Liu H, Jian Z, Cui H, Fang J, Zuo Z, Deng J, Li Y, Wang X, Zhao L, Geng Y, Ouyang P, Lai W, Chen Z, Huang C. Nickel induces inflammatory activation via NF- κ B, MAPKs, IRF3 and NLRP3 inflammasome signaling pathways in macrophages. *Aging (Albany NY)*. 2019;11(23):11659-11672. doi: 10.18632/aging.102570.
- 4.- Feng Z, Lu X, Gan L, Zhang Q, Lin L. Xanthones, A Promising Anti-Inflammatory Scaffold: Structure, Activity, and Drug Likeness Analysis. *Molecules*. 2020;25(3):598. doi: 10.3390/molecules25030598.
- 5.- Aye A, Song YJ, Jeon YD, Jin JS. Xanthone suppresses allergic contact dermatitis in vitro and in vivo. *Int Immunopharmacol*. 2020;78:106061. doi:10.1016/j.intimp.2019.106061.
- 6.- Ruan J, Zheng C, Liu Y, Qu L, Yu H, Han L, Zhang Y, Wang T. Chemical and Biological Research on Herbal Medicines Rich in Xanthones. *Molecules*. 2017;22(10):1698. doi: 10.3390/molecules22101698.
- 7.- Sivaranjani M, Prakash M, Gowrishankar S, Rathna J, Pandian SK, Ravi AV. In vitro activity of alpha-mangostin in killing and eradicating *Staphylococcus epidermidis* RP62A biofilms. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2017;101(8):3349-3359. doi: 10.1007/s00253-017-8231-7.
- 8.- Higuchi H, Tanaka A, Nishikawa S, Oida K, Matsuda A, Jung K, Amagai Y, Matsuda H. Suppressive effect of mangosteen rind extract on the spontaneous development of atopic dermatitis in NC/Tnd mice. *J Dermatol*. 2013;40(10):786-96. doi: 10.1111/1346-8138.12250.
- 9.- Nakatani K, Nakahata N, Arakawa T, Yasuda H, Ohizumi Y. Inhibition of cyclooxygenase and prostaglandin E2 synthesis by gamma-mangostin, a xanthone derivative in mangosteen, in C6 rat glioma cells. *Biochem Pharmacol*. 2002;63(1):73-9. doi: 10.1016/s0006-2952(01)00810-3.
- 10.- Chairungsrilerd N, Furukawa K, Ohta T, Nozoe S, Ohizumi Y. Histaminergic and serotonergic receptor blocking substances from the medicinal plant *Garcinia mangostana*. *Planta Med*. 1996;62(5):471-2. doi: 10.1055/s-2006-957943.
- 11.- Auriemma M, Vianale G, Amerio P, Reale M. Cytokines and T cells in atopic dermatitis. *Eur Cytokine Netw*. 2013;24(1):37-44. doi: 10.1684/ecn.2013.0333.
- 12.- Yun C, Chang M, Hou G, Lan T, Yuan H, Su Z, Zhu D, Liang W, Li Q, Zhu H, Zhang J, Lu Y, Deng J, Guo H. Mangiferin suppresses allergic asthma symptoms by decreased Th9 and Th17 responses and increased Treg response. *Mol Immunol*. 2019;114:233-242. doi: 10.1016/j.molimm.2019.07.025.
- 13.- Jang HY, Kwon OK, Oh SR, Lee HK, Ahn KS, Chin YW. Mangosteen xanthones mitigate ovalbumin-induced airway inflammation in a mouse model of asthma. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(11):4042-50. doi: 10.1016/j.fct.2012.08.037.
- 14.- Zhao Y, Wang W, Wu X, Ma X, Qu R, Chen X, Liu C, Liu Y, Wang X, Yan P, Zhang H, Pan J, Li W. Mangiferin antagonizes TNF- α -mediated inflammatory reaction and protects against dermatitis in a mice model. *Int Immunopharmacol*. 2017;45:174-179. doi: 10.1016/j.intimp.2017.02.014.
- 15.- Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bacteria. *J Ethnopharmacol*. 2005;101(1-3):330-3. doi: 10.1016/j.jep.2005.04.038.
- 16.- Pothitirat W, Chomnawang MT, Supabphol R, Gritsanapan W. Free radical scavenging and anti-acne activities of mangosteen fruit rind extracts prepared by different extraction methods. *Pharm Biol*. 2010;48(2):182-6. doi:10.3109/13880200903062671.

- 17.- Koh JJ, Qiu S, Zou H, Lakshminarayanan R, Li J, Zhou X, Tang C, Saraswathi P, Verma C, Tan DT, Tan AL, Liu S, Beuerman RW. Rapid bactericidal action of alpha- mangostin against MRSA as an outcome of membrane targeting. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1828(2):834-44. doi: 10.1016/j.bbamem.2012.09.004.
- 18.- Sivaranjani N, Rao SV, Rajeev G. Role of reactive oxygen species and antioxidants in atopic dermatitis. *J Clin Diagn Res*. 2013;7(12):2683-5. doi:10.7860/JCDR/2013/6635.3732.
- 19.- Sivaranjani M, Leskinen K, Aravindraja C, Saavalainen P, Pandian SK, Skurnik M, Ravi AV. Deciphering the Antibacterial Mode of Action of Alpha-Mangostin on *Staphylococcus epidermidis* RP62A Through an Integrated Transcriptomic and Proteomic Approach. *Front Microbiol*. 2019;10:150. doi:10.3389/fmicb.2019.00150.
- 20.- Chomnawang MT, Surassmo S, Nukoolkarn VS, Gritsanapan W. Effect of *Garcinia mangostana* on inflammation caused by *Propionibacterium acnes*. *Fitoterapia*. 2007;78(6):401-8. doi: 10.1016/j.fitote.2007.02.019.
- 21.- Xu N, Deng W, He G, Gan X, Gao S, Chen Y, Gao Y, Xu K, Qi J, Lin H, Shen L, Li X, Hu Z. Alpha- and gamma-mangostins exhibit anti-acne activities via multiple mechanisms. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2018;40(5):415-422. doi:10.1080/08923973.2018.1519831.
- 22.- Wen J, Pei H, Wang X, Xie C, Li S, Huang L, Qiu N, Wang W, Cheng X, Chen L. Gambogic acid exhibits anti-psoriatic efficacy through inhibition of angiogenesis and inflammation. *J Dermatol Sci*. 2014;74(3):242-50. doi: 10.1016/j.jdermsci.2014.03.001.
- 23.- Wang QL, Yang DZ, Lv C. Anti-inflammatory effects of gambogic acid in murine collagen-induced arthritis through PI3K/Akt signaling pathway. *Mol Med Rep*. 2018;17(3):4791-4796. doi: 10.3892/mmr.2018.8389.
- 24.- Delgado-Hernández R, Hernández-Balmaseda I, Rodeiro-Guerra I, Cesar Rodriguez Gonzalez J, De Wever O, Logie E, Declerck K, Pérez-Novo C, Vanden Berghe W. Anti-angiogenic effects of mangiferin and mechanism of action in metastatic melanoma. *Melanoma Res*. 2020;30(1):39-51. doi: 10.1097/CMR.0000000000000647.
- 25.- Ibrahim SRM, El-Agamy DS, Abdallah HM, Ahmed N, Elkablawy MA, Mohamed GA. Protective activity of tovophyllin A, a xanthone isolated from *Garcinia mangostana* pericarps, against acetaminophen-induced liver damage: role of Nrf2 activation. *Food Funct*. 2018;9(6):3291-3300. doi: 10.1039/c8fo00378e.
- 26.- Mohan S, Syam S, Abdelwahab SI, Thangavel N. An antiinflammatory molecular mechanism of action of α -mangostin, the major xanthone from the pericarp of *Garcinia mangostana*: an in silico, in vitro and in vivo approach. *Food Funct*. 2018;9 (7):3860–3871. doi:10.1039/c8fo00439k.
- 27.- Hsu MF, Raung SL, Tsao LT, Lin CN, Wang JP. Examination of the inhibitory effect of norathyriol in formylmethionyl-leucyl-phenylalanine-induced respiratory burst in rat neutrophils. *Free Radic Biol Med*. 1997;23(7):1035-45. doi: 10.1016/s0891-5849(97)00132-9.

CAPÍTULO 9

RESISTÊNCIA BACTERIANA E COMPOSTOS NATURAIS: APLICAÇÃO DESTE CONCEITO NA APRENDIZAGEM DAS CIÊNCIAS

Data de aceite: 29/11/2023

Maria José Saavedra^{1,2}

<https://orcid.org/0000-0002-7492-4965>

Lúcia Chaves Simões^{3,4}

<https://orcid.org/0000-0002-4893-1985>

Manuel Simões^{5,6}

<https://orcid.org/0000-0002-3355-4398>

Conceição Fernandes⁷

<https://orcid.org/0000-0003-2873-501X>

RESUMO: Atualmente, o paradigma do ensino das ciências da vida deve considerar novas estratégias para o sucesso na aprendizagem.

¹ Centre for the Research and Technology for Agro-Environment and Biological Sciences (CITAB), University of Trás-os-Montes e Alto Douro, 5000-801 Vila Real, Portugal.

² CECAV – Animal and Veterinary Research Center and AL4AnimalS, University of Trás-os-Montes and Alto Douro (UTAD), 5000-801 Vila Real, Portugal.

³ CEB – Centre of Biological Engineering, University of Minho, Campus de Gualtar, 4710-057 Braga, Portugal.

⁴ LABBELS – Associate Laboratory in Biotechnology, Bioengineering and Microelectromechanical Systems, Braga/Guimarães, Portugal.

⁵ LEPABE, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Porto, 4200-465 Porto, Portugal.

⁶ ALiCE – Associate Laboratory in Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465 Porto, Portugal.

⁷ Centro de Investigação de Montanha (CIMO)/Laboratório Associado para a Sustentabilidade e Tecnologia em Regiões de Montanha (SusTEC), Instituto Politécnico de Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

Exemplos de aplicações práticas relevantes, nas áreas da saúde (humana, animal), alimentar e ambiental podem servir como um forte estímulo ao conhecimento. A resistência bacteriana aos antibióticos é um problema de Saúde Pública relevante a nível global. O uso inadequado de antibióticos tem sido considerado como um dos principais fatores para este problema. A abordagem *One Health*, reconhece que a saúde humana está ligada à saúde dos animais e meio ambiente, preconizando uma ação combinada entre elas. Como consequência, a pesquisa de medidas alternativas aos antimicrobianos disponíveis é imperativa. O conhecimento de que os recursos naturais fornecem um amplo campo químico a ser explorado em compostos com bioatividade, pode aumentar o interesse pela aprendizagem. As estratégias passam por pesquisas de compostos naturais presentes em plantas com propriedades antimicrobianas reconhecidas. Extratos vegetais podem ter efeitos benéficos devido aos seus níveis de flavonóides, carotenóides, esteróis e minerais. Geralmente, extratos de plantas com maior quantidade e diversidade de compostos fenólicos podem ser importantes para conferir o tipo de atividade biológica. Para alcançar o sucesso da aprendizagem, as estratégias através da comunicação ativa devem incluir aspetos relevantes de aplicações práticas.

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias. Resistência. Antibióticos. Compostos-bioativos. Aplicabilidade. Educação.

BACTERIAL RESISTANCE AND NATURAL COMPOUNDS: APPLICATION OF THIS CONCEPT IN SCIENCE LEARNIN

ABSTRACT: Nowadays, life science teaching paradigm must consider new strategies for success in learning science. Exemplification of relevant practical applications, in the area of health (human and animal), of food and of the environment, can serve as a strong stimulus for knowledge. Bacterial resistance to antibiotics is a relevant public health problem at global level. The inappropriate use of antibiotics has been considered as one of the major factors contributing to this problem. One Health approach recognizes that health of people is connected to health of animals and environment, seeking a combined action between them. Consequently, research of alternatives measures to antimicrobials are imperative. Knowledge that natural resources provide an abundant chemical space to be explored in compounds with bioactivity can lead to high interest for learning purposes. The strategy can pass through research of natural compounds largely present in plants with recognized antimicrobial properties. Plant extracts can have beneficial effects due to their levels of flavonoids, carotenoids and sterols. Generally, plant extracts with a higher quantity and diversity of phenolic compounds can be important to endorse the type of biological activity. To achieve learning success, strategies through active communication should include relevant aspects of practical applications.

KEYWORDS: Bacteria. Resistance. Antibiotics. Bioactive-compounds. Applicability. Education.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente, o paradigma do ensino das ciências da vida deve considerar novas estratégias para o sucesso na aprendizagem. Exemplos de aplicações práticas relevantes (i) nas áreas da saúde (humana, animal), (ii) alimentar e (iii) ambiental, podem servir como um forte estímulo ao conhecimento. O reconhecimento do problema da resistência associada ao uso de antibióticos está presente desde 1940, quando estes começaram a ser utilizados em ambiente clínico (Habboush e Guzman, 2018). A resistência bacteriana é um desafio para vários setores a nível mundial, dado que se associa a um alto nível de morbidade e mortalidade (Frieri *et al.*, 2017; Loureiro *et al.*, 2016; Qiao *et al.*, 2018). Vários relatórios da *World Health Organization* (WHO 2014, 2017) realçam este facto e salientam que atualmente as infeções causadas por bactérias resistentes apresentam difícil tratamento, devido ao aumento da resistência aos antibióticos disponíveis. Além disso, a WHO, elaborou uma lista com 12 famílias de bactérias denominadas de “patogénicos prioritários” para os quais urge pesquisar e desenvolver novos antimicrobianos. Entre estes, encontram-se as bactérias patogénicas integrantes do acrónimo ESKAPE, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterobacter* spp. (Petchiappan e Chatterji,

2017; WHO, 2014; 2017). São de particular preocupação, as bactérias patogênicas e oportunistas com capacidade de resistir, simultaneamente, a diferentes antibióticos de grupos distintos – bactérias multirresistentes. O *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) e o *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) estabeleceram uma terminologia internacional para descrever os perfis de resistência a antibióticos. Define-se como microrganismo multirresistente, um microrganismo que é resistente a ≥ 1 antibiótico em ≥ 3 classes de antibióticos diferentes. Segundo a WHO (2017), a resistência a antibióticos representa uma das maiores ameaças a nível global prevendo-se que daqui a 30 anos as bactérias multirresistentes matem mais que o cancro.

2 MEDIDAS PARA A REDUÇÃO DA RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

A WHO, em novembro de 2017, reforçou que devem ser tomadas medidas, que abrangem todos os setores da sociedade, para se reduzir o impacto e limitar o aumento da resistência aos antibióticos. Também a FAO defende a abordagem *One Health* (Uma Saúde) – procurando uma ação combinada entre saúde humana, saúde animal e fatores ambientais, reunindo profissionais de saúde humana, veterinários, especialistas em sanidade animal, biólogos, sociólogos, economistas, ecologistas, assim como outros intervenientes, para trabalhar em questões associadas a agentes infecciosos/resistência a antibióticos num sistema holístico.

Neste contexto, organizações nacionais e internacionais, estabeleceram estratégias com objetivo de prevenir a ocorrência e disseminação da resistência bacteriana. As estratégias passam por: (i) utilizar de modo mais restrito os antibióticos e apenas quando prescritos por profissionais de saúde; (ii) incentivar a instrução a profissionais de saúde, para o correto uso de antibióticos (dosagem e duração da toma dos antibióticos); (iii) promover e aplicar boas práticas de higiene, em todos os setores; (iv) intensificar os sistemas de vigilância com o objetivo de monitorizar o uso de antibióticos e a resistência bacteriana, em saúde humana e animal, e também, na cadeia alimentar; e (v) investir na investigação de novos antibióticos e instrumentos de diagnóstico (Lammie e Hughes, 2016; WHO, 2017). Numa visão global, dada a situação da resistência aos antibióticos e do aumento de bactérias multirresistentes, estas medidas são estratégicas, no entanto, estão a tornar-se insuficientes. Assim, torna-se uma prioridade a procura de novas moléculas, dado o crescente aumento da resistência aos antibióticos e, conseqüentemente, a sua ineficácia no combate a infeções bacterianas causadas por agentes multirresistentes.

3 PLANTAS COMO FONTES DE NOVOS ANTIMICROBIANOS

Uma das estratégias emergentes tem sido a pesquisa de compostos naturais amplamente presentes em plantas com propriedades antimicrobianas reconhecidas, como compostos fenólicos (fenóis simples, ácidos fenólicos, quinonas, flavonóides e taninos), óleos essenciais, terpenóides, alcalóides e glucosinolatos, entre outros. As plantas podem ser recursos terapêuticos valiosos, já que representam fontes de novas substâncias farmacêuticas potencialmente importantes, podendo ser usadas todas as partes de uma planta, de raízes a sementes e flores. Apesar do potencial em componentes bioativos depender das condições climáticas, extratos aquosos de *Brassica* podem constituir uma importante fonte natural de antioxidantes (Aires et al., 2011). No caso das plantas superiores, especialmente as presentes em florestas tropicais, o isolamento de novos compostos só foi explorado muito parcialmente, e estima-se que apenas 6%, das aproximadamente 300.000 espécies, tenham sido investigados para o seu potencial farmacológico, e cerca de 15% para o seu potencial fitoquímico (Cragg e Newman, 2013).

Os metabolitos secundários das plantas (fitoquímicos) já demonstraram o seu potencial como antibacterianos quando utilizados isoladamente e como sinérgicos ou potenciadores de outros agentes antibacterianos. Estes frequentemente atuam através de diferentes mecanismos, comparativamente aos antibióticos convencionais, daí o seu potencial uso no tratamento de bactérias resistentes (Abreu *et al.*, 2012). Os fitoquímicos derivados de plantas podem ser utilizados como agente terapêutico único ou em formulações combinadas no desenvolvimento de fármacos. Alguns compostos com atividades antimicrobianas parecem atuar de forma sinérgica entre eles, de forma a produzir um efeito global mais intenso e eficaz. Outros compostos não-antimicrobianos parecem ter uma função mais reguladora, promovendo o aumento da solubilidade, absorção e estabilidade química dos compostos mais ativos. Borges e colaboradores (2016) referem que outros compostos têm sido associados a uma atividade antibacteriana adjuvante, principalmente por serem capazes de inibir ativamente alguns mecanismos de resistência por parte de organismos patogênicos.

4 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DE DIFERENTES EXTRATOS: CASOS DE ESTUDO

De entre a lista de patogênicos prioritários, têm sido realizados vários estudos com bactérias de (i) Prioridade 1 - Crítica: *Acinetobacter baumannii* resistente aos carbapenemos, *Pseudomonas aeruginosa* resistente aos carbapenemos e Enterobacteriaceae resistentes aos carbapenemos e (ii) Prioridade 2 - Alta: *Staphylococcus aureus*, resistentes à metilina (MRSA). Atualmente, estão disponíveis

alternativas terapêuticas limitadas para o tratamento de infecções causadas para estes géneros bacterianos. Tendo em conta o conceito *One Health* os isolados foram provenientes de diversas origens da região de Trás-os-Montes e Alto Douro, localizada a Norte de Portugal: I. Amostras de origem clínica humana cedidas pelo Centro Hospitalar de Trás-os-Montes e Alto Douro (CHTMAD), no âmbito de protocolos aprovados pela Comissão de Ética: (i) Isolados de Gram negativo, resistentes a carbapenemos (desde 2003); (ii) Isolados do Serviço de Cirurgia-Consulta do pé Diabético (desde 2009); (iii) Isolados de feridas crónicas dos Serviços de Cirurgia Plástica, Cirurgia Geral, Medicina Interna, Patologia Clínica (desde 2018). II. Amostras de origem animal (i) Isolados clínicos de animais de companhia, selvagens e exóticos, no âmbito de protocolos (Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Centro de Recuperação, Acolhimento e Tratamento de Animais Selvagens (CRATAS), Centro de Recuperação de Animais Selvagens do Hospital Veterinário da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, (CRAS-HVUTAD) (2006); (ii) Isolados de aves, répteis e mamíferos de Jardins Zoológicos (2012); (iii) Isolados de animais de produção (2014); III. Amostras ambientais (i) isolados associados a cuidados continuados, de Residências Sénior do distrito de Bragança, no âmbito de protocolo estabelecido com os respetivos Presidentes da Direção de cada uma das instituições (2010); (ii) Isolados associados à qualidade das águas fluviais, rios e organismos bioindicadores (desde 2004); (iii) Isolados de diversos géneros alimentícios e ambientes de produção alimentar (2010).

Nos estudos efetuados vários metabolitos secundários de plantas e seus derivados foram identificados como possíveis agentes antimicrobianos, por deteção de atividade antimicrobiana, através de bioensaio pelo método de difusão em disco e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI).

Extratos hidro-alcoólicos de *Lavandula angustifolia* e *Urtica dioica* mostraram efeitos antimicrobianos em *Staphylococcus aureus* resistentes à metilina (MRSA), isolados de úlceras do pé diabético. Uma associação direta entre o alto conteúdo de ácidos hidroxicinâmicos (ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido rosmarínico) e flavonóides (quercetina) e diminuição da atividade de crescimento bacteriano foi observada. O facto da lavanda e da urtiga serem ricas em ácidos hidroxicinâmicos e quercetina parece explicar o elevado potencial antibacteriano destas plantas (Zenão *et al.* 2017). Adicionalmente os isotiocianatos têm um valor biológico interessante e devem ser considerados como uma ferramenta importante a ser usada contra MRSA. Os estudos mostraram uma forte relação entre a estrutura química dos isotiocianatos e sua eficácia antibacteriana. O benzil-isotiocianato foi o mais efetivo com uma concentração inibitória mínima variando

entre 2,9 e 110 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ com uma taxa de atividade antibacteriana de até 87% (Dias *et al.*, 2014). Também *Pterospartum tridentatum* e *Mentha pulegium* apresentam composição em polifenóis distinta, com implicações na atividade antibacteriana. Dependendo da concentração de extrato hidro-alcoólico de *P. tridentatum* (poejo) foi observada atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* sensível à meticilina (MSSA), bem como contra MRSA. Essa atividade antibacteriana parece estar relacionada ao alto conteúdo de flavonóis, flavonas e isoflavonas que podem atuar sinergicamente entre si contra esse tipo de bactéria (Aires *et al.*, 2016). Num estudo com *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, foi avaliado o mecanismo de ação do ácido gálico (GA) e ácido ferúlico (FA), um ácido hidroxibenzóico e um ácido hidroxicinâmico, respectivamente. Verificou-se que tiveram atividade antimicrobiana com CMI de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *P. aeruginosa*, 1500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *E. coli*, 1750 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *S. aureus* e 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *L. monocytogenes* com GA; 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *E. coli* e *P. aeruginosa*, 1100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e 1250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ para *S. aureus* e *L. monocytogenes*, respectivamente, com FA. O ácido gálico (GA) e ácido ferúlico (FA), levaram a mudanças irreversíveis nas propriedades da membrana (carga, permeabilidade intra e extracelular e propriedades físico-químicas) por meio de alterações de hidrofobicidade, diminuição da carga superficial negativa e ocorrência de rutura local ou formação de poros nas membranas celulares com consequente perda de constituintes (Borges, *et al.*, 2013).

Compostos fenólicos puros são por vezes menos eficazes do que os extratos vegetais fenólicos, provavelmente por causa do efeito aditivo dos diferentes compostos fenólicos presentes nos extratos (Rodríguez-Vaquero *et al.*, 2007; Cueva *et al.*, 2012). Segundo Liu (2003), os efeitos aditivos e sinérgicos dos fitoquímicos nas plantas são responsáveis pelas suas propriedades bioativas e o seu efeito é atribuído à mistura complexa de fitoquímicos presentes em plantas inteiras, em vez de compostos antimicrobianos isolados.

Fitoquímicos demonstraram potencial como antibacterianos quando usados isoladamente e com efeito sinérgico quando associados a antibióticos. Estudos mostraram que isotiocianatos tiveram atividades antimicrobianas significativas, comparativamente a fenólicos menos eficazes. No entanto, a aplicação de combinações duplas (fitoquímico+antibiótico) mostrou sinergia entre estreptomina e ácido gálico, ácido ferúlico, ácido clorogênico, allisotiocianato e 2-feniletilisotiocianato contra as bactérias Gram-negativas *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* (Saavedra *et al.*, 2010). O efeito sinérgico entre isotiocianatos e antibióticos (gentamicina e vancomicina), foi também avaliado contra *E. coli*, *Enterococcus*

faecalis, *L. monocytogenes*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*. Os resultados mostraram um efeito antimicrobiano seletivo dos isotiocianatos, estritamente relacionado com a sua estrutura química. Em geral, o benzil-isotiocianato foi o composto mais eficaz contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. *L. monocytogenes* e *S. aureus* foram as bactérias mais afetadas pelos fitoquímicos isoladamente ou pela combinação fitoquímico-antibiótico, e *P. aeruginosa* foi o patógeno menos afetado. O efeito sinérgico mais importante foi observado entre os antibióticos com benzil-isotiocianato e com 2-feniletil-isotiocianato (Dias *et al.*, 2012). Num outro estudo realizado com 11 isolados de *E. coli*, produtoras de β -lactamases de espectro alargado (ESBLs), de origem animal e humana, a combinação da gentamicina e 2-feniletil-isotiocianato foi a que mostrou efeito sinérgico mais importante (Freitas *et al.*, 2013).

5 EXTRATOS DE PLANTAS COMO POTENCIAIS CONSERVANTES: EXEMPLO DE FLORA EUROPEIA

Frente a um mercado consumidor cada vez mais preocupado com a saúde e efeitos deletérios de aditivos químicos, as plantas e seus constituintes vem sendo objetos de estudo pelas suas propriedades bioativas, funcionais e terapêuticas diretamente associadas aos compostos fenólicos. Nesse sentido, extratos hidroetanólicos (80:20; v/v) de espécies vegetais da flora europeia, nomeadamente *Hippophae rhamnoides* L. (folhas, ramos e flores) e *Rubus idaeus* L. (folhas) foram avaliadas quanto ao perfil de compostos fenólicos, sendo identificados ácidos fenólicos, derivados do ácido cafeico, elagitaninos, flavonóis e flavonas. O total de compostos fenólicos em cada amostra foi de 123 mg/g para *H. rhamnoides* e de 100 mg/g para *R. idaeus*, de extrato seco (Martins 2022). Os extratos de folhas de *Rubus idaeus* e extratos de folhas, ramos e flores de *Hippophae rhamnoides* mostraram atividade antimicrobiana contra vários microrganismos de Gram-positivo e de Gram-negativo associados a contaminação alimentar e de cosméticos, pelo método da microdiluição (Martins *et al.* 2023). Os valores de CMI obtidos para aditivos sintéticos, como o benzoato de sódio (E211) e metabissulfito de potássio (E224) (Othman 2021), habitualmente utilizados como conservantes nas indústrias alimentícia e cosmética, foram iguais ou superiores aos valores de CMI obtidos para os extratos testados. Destaca-se inclusive a resposta observada para *Listeria monocytogenes* (ATCC 19111) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 204305) (extratos: CMI = 0,6 mg/mL), que mostrou ser bastante mais efetiva comparativamente aos aditivos artificiais (E211: CMI = 4,0–1,0 mg/mL; E224: CMI = 1,0–0,5 mg/mL). Por outro lado, os resultados da avaliação da toxicidade *in vivo* usando *Artemia franciscana* mostrou valores de LC50 > 400 mg/L,

classificando estes extratos como de baixa toxicidade (Martins et al. 2023), o que de outro modo poderia ser limitativo para a o seu uso. Assim, estes extratos podem ser ingredientes promissores para aplicações industriais e em oportunidades de inovação devido à riqueza no conteúdo e na expressão de propriedades bioativas, nomeadamente na aplicação destes extratos como alternativas naturais aos conservantes sintéticos, com aplicabilidade em produtos alimentares, bem como produtos cosméticos.

6 CONCLUSÕES

Atualmente, o paradigma do ensino das ciências da vida deve contemplar exemplos de aplicações práticas relevantes. O conhecimento de que os recursos naturais fornecem um amplo campo químico a ser explorado em compostos com bioatividade, pode aumentar o interesse pela aprendizagem. A resistência bacteriana aos antibióticos é um problema de Saúde Pública relevante a nível global, pelo que urge a pesquisa de alternativas. Nesse sentido, têm sido desenvolvidos trabalhos no âmbito da pesquisa de compostos com atividade antimicrobiana como alternativa às moléculas existentes. As estratégias passam por pesquisas de compostos naturais presentes em plantas com propriedades antimicrobianas reconhecidas. Os resultados globais demonstram o papel dos fitoquímicos em co-terapias para promover uma maior eficácia no tratamento e diminuir a resistência antimicrobiana aos antibióticos quer em células em estado planctónico quer em biofilmes.

Neste artigo, foram abordados diferentes estudos, realizados com isolados provenientes de diversas origens, que enfatizam o potencial dos compostos derivados de plantas como fonte sustentável de novos produtos antimicrobianos de amplo espectro. Os extratos vegetais podem ter efeitos benéficos devido aos seus níveis de flavonóides, carotenóides, esteróis e minerais. Geralmente, extratos de plantas com maior quantidade e diversidade de compostos fenólicos podem ser importantes para conferir o tipo de atividade biológica. Também a valorização de recursos naturais em potenciais aplicações para as indústrias alimentícia e cosmética foi exemplificada com extratos que podem ser ingredientes promissores para aplicações industriais e em oportunidades de inovação.

O recurso a exemplos de compostos bioativos de plantas, com as quais os alunos estão familiarizados, com aplicação prática na resolução de problemas, podem servir como um forte estímulo ao conhecimento, contribuindo para alcançar o sucesso da aprendizagem.

REFERÊNCIAS

- Abreu, A.C., McBain, A.J., Simões, M. (2012). Plants as sources of new antimicrobials and resistance-modifying agents. *Nat. Prod. Rep.*, 29: 1007–1021.
- Aires, A., Marrinhas, E., Carvalho, R., Dias, C., Saavedra, M. J. (2016). Phytochemical Composition and Antibacterial Activity of Hydroalcoholic Extracts of *Pterospartum tridentatum* and *Mentha pulegium* against *Staphylococcus aureus* Isolates. *BioMed research international*, 2016, 5201879.
- Aires, A., Fernandes, C., Carvalho, R., Bennett, R.N., Saavedra, M.J., Rosa, E.A.S. (2011). Seasonal Effects on Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Six Economically Important *Brassica* Vegetables. *Molecules* 16 (8): 6816–6832.
- Borges A, Ferreira C, Saavedra MJ, and Simões M. (2013) Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 19 (4):256–265.
- Borges, A., Abreu, A.C., Dias, C., Saavedra, M.J., Borges, F., Simões, M. (2016). New Perspectives on the Use of Phytochemicals as an Emergent Strategy to Control Bacterial Infections Including Biofilms. *Molecules*, 21: 877.
- Dias C, Aires A, Bennett R.B, Rosa E., Saavedra M.J (2012). First Study on Antimicrobial Activity and Synergy between Isothiocyanates and Antibiotics Against Selected Gram-Negative and Gram-Positive Pathogenic Bacteria from Clinical and Animal Source. *Medicinal Chemistry*, 8 (3): 474 – 480.
- Cragg, G.M., Newman, D.J. (2013). Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochim. Biophys. Acta*, 1830: 3670–3695.
- Cueva, C., Mingo, S., Muñoz-González, I., Bustos, I., Requena, T., del Campo, R., Martín Álvarez, P.J., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M.V. (2012). Antibacterial activity of wine phenolic compounds and oenological extracts against potential respiratory pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.*, 54: 557–563.
- Dias, C., Aires, A., & Saavedra, M. J. (2014). Antimicrobial activity of isothiocyanates from cruciferous plants against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *International Journal of Molecular Sciences*, 15(11): 19552–19561.
- Freitas E., Aires A., Rosa E.A.D.S., Saavedra M.J. (2013). Antibacterial activity and synergistic effect between watercress extracts, 2-phenylethyl isothiocyanate and antibiotics against 11 isolates of *Escherichia coli* from clinical and animal source. *Letters in Applied Microbiology*, 57(4): 266–273
- Frieri, M., Kumar, K., Boutin, A. (2017). Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*, 10(4): 369–378.
- Habboush, Y., Guzman, N. (2018). Antibiotic Resistance. *StatPearls Publishing*.
- Lammie, S., Hughes, J. (2016). Antimicrobial Resistance, Food Safety, and One Health: The Need for Convergence. *Annual Review of Food Science and Technology*, 7: 287–312.
- Liu, R.H. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78: 517S–520S.
- Loureiro, R., Roque, F., Teixeira Rodrigues, A., Herdeiro, M., Ramalheira, E. (2016). O uso de antibióticos e as resistências bacterianas: breves notas sobre a sua evolução. *Revista Portuguesa de Saúde Pública*, 34(1): 77–84.

Martins de Deus, B. (2022). Caracterização química, bioatividade e toxicidade de algumas plantas da Europa: avaliação da aplicabilidade no desenvolvimento de um produto industrial. Tese de Mestrado, Engenharia Química, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal.

Martins de Deus, B.; Fernandes, C.; Molina, A.K.; Xavier, V.; Pires, T.C.S.P.; Mandim, F.; Heleno, S.A.; Finimundy, T.C.; Barros, L. (2023). Chemical Characterization, Bioactivity and Toxicity of European Flora Plant Extracts in Search for Potential Natural Origin Preservatives. *Plants* 2023, 12, 2784.

Othman, S. (2021). Valorisation of quince (*Cydonia oblonga* Mill.) peel as a source of nutrients and bioactive polyphenols. Master's Dissertation, Biotechnological Engineering, Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal.

Petchiappan, A., Chatterji, D. (2017). Antibiotic Resistance: Current Perspectives. *ACS Omega*, 2(10): 7400–7409.

Qiao, M., Ying, G., Singer, A., Zhu, Y. (2018). Review of antibiotic resistance in China and its environment. *Environment International*, 110: 160–172.

Rodríguez-Vaquero, M.J., Alberto, M.R., Manca de Nadra, M.C. (2007). Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18: 93–101.

Saavedra, M. J., Borges, A., Dias, C., Aires, A., Bennett, R. N., Rosa, E. S., Simões, M. (2010). Antimicrobial activity of phenolics and glucosinolate hydrolysis products and their synergy with streptomycin against pathogenic bacteria. *Med. Chem.*, 6: 174-183.

World Health Organization (WHO). (2014). Antimicrobial resistance: global report on surveillance. WHOint.

World Health Organization (WHO). (2017): OMS publica lista de bactérias para as quais se necessitam novos antibióticos urgentemente – OPAS/OMS | Organização Pan-Americana da Saúde (paho.org) (Acedido em 13/06/2023)

Zenão S., Aires A., Dias C., Saavedra M., Fernandes C. (2017). Antibacterial potential of *Urtica dioica* and *Lavandula angustifolia* extracts against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from diabetic foot ulcers. *Journal of Herbal Medicine*, 10: 1-7.

CAPÍTULO 10

CAMBIOS EN LA VEGETACIÓN DEL MANGLAR ENTRE 2009-2017 EN EL SISTEMA LAGUNAR DE CHACAHUA-PASTORÍA, OAXACA

Data de submissão: 06/11/2023

Data de aceite: 20/11/2023

Cristian Tovilla Hernández

Licenciatura en Hidrobiología
UAM-Iztapalapa
Doctorado en Biología en
Recursos Acuáticos
Facultad de Ciencias, UNAM
Investigador de El Colegio de la
Frontera Sur Unidad Tapachula
en el Laboratorio de Ecología y
Manejo Integral de
Ecosistemas Costeros

Rita Lorena Salas Roblero

Ingeniería en Restauración Forestal
División de Ciencias Forestales
Universidad Autónoma Chapingo
Estudiante de posgrado
Colegio de la Frontera Sur
Unidad Tapachula

Erika María Villatoro Arreola

Licenciatura en Biología Marina y
Manejo Integrado de Cuencas
Facultad de Biología, UNICACH
Estudiante de posgrado
Colegio de la Frontera Sur
Unidad Tapachula

RESUMEN: En el periodo de 2009-2017 con financiamiento de la Comisión Nacional Para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad (Conabio), se realizó el proyecto denominado: “Inventario y Monitoreo del Estado Actual de los Bosques de Manglar de Chiapas y Oaxaca”. Se realizaron cinco monitoreos de la estructura y composición de los bosques de mangle de este humedal. Los resultados indican cambios en la estructura de todos los rodales del parque y el efecto del huracán “Carlota” sobre el arbolado. Algunos parámetros de la estructura de los rodales se han mantenido, como la altura del arbolado (11.5m) y la altura de fuste (6.2m); por el contrario, el DAP se ha incrementado (8.47 a 9.45cm). Es preocupante que, durante este periodo, cuatro parámetros muy necesarios para el mantenimiento de la estructura de los rodales, registraron una reducción notable, como son: la densidad del arbolado, el área basal, la cobertura de copa y la densidad de plántulas. La densidad del arbolado cambió de 3890-1673 árboles/ha, con una disminución del 57% del arbolado, afectando principalmente a las primeras dos clases diamétricas (2.5-7.0cm), que contribuyen con 73.9% del arbolado juvenil de los manglares, y afecta de manera directa a *L. racemosa*, *C. erectus* y *R. mangle*. El Área Basal se redujo de 24.3 a 21.7m²/ha, esta reducción afectó a las tres clases diamétricas del arbolado juvenil y en primera madurez (2.5 a 15.0 cm), esto es crítico porque está afectando principalmente a *L. racemosa* y *C. erectus*, las dos especies de mangle más explotadas. La cobertura de copa también se redujo al

pasar de 16.7 a 10.95m², por el efecto de los vientos y huracanes sobre el arbolado; así como a la extracción de los mejores fustes por las comunidades. Finalmente, algo grave es la reducción en la densidad de plántulas en los bosques al pasar de 81,818 a 58,111 plántulas/ha, debido a la acuciante falta de agua dulce en todo el sistema, la elevación de la salinidad del suelo y el cambio climático y sus efectos asociados a la presión del cambio de uso del suelo y el uso del recurso del bosque por los habitantes. Estas reducciones permiten predecir un panorama sombrío en los siguientes años, con rodales de mangle con arbolado viejo y con limitada capacidad de regeneración. Es necesario emprender un manejo integral de las actividades antrópicas a lo largo de la cuenca del Río Verde; para dotar de agua al parque, además de emprender un proyecto conjunto entre los tres niveles de gobierno para la restauración del manglar y una protección efectiva del parque, incluso el manejo sustentable de la pesquería y el turismo.

PALABRAS CLAVES: Conservación. Monitoreo. Manglares. Regeneración. Mortalidad.

1 INTRODUCCIÓN

Los bosques de mangle se encuentran entre los entornos más productivos del mundo. Desafortunadamente, el crecimiento de la población humana, el avance de las fronteras agropecuarias, la extracción de madera, el azolvamiento de lagunas, la acuicultura y los contaminantes, amenazan la existencia de este ecosistema. Los manglares brindan beneficios económicos como: suministro de agua (cantidad y calidad); pesquerías, la agricultura costera depende de estos ecosistemas por conducto de la conservación del manto freático en los terrenos aluviales; producción de madera; recursos silvestres; transporte y turismo (Donato et al 2011).

La valoración económica de los ecosistemas de manglar, es considerada una alternativa para asignar un valor cualitativo y cuantitativo a los bienes y servicios inmersos en ellos a fin de protegerlos, y puede realizarse a través de inventarios forestales (Tovilla et al 2007; Tovilla y Romero 2014). La valoración es un instrumento importante para tomadores de decisiones y como justificación del gasto público realizado en actividades de conservación, restauración y manejo de los manglares. Es necesario realizar inventarios de los recursos forestales y del estado que guardan (estructura, mortalidad, regeneración y extracción) los manglares, a fin de conocer el uso que las comunidades campesinas y pesqueras dan a estos sitios y conocer su valoración económica y ambiental dentro de las estadísticas forestales a nivel nacional. Esta valoración solo se puede efectuar a través de inventarios forestales realizados a lo largo del tiempo, en cada sistema lagunar, como sucede en la costa de Chiapas, Guerrero y Oaxaca (Tovilla 2005; Carbajal 2010; Carbajal y López 2017).

2 OBJETIVO

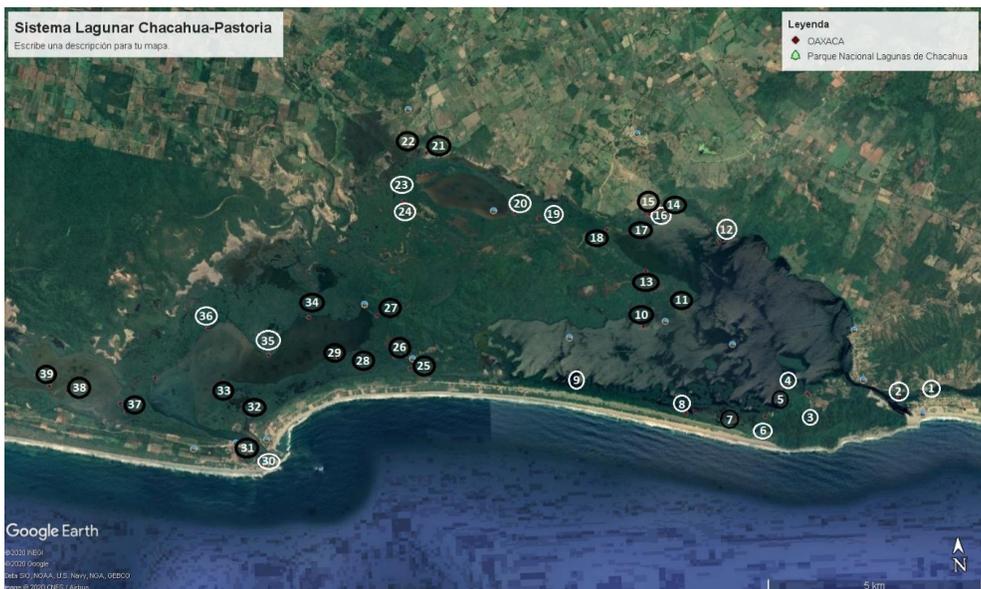
Generar información sobre las características fisicoquímicas del suelo, el estado que guarda la estructura y composición de los bosques de mangle y los cambios que

ha experimentado esta vegetación para el periodo 2009-2017 en el Parque Nacional Lagunas de Chacahua, Oaxaca.

3 UBICACIÓN GEOGRÁFICA

Este sistema comprende una extensión de 13,274.169 has, de esta extensión 2,902.68 has es la superficie de las tres lagunas (Pastoría, Chacahua y Palmarito). Se encuentra ubicado en el municipio de San Pedro Tututepec, Oaxaca, entre los paralelos 15° 58´16.2” latitud Norte y los meridianos 97° 33´94.47” de longitud Oeste (Pérez-Delgado 2002). Laguna Pastoría es la mayor, con 8.3 km de largo y 4.5 de ancho. Esta laguna se comunicaba con el mar por medio de un canal, en la localidad de Cerro Hermoso que, debido a la construcción de un espigón en 1992, se cerró en 2005, mientras que Laguna de Chacahua, mantiene conexión con Laguna de Pastoría en la parte NW, a través de un canal y con el mar en Punta Galera (Pérez-Delgado 2002). El sistema forma parte de la cuenca baja del Río Verde. Los Ríos San Francisco y Chacalapa, desembocan en Laguna de Pastoría, ambos ríos son estacionales. La parte SE de Pastoría recibe aporte de un ramal del Río Grande. La Laguna de Chacahua recibe aportes de agua del Río Verde, desafortunadamente a partir de la creación de una represa sobre el río y el distrito de riego, la cantidad de agua se ha reducido en forma sustancial (González y Rodríguez 2002).

Figura 1. Unidades de Monitoreo Permanente (UMP) en el sistema lagunar de Chacahua-Pastoría-Palmarito, Oaxaca. Los números en círculo negro, tuvieron una evaluación continua.



4 METODOLOGÍA

4.1 INVENTARIO FORESTAL

4.1.1 Estructura y composición de los rodales

En cada uno de los rodales de mangle se establecieron sitios de 20x20m (400m²), denominados Unidades de Monitoreo Permanente UMP. Cada UMP se ubicó con GPS, anotando el tipo de bosque de mangle y la vegetación asociada cuando había.

Todos los árboles en cada UMP se numeraron en forma progresiva sobre la corteza. Cada árbol se identificó por especie, para obtener la densidad y dominancia. En las especies de mangle: *Avicennia germinans* (“Madresal”), *Laguncularia racemosa* (“Mangle blanco”) y *Conocarpus erectus* (“Botoncillo”) se midió el diámetro a la altura del pecho (1.3 m) (DAP), mientras que en *Rhizophora mangle* o “Mangle Rojo”, esto se realizó utilizando una cinta diamétrica a 30 cm por encima de la última raíz aérea donde inicia el fuste, de acuerdo a los criterios de Cintrón y Schaeffer (1985). En cada UMP se eligió 20% del total de los árboles contabilizados, entre árboles jóvenes, maduros y seniles; a estos árboles se estimó la densidad (D), altura total del arbolado (AA), altura del fuste (AF), Área Basal (AB) y la cobertura de copa (CC), utilizando un Hipsómetro Aglof Vertex IV.

En cada UMP se estimó la extracción de madera (EM) por especie, midiendo el (DAP) de los tocones, para conocer el uso de la madera en cada especie, por los pobladores. Expresándose como el (%) la extracción vs el arbolado en pie. También se cuantifico la mortalidad natural (MN), según el DAP de los árboles muertos en pie. Cada UMP se dividió en cuatro cuadrantes de 100m², en cada cuadrante se situaron cinco subcuadrantes de 1x1m, para contabilizar la especie, altura y número de plantas vivas, clasificadas en tres categorías de acuerdo a Tovilla et al (2007): plántulas tipo A (con solo hojas), Tipo B (con ramificación), y C (con raíces aéreas y diámetro <3.0cm), de acuerdo a los criterios de Valdez et al (2002) y Corella et al (2004). En 2009 en cada UMP, se obtuvieron las características fisicoquímicas del suelo en dos estratos 0-30 y 30-60cm. Se cuantificaron los parámetros ambientales: salinidad intersticial (UPS), utilizando un refractómetro, la temperatura (T°C) del suelo y el nivel de inundación. A cada una de las muestras obtenidas en campo se le determinó el contenido de Materia Orgánica (MO%).

Los datos obtenidos en campo se procesaron siguiendo los criterios de Cintrón y Schaeffer (1985) y Corella et al (2004), para obtener la información como:

Índice de Complejidad de Holdridge ICH: para determinar el grado de desarrollo estructural en cada uno de los bosques de mangle.

ICH = (d)(a)(h)(s)/1000 Donde:

Área de copa (m²) = 3.1416r²= DC/2 - Donde:

En cada UMP se estimo para cada especie presente:

d = número de troncos/0.1 ha

s = número de especies

h = altura del rodal (m)

r = radio

DC = diámetro de copa

ICH = Índice de Complejidad de Holdridge

a = área basal (m²/0.1ha)

5 RESULTADOS

En 2009 se establecieron 30 sitios de trabajo (UMP); en 2010 se agregaron 11UMP, en Laguna de Palmarito y El Canal de Chacahua-Los Azufres. Sin embargo, en junio de 2012 debido al paso del Huracán “Carlota”; así como al avance de las actividades agropecuarias, la deforestación y extracción de madera, algunos sitios se dejaron de estudiar, quedando solo 23 UPM, ubicadas en las localidades de: Pastoría (9), Palmarito (2), Corral de Piedra (2), Chacahua (7) y Los Azufres (3) (Figura 1). Se registraron áreas de cultivo y ganadería aledaños y dentro de los manglares en siete UMP (7, 14, 15, 21, 22, 38, 41). A pesar de las restricciones de uso de suelo en el Parque Nacional se observó gran cantidad de actividades antropogénicas como: pesca, extracción de madera, leña, extracción de rocas, arena y gravas. En las poblaciones de Zapotalito, Cerro Hermoso y Chacahua el proceso de urbanización es acelerado asociado al turismo.

En este estudio se registraron cuatro tipos de bosques de mangle (borde, cuenca, ribereño y periféricos) (Cintrón-Schaeffer 1985), así como asociaciones entre las cuatro especies de mangle (*R. mangle*, *L. racemosa*, *A. germinans* y *C. erectus*), las cuales constituyen en todo el sistema bosques monoespecíficos, dominantes y mixtos.

5.1 EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS

Los parámetros del suelo cuantificados en 2009-2010 fueron: la salinidad intersticial, temperatura y el contenido de materia orgánica (Figura 2). La salinidad intersticial registro un promedio en todo el humedal de 29.5UPS, los valores máximos se registraron en la parte Norte de laguna Pastoría con 35-39UPS; posteriormente se ubicó laguna Palmarito con 35-58UPS; finalmente los valores más elevados corresponden al Canal de Chacahua-Los Azufres (61-85UPS). En todos estos sitios *A. germinans* es la especie ampliamente dominante, formando rodales monoespecíficos, ocasionalmente está asociada a *L. racemosa* y *C. erectus*, constituyendo bosques de cuenca y borde de porte bajo (Tabla 1), la temperatura del suelo en todo el sistema lagunar fluctuó entre 24-31°C entre lluvias y secas. En las áreas donde existen ingresos de agua dulce, en el pasado existían bosques

ribereños donde la salinidad intersticial era baja <20UPS, como sucedía en la parte SE de Cerro Hermoso y Los Azufres, aquí existían los bosques mejor desarrollados de *R. mangle* y *L. racemosa*, con alturas de hasta 26m. Posterior a 2010 estos bosques han desaparecido producto de la urbanización y el cambio de uso del suelo.

En el resto del sistema predominan los bosques de borde con la asociación Lr/Rm/Ag y Rm/Lr/Ag/Ce, como sucede en las (UMP 11, 18, 25, 26, 27, 28, 32, 33 y 34), existen bosques periféricos monoespecíficos de *C. erectus* o “botoncillo” en la parte norte de Pastoría, Palmarito y Sur de Chacahua (UMP 5, 15, 16, 30), con salinidades <15UPS.

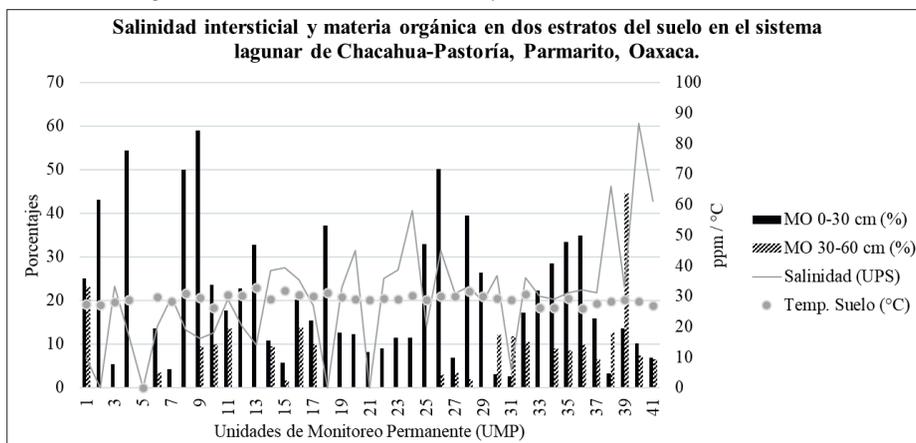
5.2 CONTENIDO DE MATERIA ORGÁNICA (MO)

En 2009 la determinación de la MO en los dos estratos del suelo registro diferencias notables entre el primero (0-30cm) y el segundo (30-60cm) (Figura 2). En el primer estrato, el promedio de MO en el suelo fue de 25.09%; mientras que los valores mínimos registrados varían de 0-3.21% siendo las UMP (5, 30, 31, y 38) sitios situados cercanos a la barra sobre suelos limo-arenosos y emergidos, con presencia de bosques de *A. germinans* y *C. erectus*. Por otro lado, los máximos (50-58%) se encontraron en sitios con abundancia de limo-arcilla sobre suelos inundados y lodosos (UMP 4, 8, 9 y 26), con la asociación Rm y Rm/Lr.

En el segundo estrato (30-60cm) el valor promedio de MO fue de 10.21%, en este estrato hasta 19 UMP no registraron MO, mientras los valores más bajos corresponden a las UMP 15 y 31 en suelos arenosos (1.65 y 1.92%) con buen desarrollo de mangle botoncillo.

La UMP28 presento el contenido más elevado de MO con 44.53% en un bosque de Lr/Rm, caracterizado por suelo con >25cm de inundación y hasta 110cm de lodo, en este mismo sitio, los valores de MO en primer estrato fueron de 39.4%, (Figura 2).

Figura 2. Variación de los factores físico-químicos del suelo entre: 2009-2010.



5.3 ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LOS RODALES DE MANGLE EN EL PRIMER MONITOREO 2009

Se establecieron 30UMP de 400m², para un total de 12,000m²; en estas UMP se midieron un total de 3,577 árboles. Se registraron diferentes tipos de asociaciones: bosques monoespecíficos en estos rodales *A. germinans* (Ag), *R. mangle* (Rm) y *C. erectus* (Ce), una de las especies puede llegar a constituir hasta el 70% del arbolado en el sitio. Bosques dominantes donde *R. mangle*, *A. germinans* y *L. racemosa* pueden constituir hasta el 50% del arbolado, solo dos UMP constituían bosques mixtos con tres especies. Los bosques que presentaron el índice de Complejidad de Holdridge más elevado (49.64 y 50.96), fueron aquellos donde existen tres especies de mangle maduro o senil constituyendo la asociación de Rm/Lr y Rm/Lr/Ag como se observó en las UMP 1, 2 y 28. La densidad promedio (DP) del arbolado de mangle en este sistema durante 2009 fue de 3890 árboles/ha; mientras que la densidad máxima (DM) se ubicó en un rodal juvenil dominado por Ag/Lr con 7762; en un bosque monoespecífico senil de Rm/Lr se registró la densidad mínima (DM) (305 árboles/ha).

La altura del arbolado promedio (AA) en las 30UMP fue de 11.73m, seguido de una altura promedio de fuste (AF) de 6.66m, la mayor y menor altura se registró en las UMP 1 y 27 (19.21 y 7.81m). El DAP promedio en este monitoreo fue de 8.47cm; mientras que el DAP máximo y mínimo fueron de 17.28 y 2.24m en las UMP 3 y 21, que corresponden con asociaciones de Rm/Lr (Tabla 1).

Las mayores y menores áreas basales (AB) se registraron en los rodales UMP 15 y 19 con 46.07 y 13.69 m²/ha, estos rodales se encuentran alejados de las comunidades humanas, están constituidos por un bosque maduro y juvenil de *R. mangle* y *L. racemosa*. El AB promedio fue de 24.37m²/ha; mientras cinco UMP registraron AB mayores a 30m²/ha, constituidos por bosques dominantes (Rm/Lr), monoespecíficos (Ag, Rm) y mixtos (Rm, Lr). Siete UMP presentan AB >20m²/ha. Así mismo, otras siete UMP tenían AB >10m²/ha, estas últimas las hace más susceptible a la extracción de madera por su grosor. La cobertura de copa (CC) promedio fue de 16.70 m², con una CC máxima y mínima de 46.41 y 1.86 m² en rodales maduros y juveniles de Rm/Lr. En *R. mangle* se estimó la altura promedio de raíz aérea o fúlcrea en 1.8m, (Tabla 1).

Tabla 1. Estructura del manglar en el sistema de Chacahua-Pastoria-Palmarito en Oaxaca en 2009.

UMP	Asociación	Altura Rodal m	Altura Fuste m	DAP cm	Área Basal m ² /ha	Cobertura m ²
1	Rm/Lr	17.11	12.04	10.28	39.29	46.41
2	Rm/Lr	20.99	11.81	9.74	33.72	34.62

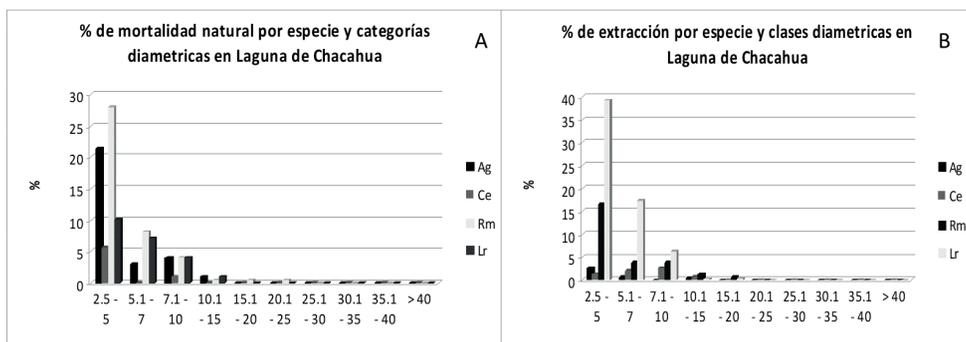
3	Ag	14.45	6.82	17.28	31.04	39.9
4	Rm/Lr/Ag/Ce	9.47	5.78	5.01	17.88	43.73
5	Rm	16.1	9.91	14	26.46	29.74
6	Ag/Ce	10.03	6.91	9.82	36.49	15.23
7	Rm	13.7	8.6	9.09	31.10	18.12
8	Rm/Ag/Lr	11	6.26	6.2	16.46	5.44
9	Ag	12.04	6.5	8.98	24.38	15.94
10	Ce	12.04	8.16	8.1	14.67	10.31
11	Ce	10.69	6.41	4.64	18.37	2.82
12	Ag	9.33	5.18	6.44	17.38	6.975
13	Rm/Ag/Lr	11.47	7.83	7.01	20.68	5.516
14	Rm	12.73	8.19	9	24.53	22.38
15	Rm/Lr	16.02	10.2	10.95	46.07	26.56
16	Ag	8.7	5.88	6.12	17.95	11.26
17	Rm/Lr	13.99	9.21	7.5	22.40	13.34
18	Rm/Lr/Ag	10.45	7.78	3.76	29.04	5.01
19	Rm/Lr	10.01	7.46	4.46	13.64	5.16
20	Rm	15.71	10.64	10.7	24.48	17.33
21	Rm/Lr	11.19	9.3	2.24	18.50	1.86
22	Rm	10.45	7.94	8.43	22.87	11.89
23	Rm	10.5	6.93	12.4	19.08	26.97
24	Rm	11.65	7.83	12.71	30.57	20.5
25	Rm/Lr	8.45	6.42	8.48	17.27	13.36
26	Ag	8.77	5.02	8.74	22.77	10.02
27	Ag/Lr	7.81	5.71	4.93	17.76	5.33
28	Rm/Ag/Lr	9.2	5.23	6.02	19.64	3.881
29	Ce	9.2	6.5	7.9	16.06	5.98
30	Rm	10.32	4.48	13.3	40.28	25.42
	Promedio	11.79	7.56	8.47	24.37	16.70

5.4 MORTALIDAD NATURAL Y NIVELES DE EXTRACCIÓN DE MADERA EN LOS BOSQUES EN 2009

Los valores más altos de la mortalidad natural (MN) se encontraron en la UMP 11 (19.7%), en Laguna de Chacahua, mientras que los registros más bajos (1.7 %) corresponde a la UMP 10 y 13. La MN es un fenómeno que permite eliminar a los individuos más débiles y plagados por el viento, incluso ganar espacio dentro del bosque, a fin de acceder con

mayor facilidad a la luz y nutrientes del suelo. *R. mangle* es la especie con la >MN con 41.6% distribuidas en las clases diamétricas de 2.5-15cm, para las mismas clases *A. germinans* con un 29.4%, *L. racemosa* obtuvo un 22.3%; mientras que *C. erectus* solo registró 6.6% (Figura 3). El nivel de extracción de madera en este humedal registró un promedio de 7.5%, siendo en la UMP 30 con el valor más alto (51.3%) en Chacahua-El Azufre y el más bajo (1.5%) en las (UMP27 y 28). En la mayoría de las UMP se registró extracción de madera (Figura 3). *L. racemosa* es la especie más extraída (63.47%) en las clases diamétricas de 2.5-10cm, seguida de *R. mangle* con (26.06%), en menor proporción *C. erectus* y *A. germinans* (6.68 y 3.79%).

Figura 3. Mortalidad (A) y extracción de madera (B) por especie de mangle en los bosques del Parque Nacional de Chacahua, Oaxaca en 2009.



5.5 REGENERACIÓN DE LOS BOSQUES DE MANGLE

La regeneración es un proceso que permite la recuperación de la mortalidad en los bosques, además de fortalecer el acervo genético de los rodales. Se registró regeneración en las cuatro especies de mangle. Del total de plántula de mangle en los rodales un 87.1% estaban vivas y 12.9% muertas. De las plántulas vivas 86.6% se clasificaron como Tipo A, es decir solo presentaban hojas y una altura promedio de 25.0cm; el 7.9% correspondieron a plántulas Tipo B, con presencia de ramificación y una altura de 73.7cm. Mientras que el 5% fueron Tipo C, con inicio de formación de raíces fúlcreas y altura de 87.7cm. La especie que registró mayor regeneración en los rodales fue *C. erectus* (35.7%), seguida de *R. mangle* y *L. racemosa* (26.7 y 13.3%); mientras que *A. germinans* solo 11%.

5.6 CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LOS RODALES EN LAGUNA PALMARITO Y CANAL DEL AZUFRE EN 2010

Se establecieron 11UMP en una extensión de 4,400m², seis en Palmarito (19, 20, 21, 22, 23 y 24), una en Canal Corral de Piedra (UMP 25), una (UMP32) frente al poblado de Chacahua y 3 (UMP 37,38 y 39) en el Canal Chacahua-Azufre, con 1,393 árboles

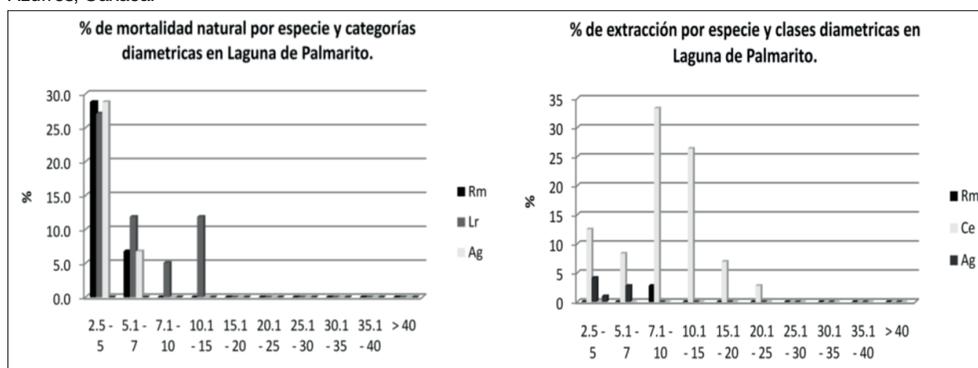
medidos en las 11UMP. En laguna Palmarito posterior al Huracán “Carlota” en 2012 solo dos (UMP21 y 22) quedaron funcionales (Tabla 2). En este sistema *A. germinans* aparece en los sitios menos inundados y en el estiaje quedan totalmente secos, en la parte más elevada de esta asociación aparece *C. erectus*, con *L. racemosa* en las áreas ligeramente inundadas. *R. mangle* es menos abundante, debido a la elevada salinidad. Se registraron 2UMP (21 y 22) con rodales monoespecíficos, dominados por *C. erectus*, seguida *L. racemosa* y *A. germinans*. Estos datos indican que *C. erectus*, *A. germinans* y *L. racemosa*, son las especies ampliamente dominantes en esta laguna. La densidad promedio en las 11UMP estudiadas fue de 4641 Ind/ha; con una densidad máxima y mínima en las UMP 32 y 22 (9833 y 767 Ind/ha). Los bosques con el Índice de Complejidad de Holdridge más elevados fueron aquellos donde existen tres especies asociadas, como en la UMP (19) (90.78) ubicada en las inmediaciones de Lagartero; mientras que en las UM 37, 38 y 39, ubicados en Laguna de Chacahua- Canal de los Azufres se registraron los valores más bajos (10.04), mientras que el valor promedio total del ICH fue de 40.07 (Tabla 2). Los parámetros promedio estimados en las 11UMP indican que la altura del arbolado y fuste promedio fueron de 11.34 y 6.23m; mientras que el DAP (8.30 cm) y la cobertura arbórea fue de 11.36m². Finalmente, el AB promedio fue de 33.96 m²ha, con un sitio (19) con el mayor valor (52.79m²ha), ampliamente dominado por *R. mangle*; el AB menor se presentó en la UMP 39 (9.89m²ha) dominada por un rodal monoespecífico de *A. germinans* (Tabla 2). En los sitios con presencia de *R. mangle* la altura de raíz promedio fue de 1.4m.

Tabla 2. Estructura del manglar en laguna de Palmarito Oaxaca en 2010

UMP	Asociación	A. Rodal m	A. Fuste m	Dap cm	Área Basal m ² /ha	Cobertura m ²
19	Rm/Lr/Ag	10.9	6.72	7.93	52.79	9.36
20	Rm/Lr/Ag	9.64	7.07	5.98	34.95	5.52
21	Ag/Ce	9.99	6.62	9.69	39.45	20.61
22	Ag/Ce	23.03	6.02	19.77	36.98	13.29
23	Rm/Lr/Ce	10.02	7.31	9.59	45.62	31.07
24	Lr/Ag/Ce	13.09	7.08	7.28	32.72	14.35
25	Rm/Lr	10.21	5.79	4.82	28.22	3.67
32	Rm/Lr	13.17	9.44	6.72	14.97	4.82
37	Ag/Lr	10.21	5.79	4.82	28.22	4.82
38	Ag	5.4	2.56	3.87	9.89	2.67
39	Ag	9.09	4.11	10.8	49.77	14.75
Promedio		11.34	6.23	8.30	33.96	11.36

En estos bosques se registró la mayor mortalidad natural (MN) solo en tres especies (*R. mangle*, *L. racemosa* y *A. germinans*), este fenómeno afecta principalmente a la primera categoría diamétrica con valores > 25%; seguida de la segunda categoría con un promedio de 7% para las tres especies, sobresaliendo *L. racemosa* con el 12% de MN, en los árboles 7.1 a 10.1cm, es notable que este fenómeno solo afecta a *L. racemosa* (Figura 4A). Por el contrario, en el caso de la extracción de madera (EM) es extraordinario el nivel de EM realizado sobre *C. erectus*, por lo menos en seis clases diamétricas (2.5-20.1cm), sobresaliendo las clases diamétricas de mayor explotación por los habitantes, utilizadas para postes y horcones (7.1 a 10.1cm) (Figura 4 B).

Figura 4. Mortalidad natural (A) y extracción de madera (B) en el sistema lagunar Palmarito-Canal Chacahua-Los Azufres, Oaxaca.



5.7 REGENERACIÓN EN LOS BOSQUES DE MANGLE DE LAGUNA PALMARITO

Del total de plántulas de todas las especies el 99% de plántulas estaban vivas vs. 1% muerta. 96% de las plántulas vivas eran de Tipo A, con altura promedio de 24.1cm; el 4% correspondió a plántulas Tipo B, con (72.2cm) de altura. No se registraron plántulas Tipo C en ninguno de los sitios.

5.8 ESTRUCTURA Y COMPOSICIÓN DE LOS RODALES DE MANGLE EN EL MONITOREO DE 2012

Para el año de 2012 posterior al paso del Huracán “Carlota” se observaron cambios muy significativos en la estructura de los rodales, debido al impacto del meteoro sobre 21UMP. El monitoreo se realizó septiembre sobre 30UMP, en un área total de 12,000m² se contabilizaron un total de 4010 árboles; adicionalmente hubo 366 árboles de *R. mangle* derribados, derramados o inclinados, 297 de *L. racemosa* inclinados/derramados, 161 árboles de *A. germinans* derramados y 36 de *C. erectus* inclinados por el meteoro, cuatro meses posterior al paso del huracán. Los bosques estaban compuestos

en un 32.4 % por rodales de *A. germinans*. 9UMP estaban clasificados como bosques monoespecíficos, establecidos sobre suelos más altos y consolidados, mientras que otras 16UMP constituyen bosques dominantes y ocho corresponden a bosques mixtos (Tabla 3). *L. racemosa* aparece en un 27.1 % en todo el sistema, con siete bosques mixtos y dos dominantes. Con el 23.4% del arbolado aparece *R. mangle*, con cuatro bosques monoespecíficos que crecen sobre suelos bajos e inestables, dos bosques dominantes y cinco mixtos. Por último, aparece *C. erectus* con 17.1% del arbolado: con dos bosques monoespecíficos, dos mixtos y uno dominante. La densidad promedio (DP) durante 2012 fue de 2873 árboles/ha. El Índice de Complejidad de Holdridge (ICH) promedio fue de 28.7; los valores más elevados del ICH corresponden a bosques dominantes y monoespecíficos de Ag/Lr y Ce/Lr/Ag (83.49 y 87.79), ubicados en las UMP 39 y 15, en el canal Los Azufres y la parte Norte de Pastoría. Por el contrario, los valores mínimos (1.30) se ubicaron en un bosque maduro monoespecífico de *C. erectus* en Pastoría (Figura 1).

La AA y AF promedio del arbolado en el sistema fue de 12.8 y 7.7 m, siendo mayor la AA cuantificada en laguna de Pastoría vs. Chacahua (12.9 y 11.2m). En las UMP 1 y 2 fue donde se registraron las mayores AA (19.20 y 16.31m) en bosques ribereños de Rm/Lr (Tabla 3); por el contrario, el rodal más bajo se ubicó en UMP 38 con solo 4.6m en un sitio dominado por *A. germinans*. En DAP promedio en todo el sistema fue de 9.6cm, con los fustes más gruesos en la UMP 7 (18.76cm); el valor mínimo correspondió a la UMP 38 con 4.87cm. El área AB promedio en todo el sistema fue de 23.09m²/ha, así mismo los máximos/mínimos valores corresponden a rodales constituidos por *A. germinans* (40.23 y 11.31 m²/ha). La cobertura de copa (CC) promedio en este sistema de humedal fue de 13.43 m²; mientras que el valor más alto (43.82 m²) se registró en bosques dominantes de Rm/Lr (UMP 1). Los valores mínimos de CC corresponden a dos bosques dominantes y monoespecíficos de borde en las UMP 32 y 38 (2.57 y 2.62 m²) constituidos por Rm/Lr y Ag, ambos casos son rodales juveniles (Tabla 3). *C. erectus* fue la especie ubicada en áreas de menor inundación, aun cuando el año 2012 fue lluvioso, los rodales de esta especie se ubican asociadas con la halófito *Batis marítima*.

Tabla 3. Estructura del manglar en laguna Chacahua-Pastoría-Palmarito, Oaxaca en 2012.

UMP	Asociación	A. Rodal m	A. fuste m	DAP cm	A. Basal m ² /ha	Cobertura m ²
1	Rm/Lr	16.34	10.08	11.32	40.01	43.82
2	Rm/Lr	19.21	9.46	10.18	30.24	31.54
4	Rm/Lr/Ag	9.45	5.08	5.59	13.22	9.15
5	Rm/Lr/Ag	8.12	4.76	5.21	16.92	8.05

7	Ag/Lr/Rm	14.17	4.79	18.76	29.16	28.96
10	Rm	17.17	8.76	10.71	24.15	27.18
11	Ce/Lr/Ag	9.02	4.14	6	15.43	4.52
13	Rm/Lr	15.11	9.85	13.81	22.93	10.79
14	Ag/Lr	9.6	4.17	6.87	17.89	12.08
15	Ce	11.2	7.59	8.9	12.88	3.75
16	Ce	12.67	8.13	9.91	15.93	4.06
17	Ag	8.95	4.12	9.23	19.87	6.74
18	Rm/Lr	10.45	5.12	10.9	20.34	25.66
21	Ag/Ce	14.24	4.89	10.1	31.72	20.71
22	Ag/Ce	16.25	5.42	17	30.63	23.19
23	Ag/Lr/Rm	8.01	4.25	6.45	15.21	6.74
24	Ag/Lr/Rm	10.12	5.07	11.21	40.23	15.93
25	Rm/Lr/Ag	10.25	6.11	8.37	13.45	11.06
26	Rm/Lr/Ag	9.85	5.73	9.99	20.54	4.14
27	Rm/Lr	12.1	7.72	5.3	20.54	4.02
28	Rm/Lr	12.3	8.69	5.92	24.88	3.08
29	Rm	17.7	9.35	12.5	30.46	11.33
30	Rm/Lr	12.3	8.12	5.3	24.88	3.08
31	Ce	10.4	5.18	8.06	20.31	9.46
32	Rm/Lr	12.03	7.85	8.94	13.55	2.57
33	Rm	13.89	8.89	13.44	35.46	28.75
34	Rm/Lr	14.36	6.23	12.64	31.65	21.46
37	Ag/Lr	9.22	3.96	8.54	25.87	7.34
38	Ag	6.69	3.05	5.66	11.31	4.36
39	Ag/Lr	10.3	4.37	10.14	23.11	9.24
	Promedio	12.05	6.36	9.57	23.09	13.43

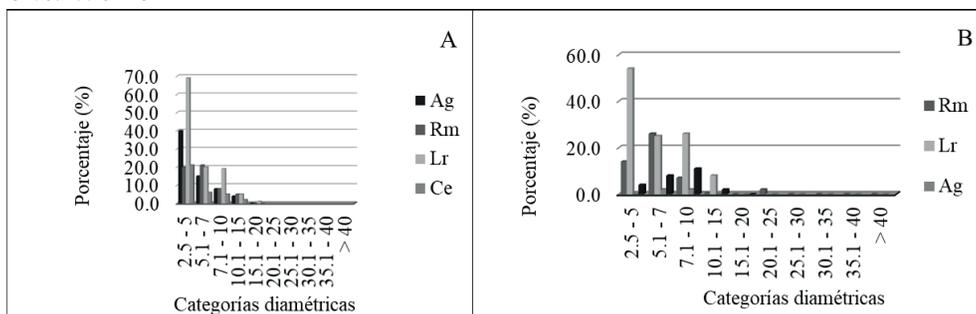
5.9 MORTALIDAD NATURAL Y EXTRACCIÓN EN LOS MANGLARES DEL SISTEMA LAGUNAR EN 2012

En este sistema lagunar la mayor MN se registró en el arbolado juvenil en la clase (2.5-5cm) con el 55.8% del arbolado muerto; posteriormente se ubicaron las categorías (7.1-10 y 10.1-15 cm) con el 23 y 14.9 % del arbolado. Por especie *L. racemosa* y *A. germinans* fueron las que registraron mayor mortalidad para la primera clase diamétrica con 69.0 %, seguida de *R. mangle* y *C. erectus* con 40.0 %. En la segunda clase diamétrica (5.1-7cm) *R.*

mangle y *L. racemosa* presentaron la mayor mortalidad en los bosques con (21.0 y 20%), seguida de *A. germinans* y *C. erectus* con 15.0 y 6 %. (Figura 5A).

La extracción de madera (EM) se realiza principalmente sobre el arbolado con diámetros de 2.5-5 cm, en esta clase se registró hasta un 37.5 % de la EM, seguida de la clase de 5.1-7 cm con un 31.8 %, posteriormente se ubica la clase de 7.1-10 con el 24.0 % (Figura 5B). La especie *L. racemosa* presentó en la categoría 2.5-5 cm la mayor EM con el 54.0 %, seguida de *R. mangle* (14.0 %). Mientras que en la clase de 5.1-7 cm se registró a *R. mangle* y *L. racemosa* con el 26.0 % y 25.0 %, respectivamente, siendo *A. germinans* la especie menos explotada (8.0 %). En la clase diamétrica 7.1-10 cm *L. racemosa* fue la especie con mayor explotación (26.0 %), (Figura 5B).

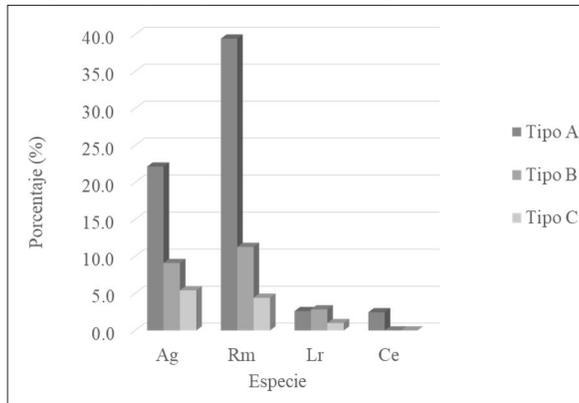
Figura 5. Mortalidad natural (A) y extracción de madera (B) en los rodales del Parque Nacional Lagunas de Chacahua en 2012.



5.10 REGENERACIÓN EN LOS MANGLARES DE CHACAHUA-PASTORÍA-PALMARITO EN 2012

Del total de plántulas registradas en las UMP (1787 plántulas/ha), el 91.5% vivas y 8.5 % muertas en laguna Pastoría; mientras que en Chacahua (2008) la proporción fue de 90/10 %, mientras que en Palmarito se registró 1057 plántulas/ha (91 y 9%) vivas/muertas. Del total de plántulas contabilizadas un 65.9 % se clasificaron como tipo A con 46.0 cm de altura; el 23.3 % eran tipo B, con una altura de 87.4 cm; finalmente las plántulas tipo C, solo representan el 10.9% del total con la mayor altura (130cm) (Figura 6). La altura de las plántulas varía de acuerdo a las condiciones ambientales en cada rodal. *R. mangle* y *A. germinans* contabilizaron el mayor número de plántulas tipo A con el 39.5 y 22.2%; las plántulas tipo B de *R. mangle* y *A. germinans* constituyen el 11.3 y 9.1%, de las plántulas en este sistema lagunar. La menor abundancia corresponde a las plántulas tipo C, en las tres especies (Figura 6).

Figura 6. Porcentaje de regeneración por especie en el sistema lagunar Chacahua-Pastoría-Palmarito, Oaxaca.



5.11 CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LOS MANGLARES EN EL SISTEMA CHACAHUA-PASTORÍA-PALMARITO EN 2014

Se midieron 23UMP que comprende una extensión de 9600m², donde se contabilizaron 4125 árboles, equivalente 94.4 % de árboles en pie vivos y 5.5% muertos. En los bosques de este humedal se registró un Índice de Complejidad de Holdridge promedio de 17.06. Las 27 y 28UMP registraron el mayor ICH (61.38 y 59.74). Por el contrario, la 29UMP registró el menor ICH (1.96). La densidad promedio del arbolado durante este monitoreo fue de 2694 árboles/ha, la densidad mayor se obtuvo en las UMP 15 y 27 (5038 y 7688 árboles/ha) en bosques monoespecíficos de Ce/Lr y Lr/Rm; mientras que la densidad mínima se registró en dos bosques maduros de Ag/Ce (22) y Ag/Lr/Rm (7) con (667 y 488 árboles/ha) en Palmarito y Pastoría.

La altura promedio (AA) fue de 11.58m; así mismo las mayores alturas corresponden a las UMP 10, 28 y 13 (17.32-16.05m). Por el contrario, la 38UMP registró la menor altura con 6.84m. La altura de fuste promedio fue de 6.19m; con los fustes más notables en las UMP 28 y13 (10.34 y 10.01m), en bosques maduros y seniles de Lr/Rm, Rm/Lr y Rm. Así mismo los valores más bajos se ubican en las (UMP 38 y 14) (3.78 y 3.99m) en bosques juveniles y maduros de Ag y Ag/Lr (Tabla 4). En este monitoreo se registró la condición de los fustes de cada árbol: 35.1% de los árboles eran rectos, 36.5 % semirrectos y el 28.4 % presentaron un fuste chueco.

El DAP promedio en este monitoreo fue de 10.71cm; el máximo valor para este atributo fue de 18.94cm en un bosque maduro de Ag/Lr/Rm en la UMP7. Mientras que varias UMP (5, 11, 25, 28), registraron valores intermedios (7.33-7.94cm), en rodales constituidos por Ag, Ag/Ce/Lr y Lr/Rm. El AB promedio del arbolado fue de 21.96m²/ha, con el máximo en la UMP33 (36.17m²/ha) correspondiente a un bosque senil de *R. mangle*;

mientras que el valor más bajo se midió en la UMP 38 (9.93m²) en un bosque juvenil de *A. germinans*. El AB encontrada en cada especie depende en gran medida del número de sitios muestreados donde aparece con mayor frecuencia cada especie.

La Cobertura de copa (CC) promedio fue de 12.35m², y los mayores valores en las UMP 10 y 18 (28.05 y 23.48m²) en bosques seniles de Rm y Rm/Lr. El valor mínimo se registró en un rodal juvenil de Rm/Lr en la UMP32 (2.97m²) (Tabla 4).

Tabla 4. Estructura del manglar en laguna Chacahua-Pastoría-Palmarito, Oaxaca en 2014.

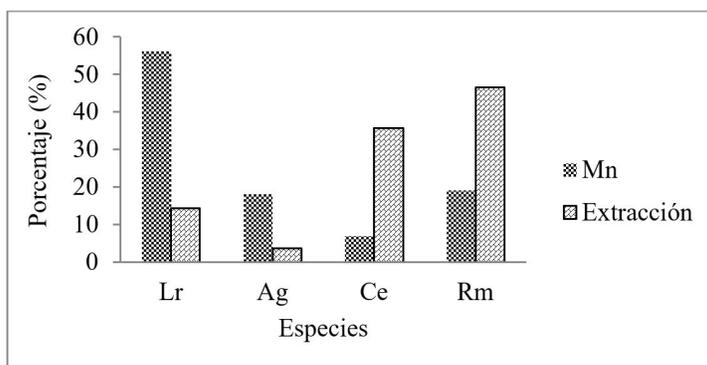
UMP	Asociación	A. Rodal	A. Fuste	Dap	Área Basal	Cobertura
5	Rm/Lr/Ag	8.79	4.21	6.33	15.23	9.02
7	Ag/Lr/Rm	11.83	4.95	18.94	25.19	22.64
10	Rm	16.87	8.95	11.09	26.73	28.05
11	Ag/Ce/Lr	9.37	4.37	7.03	14.94	4.42
13	Rm/Lr	14.95	9.46	14.11	25.43	12.43
14	Ag/Lr	9.22	4.14	7.24	16.47	12.45
15	Ce	11.55	7.29	9.14	13.01	3.51
17	Ag	8.72	4.03	8.89	18.09	7.37
18	Rm/Lr	10.21	5.31	11.56	19.75	23.48
21	Ag/Ce	12.57	4.24	10.05	30.74	19.44
22	Ag/Ce	15.45	5.56	14.56	27.65	23.95
25	Lr/Rm/Ag	10.56	5.87	7.94	13.86	9.81
26	Rm/Lr/Ag	9.13	5.21	9.31	17.67	5.06
27	Lr/Rm	12.56	8.24	8.71	22.31	4.65
28	Lr/Rm	13.02	9.31	7.22	27.68	3.75
29	Rm	16.92	9.02	12.31	32.13	11.75
31	Ce	10.67	5.35	8.34	18.13	9.84
32	Rm/Lr	12.93	7.98	9.77	15.06	2.97
33	Rm	12.15	8.26	11.98	36.17	25.42
34	Rm/Lr	10.98	5.93	10.52	26.99	20.96
37	Ag/Lr	9.82	4.03	8.91	24.04	7.85
38	Ag	7.63	3.11	7.06	12.38	5.18
39	Ag/Lr	10.41	4.08	10.95	24.13	9.95
	Promedio	11.58	6.04	10.09	21.90	12.35

5.12 MORTALIDAD NATURAL Y EXTRACCIÓN DE MADERA EN LOS RODALES DE MANGLE EN LAGUNA CHACAHUA-PASTORÍA-PALMARITO EN 2014

Durante el monitoreo de 2014, se observó mortalidad en 20UMP, la mayor mortalidad se registró en el arbolado de *L. racemosa* con un 57%, posteriormente se ubicaron *R. mangle* y *A. germinans* con 19 y 18%; finalmente la menor mortalidad se registró en *C. erectus* con 6%, en *C. erectus* la mortalidad se presenta en la primera clase diamétrica (4.18cm); mientras que en Rm, Lr y Ag la mortalidad afectó principalmente a la segunda clase (5.5cm). Mucho del arbolado muerto fue producto de la presencia de insectos descortezadores, como se observó en algunos árboles de *L. racemosa* y *A. germinans*; mientras que en *R. mangle* y *C. erectus* este factor estuvo asociado a la presencia de rayos y el viento (Figura 7).

La extracción de madera (EM), se cuantificó en 13 rodales estudiados. En *R. mangle*, *L. racemosa*, y *A. germinans* afecta en un 97% al arbolado más juvenil (4.68cm), mientras que en *C. erectus* la EM afecta en 98% a la tercera clase diamétrica (9.92cm), el uso más común de la madera de mangle es como postes en la construcción de palapas y casa-habitación en las comunidades de Zapotalito, Cerro Hermoso y Chacahua y otras cinco comunidades aledañas (Figura 7).

Figura 7. Porcentaje de mortalidad natural y extracción de madera en laguna Chacahua-Pastoría-Palmarito, Oaxaca.



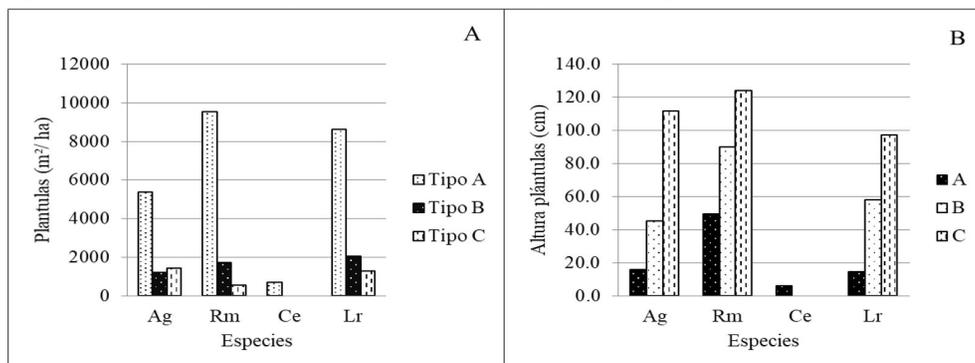
5.13 REGENERACIÓN NATURAL EN LOS MANGLARES DEL SISTEMA DE HUMEDAL

Todas las especies de mangles tienen una elevada capacidad reproductiva, dependiendo del establecimiento de los propágulos y semillas por el efecto de la marea, que los distribuye dentro y fuera de los rodales, siempre y cuando encuentren condiciones favorables. Se registró una regeneración de los bosques de mangle en 20 de las 23UMP estudiadas. Las plántulas tipo A constituyen un 74.5 % de la regeneración, con una altura

promedio de 21.7 cm, seguidas de las plántulas tipo B y C con (15.4 y 10.1%), sin embargo, estas últimas, fueron las que registraron una mayor altura en los bosques (83.7 cm).

De acuerdo a los registros en 2014 *R. mangle* fue la especie con mayor densidad de plántulas tipo A (9525 plántulas/ha) con una altura promedio de 49.6 cm; *L. racemosa* registró 8625 plántulas/ha, con 14.8cm; *A. germinans* registró 5375 plántulas/ha, con 16.0 cm; por último *C. erectus* es la especie con la menor densidad (725 plántulas/ha), con una altura de 6.2 cm. Por el contrario, las plántulas tipo B registraron densidades para las mismas especies de 1225, 1725 y 2050 plántulas/ha, con una altura de: 45.3, 90.0 y 58.1 cm. Las plántulas tipo C registraron menor densidad en comparación con el resto de las especies, sin embargo, fueron las que presentaron mejor desarrollo en altura (figura 8AB). Las densidades de plantas en los brinzales (<2.5 cm de DAP y >1.30 m altura) fueron notablemente desarrolladas, particularmente en *A. germinans* la cual registró un total de 3025 plantas m²/ha, con una altura de 2.5 m y un diámetro de 1.6 cm. En contraste *L. racemosa* y *R. mangle* registraron menores densidades (1775 y 1750 plantas m²/ha), con alturas de 4.0 y 3.7 m, con diámetros de 1.2 y 1.1 cm, (Figura 8A y B).

Figura 8. Densidad (A) y altura de plántulas (B) de las cuatro especies de mangle en el sistema de humedal, Oaxaca.



5.14 CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES DE LOS MANGLARES EN EL SISTEMA CHACAHUA-PASTORÍA-PALMARITO EN 2017

Para obtener datos de la estructura forestal del sistema en 2017, se midieron en un área de 9600m² un total de 2810 árboles (Tabla 5). La especie que registró mayor densidad fue *L. racemosa* con 10,075 individuos/hectárea (UMP 27), seguida de *A. germinans* con 8,600 individuos/hectárea (UMP 38). Así como la densidad mínima con 600 individuos/hectárea correspondió a *C. erectus*. La densidad promedio del arbolado en el humedal fue de 1673 individuos/ha, contabilizando los valores máximos (5375 y 4200 individuos/ha) en las UMP 27 y 32, ambas constituidas por la asociación Lr/Rm y Rm/Lr. En el lado

opuesto se registró la mínima en las UMP 15 y 22 (225, 313 Ind/ha), en un bosque juvenil de Ce/Ag en Pastoría y un bosque maduro en Palmarito de Ag/Ce.

La altura del arbolado (AA) registró un promedio de 11.71m, y en las UMP 10 y 29 se registró las mayores alturas (15.94 y 15.79m), posteriormente se ubican otras cuatro UMP con alturas ligeramente <15m, en bosque monoespecíficos de Rm/Lr. Los bosques donde se registró la menor altura AA corresponden a un bosque maduro (Ag/Lr) y otro juvenil de *A. germinans* con 7.95 y 7.92m (Tabla 5). La AF registró un promedio de 6.01m; siendo la UMP 28 (Lr/Rm donde el fuste fue más alto (1043m), otras tres UMP, registraron valores menores a <10m.

El DAP promedio en 2017 para este humedal fue de 10.30cm; mientras que los fustes más gruesos se ubicaron (UMP 7, 13 y 22), constituidas por tres bosques seniles, constituidos por bosques monoespecíficos de Rm, Rm/Lr y Ag/Ce, cuyos valores fluctúan entre 14.97-14.21cm. El rodal con el fuste más delgado comprende un bosque en primera etapa de madurez (UMP 11), con la asociación: Ag/Ce/Lr, el DAP en este rodal fue de 6.75cm (Tabla 5).

El área basal (AB) promedio para el sistema fue de 490.14 m²/ha, que corresponden a la suma del AB de cada una de las UMP evaluadas. El AB promedio fue de 21.31 m²/ha, con el valor mayor en la UMP 33, constituidas por un bosque senil de Rm/Lr (33.25 m²/ha); por el contrario la UMP14 ocupada por un bosque en primera madurez con la asociación Ag/Lr presentó AB 11.37m²/ha. Finalmente, la Cobertura de copa (CC) promedio fue de 10.95m², con la CC máxima en la UMP10 constituida por un bosque maduro de Rm/Lr con 24.76 m² los valores mínimos de este atributo se contabilizaron en la UMP 15 y 32 (3.92 y 3.89 m²) constituida por bosques en primera madurez de *C. erectus* y Rm/Lr en laguna de Pastoría y Chacahua (Tabla 5).

Tabla 5. Estructuras del manglar en el sistema Chacahua-Pastoría-Palmarito, Oaxaca en 2017.

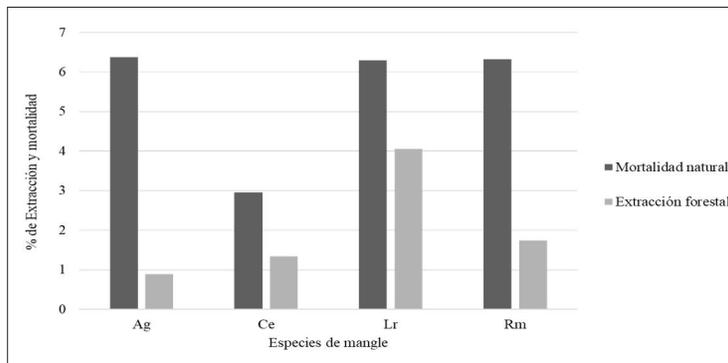
UMP	Asociación	A. Rodal m	A. Fuste m	DAP cm	A. Basal Ind/ha	Cobertura m ²
5	Ag/Lr/Rm	8.92	4.32	8.2	16.58	8.68
7	Ag/Lr/Rm	10.23	4.36	14.97	21.61	17.44
10	Rm	15.94	9.07	10.95	26.02	24.76
11	Ag/Ce/Lr	8.95	4.19	6.75	14.79	5.13
13	Rm/Lr	13.93	9.75	14.79	27.21	12.89
14	Ag/Lr	8.84	3.25	7.89	11.37	10.25
15	Ce	11.64	8.67	10.22	14.31	3.92
17	Ag/Lr	7.95	3.57	7.79	17.65	7.11

18	Rm/Lr	10.25	5.38	11.25	17.63	19.69
21	Ag/Ce	12.09	4.09	9.98	27.65	16.89
22	Ag/Ce	14.4	5.15	14.21	24.89	23.57
25	Lr/Rm/Ag	9.21	5.73	7.61	13.24	7.17
26	Rm	8.67	4.63	8.45	15.36	4.96
27	Lr/Rm	13.89	9.45	9.68	25.68	4.82
28	Lr/Rm	14.08	10.43	10.04	29.75	4.15
29	Rm	15.79	8.64	12.15	30.47	10.98
31	Ce	9.81	5.03	7.95	17.55	8.63
32	Rm/Lr	13.74	7.31	10.82	19.56	3.89
33	Rm/Lr	12.26	7.69	13.16	33.25	17.04
34	Rm/Lr	10.45	5.13	10.04	25.79	16.14
37	Ag/Lr	9.96	4.06	10.04	25.46	9.32
38	Ag	7.92	3.91	8.69	13.26	5.79
39	Ag/Lr	10.53	4.35	11.26	21.06	8.86
	Promedio	11.28	6.01	10.30	21.31	10.95

5.15 MORTALIDAD NATURAL Y EXTRACCIÓN DE MADERA EN EL PARQUE NACIONAL LAGUNAS DE CHACAHUA, OAXACA EN 2017

La mortalidad natural (MN) afectó al 22% del total de UMP evaluadas; en 19 UMP se observó mortalidad a consecuencia plagas como descortezadores y nematodos, incluso por eventos naturales como rayos, el paso de huracanes que han azotado la zona costera en los últimos años: “Manuel”, “Carlota”, esta MN ha impactado a las tres especies de mangle, en *L. racemosa* se registró un 6.4%; mientras que en *R. mangle* y *A. germinans*) se registró un 6.2% de afectación sobre el arbolado maduro y viejo, siendo *C. erectus*, la especie que presenta una menor MN (2.9%) (Figura 9). En este humedal el porcentaje de extracción de madera (EM) se registró en 11UMP (8%), *L. racemosa* fue la especie con la mayor EM (4.3%), seguida por *R. mangle* y *C. erectus* con diferencias mínimas (1.9 y 1.4%), en el caso de *A. germinans* la EM fue 0.8%, este valor mínimo registrado en el mangle botoncillo, es consecuencia de la excesiva EM observada en los últimos 20 años (Figura 9). En la actualidad todos los rodales de *L. racemosa*, *C. erectus* y *R. mangle* aledaños a las comunidades, están ampliamente sobreexplotados.

Figura 9. Porcentaje de mortalidad natural y extracción de madera en las especies de mangle en el humedal para 2017.



5.16 REGENERACIÓN NATURAL (RN)

Se registró RN en 16UMP, con un promedio de 12,587plántulas/ha; *R. mangle* es la especie con la mayor densidad con 24,348 plántulas/ha, seguida de *A. germinans* con 14,522 plántulas/ha, siendo *C. erectus* y *L. racemosa* donde la densidad de plántulas en los rodales fue menor (6002 y 5,478), (Tabla 6). Estas cantidades son muy bajas tomando en cuenta los valores en años anteriores, adicional a que el monitoreo se realizó en abril en plena época de estiaje, donde la proporción de plántulas vivas/muertas fue de 58/42%. En *R. mangle* las plántulas tipo A fueron abundantes, muy por abajo se situaron las otras especies, *L. racemosa* solo se registraron plántulas en 3 sitios. Las Tipo B, fueron numerosas en *A. germinans*. *R. mangle* registró un 48.37% del total de plántulas en los bosques; seguida de *A. germinans* (28.84%); mientras que *C. erectus* y *L. racemosa* solo constituyen (11.91 y 10.88%) de las plantas en los rodales.

Tabla 6. Regeneración de plántulas en el sistema de humedal Chacahua-Pastoria-Palmarito.

Especie	A	B	C	No. Plántulas	Plántulas/ha
<i>A. germinans</i>	56	106	5	167	14,522
<i>C. erectus</i>	64	5	0	69	6,002
<i>L. racemosa</i>	16	34	13	63	5,478
<i>R. mangle</i>	248	11	21	280	24,348
			Total	579	12,587

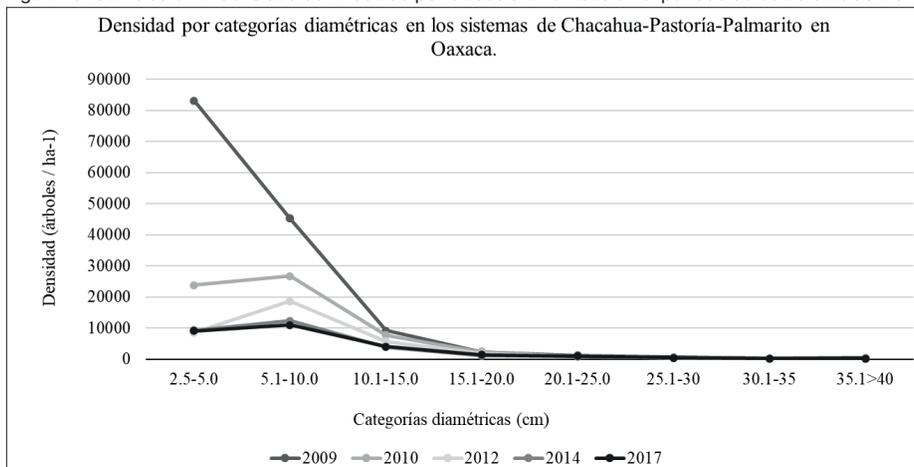
6 DISCUSIÓN

Todo el sistema presenta una gran cantidad de presiones ambientales y antrópicas. En el primer caso el cambio climático, es un factor importante sobre los humedales y en especial sobre los manglares en todos los litorales de México, este factor ha provocado

una disminución en la precipitación, humedad ambiental y el volumen de agua de ríos/arroyos, así como en la frecuencia e intensidad de los huracanes e incremento en la temperatura (Valderrama et al 2017). Los tres primeros son especialmente graves para la supervivencia y fragilidad de los rodales de mangle, debido a que los efectos combinados producen una elevación en la salinidad intersticial, la cual es drástica durante el estiaje. Las presiones antrópicas como el avance de las fronteras agropecuarias, el uso excesivo del agua para riego, la construcción de represas, el azolvamiento de las lagunas, el cierre de las bocanarras, la descarga de aguas residuales y agroquímicos, etc. Todos ellos están presentes en este sistema de humedal (Tovilla et al 2018). Estas presiones han venido manifestándose en cambios sustantivos en la composición y estructura de los manglares del parque. Por ejemplo, la altura promedio y de fuste del arbolado (11.57 y 6.22m) se han mantenido y solo posterior al huracán “Carlota”, se observó un incremento en la altura en los siguientes dos años; similar a lo reportado por Vázquez-Lule (2008) y Carbajal (2010) en bosques de Alvarado Veracruz y en este mismo sistema (Tabla 3-5); por el contrario atributos son mayores a lo reportado por Tovilla y Romero (2012) en manglares del Istmo de Tehuantepec, Oaxaca. El DAP es el único valor estructural que se ha incrementado durante el estudio (8.47-10.75cm), como consecuencia del desarrollo del arbolado maduro/senil. Este valor se encuentra por debajo a lo reportado por Salas (2006) y Tovilla y Romero (2012), en manglares de Chiapas (18.9cm) y en la zona de Salina Cruz-Huatulco (13.8cm).

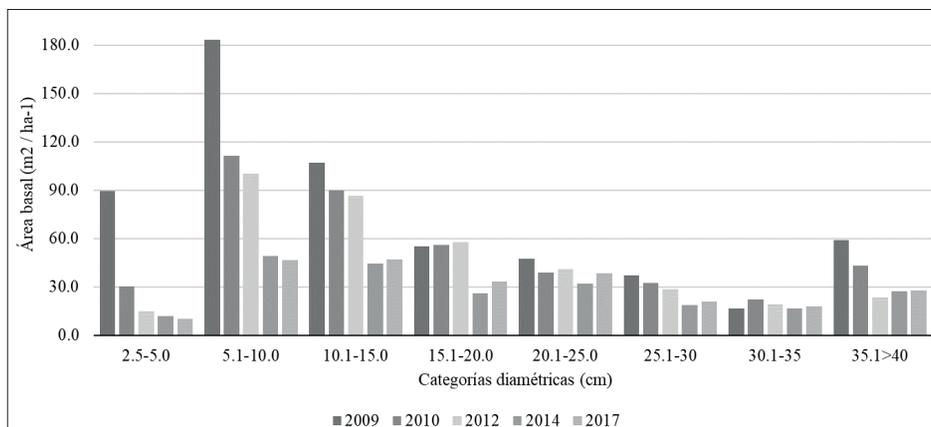
Tres atributos importantes en el mantenimiento de la estructura de los manglares son: la densidad del arbolado, el área basal y la cobertura de copa, los tres han tenido una reducción en el periodo estudiado. La densidad del arbolado se ha visto reducida en forma drástica, pasando de 3890 a 1673 individuos/ha (Figura 10), esta reducción (57% del arbolado) está afectando principalmente a las primeras dos clases diamétricas (2.5-7.0cm), las cuales contribuyen con 76.9% del arbolado juvenil de los rodales y afecta de manera directa a los bosques de *L. racemosa*, *C. erectus* y *R. mangle*, en laguna de Pastoría y Chacahua; una situación similar se ha estudiado por Tovilla et al (2007) en manglares de la costa de Chiapas y Rodríguez-Ramírez *et al.*, (2004) en manglares de Bahía de Chengue en el Caribe Colombiano. Por el contrario, en este estudio en las clases diamétricas del arbolado maduro a senil se vio un incremento en el periodo de estudio, esto podría ser positivo para los rodales, desafortunadamente, la extracción de madera y leña por los habitantes, indica que en estas categorías diamétricas 36.5 % de los fustes son semirrectos y el 28.4 % están chuecos y postrados. Es decir, arbolado senil con una limitada capacidad reproductiva (Figura 10).

Figura 10. Cambios en la densidad del arbolado por clases diamétricas en el periodo de estudio 2009-2017.



El análisis del AB del arbolado, en cada una de las clases diamétricas registró una disminución en los valores entre 2009-2017, al pasar de 24.37 a 21.71m²/ha. También es notable la enorme contribución al AB que representan las tres clases iniciales del arbolado juvenil y en primera madurez (2.5 a 15.0 cm) a la estructura de los bosques. El aporte del AB por el arbolado maduro-senil es bajo, esta tendencia en todas las categorías indica que los rodales en este humedal están constituidos mayormente por rodales juveniles/maduros, dominados por *R. mangle*, *L. racemosa* y *A. germinans* los cuales forman rodales juveniles muy densos en este sistema (Figura 10). Situaciones semejantes en el AB se han estudiado en manglares de La Encrucijada en Chiapas, Bahía Magdalena en Baja California Sur y en Veracruz en el Golfo de México (Salas 2006; Acosta y Ruíz 2007 y Vázquez-Lule 2008).

Figura 11. Área basal por clases diamétricas en el Parque Nacional Lagunas de Chacahua, Oaxaca en el periodo 2009-2017.



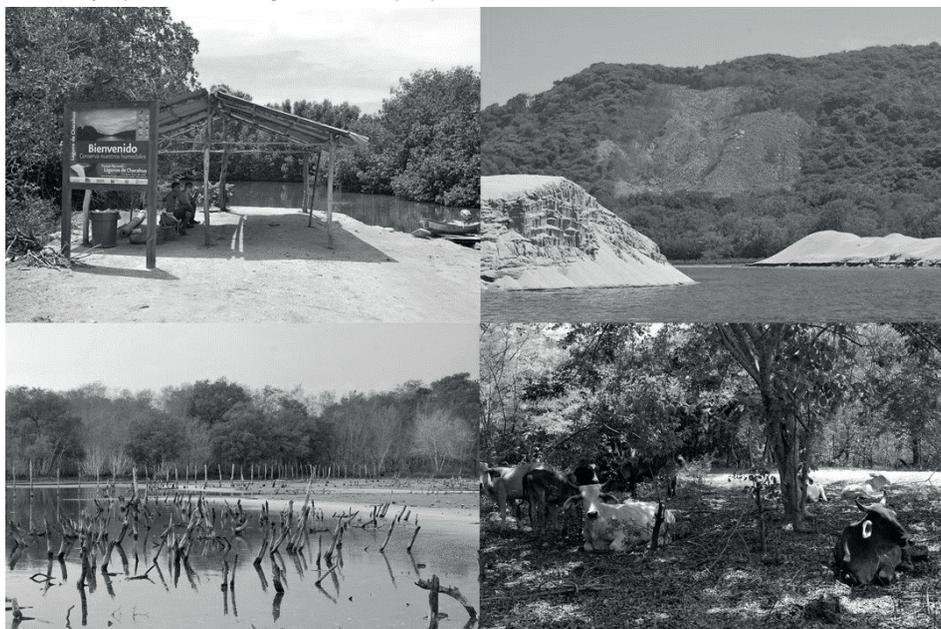
La cobertura arbórea también registró una reducción fuerte durante el estudio, pasando de 16.7 a 10.95 m², esta disminución se agudiza después del paso del huracán “Carlota” (2012) y posteriormente se incrementa en todos los bosques como consecuencia de la extracción de madera, la mortalidad natural y el derribo del arbolado senil por el viento (Tablas 1-5). Finalmente los registros obtenidos para la regeneración del bosque mostro una fuerte disminución (81,818 a 58,111 plántulas/ha⁻¹) en el periodo de estudio, el año 2012 es una excepción, debido a que fue muy lluvioso, después del paso del huracán “Carlota”, en octubre de 2017, se observó una elevada cantidad de plántulas en todos los bosques (121, 143 plántulas/ha⁻¹), posterior a este tiempo se registró una disminución marcada en el periodo 2014-2017, situaciones semejantes se han observado para otros manglares de Oaxaca por Tovilla et al (2018). La disminución en estos tres atributos estructurales del manglar en este parque, están provocando un cambio notable en los rodales de mangle, incluso en la dominancia de especies, asociado al incremento de la salinidad del suelo, provocado por la falta de aportes de agua dulce al sistema y al cierre de la barra de Cerro Hermoso, en el futuro veremos la sustitución de amplias áreas de *L. racemosa* y *R. mangle* por bosques de porte bajo de *A. germinans*, como ha sucedido en los últimos 25 años en la zona de Chacahua-Los Azufres. Los rodales mejor desarrollados de *L. racemosa* y *C. erectus* tienden a desaparecer por la excesiva extracción de madera que soportan, así como por el incremento de la salinidad intersticial y la desecación de amplias áreas en la parte Norte y Noroeste de Chacahua y Palmarito.

6.1 DIAGNÓSTICO DE LOS BOSQUES DE MANGLE EN EL SISTEMA CHACAHUA-PASTORÍA-PALMARITO

Este sistema presenta la mayor área de manglares del estado de Oaxaca, en él existen grandes áreas con grave deterioro en los manglares como sucede en la parte Sur, Este y Norte de Laguna de Pastoría; provocado por la deforestación de las microcuencas y toda el área de cerros y lomeríos aledaños al sistema para el establecimiento de potreros. Este proceso ha provocado un azolvamiento en todo el sistema lagunar, como sucede en las Comunidades de Zapotalito, La Pastoría y Chacalapa, donde esta actividad ha eliminado en los últimos años unas 172 hectáreas de rodales de *C. erectus*, *R. mangle* y *A. germinans*. A lo largo del canal de Cerro Hermoso hacia el mar, las obras de dragado realizadas de 2002-2009 eliminaron un área de 12.5 has (González-Rodríguez 2002). Los bosques ubicados a la orilla del camino a Chacahua y el camino a Cerro Hermoso, actualmente están fuertemente alterados por la erosión, introducción de ganado y la extracción de madera (Figura 12). En Laguna de Chacahua las áreas más afectadas se localizan en la vecindad de la comunidad, debido a la deforestación y la expansión de la comunidad. A

lo largo del camino de Chacahua al Azufre el establecimiento de plantaciones de coco, potreros y áreas de cultivo han eliminado unas 152 has de rodales de botoncillo, mangle blanco y madresal. Mientras que en Laguna de Palmarito grandes áreas de la parte Norte y Este del sistema han sido modificados por la deforestación con fines agrícolas. Uno de los impactos más notables, silencioso y continuo es la falta de agua dulce hacia el sistema lagunar, que se ha producido a partir de la construcción de la represa sobre el Río Verde, desafortunadamente la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) a lo largo de los últimos 25 años se ha negado a dotar de un volumen de agua $>13.5 \text{ m}^3/\text{segundo}$ al Parque. Esto es grave en la parte Oeste y Norte del sistema de manglares. Grandes áreas de manglares (220 has) en Chacahua –El Azufre, en los últimos años han desaparecido debido al proceso de salinización del suelo por falta de un caudal suficiente.

Figura 12. Algunas actividades como la deforestación la ganadería, los dragados y la erosión están provocando cambios muy rápidos en los manglares de este parque.



Por el contrario el sistema lagunar presenta algunas áreas de manglar bien conservadas y otras catalogadas como medianamente conservadas en ambas lagunas, como sucede en el conjunto de islas distribuidas dentro de Laguna de Pastoría cubiertas por exuberantes bosques maduros-seniles de 10-16m de altura de *R. mangle*, otro sitio con rodales de buen porte se ubica a lo largo del Canal del Corral y en Chacahua donde existen bosques muy densos de *R. mangle-L. racemosa* con arbolado juvenil de gran densidad de hasta 18 m de altura. Una situación semejante se observa en la parte norte de

Chacahua en el límite con Palmarito donde existen rodales muy densos de *A. germinans*-*L. racemosa*. Desafortunadamente en los últimos tres años la expansión de las actividades antrópicas, se han incrementado, asociado a ello, se ha observado gran caída de algunos árboles viejos y maduros debido al paso de los vientos principalmente durante los meses de junio y septiembre de 2016 y 2017.

Es probable que los bosques mejor conservados se mantengan bajo estas condiciones en los siguientes 10 años, debido a la lejanía de las comunidades, mientras que las áreas impactadas deben ser restauradas y protegidas. Se han realizado esfuerzos en los últimos años para reforestar algunas de las áreas más deterioradas con resultados muy limitados. Deben de establecerse mecanismos de cooperación-coordinación entre las diferentes instituciones: Conanp, Conafor, Conagua, Conapesca, Sader, Gobierno del Estado de Oaxaca, Copladen y la dirección del Parque, en pro de la conservación y restauración del humedal. El uso del agua dulce debe orientarse bajo el principio del caudal ecológico. Se necesita un manejo integral de las microcuencas desde la parte alta hasta la zona costera, especialmente la del Río Verde.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta-Velázquez J, Ruiz-Luna A. (2007). Variación en la cobertura, distribución y estructura de los manglares del complejo lagunar Bahía Magdalena-Bahía Almejas (1990-2005). En: Funes-Rodríguez R, Gómez-Gutiérrez J, Palomares-García R (eds). Estudios ecológicos en Bahía Magdalena. CICIMAR-IPN, La Paz, Baja California Sur, México, p 127-141.

Carbajal, E. S. S. 2010. Estudio de la estructura, composición y modificación antrópica en los manglares del Parque Nacional Lagunas de Chacahua, Oaxaca, México. Tesis de grado. El Colegio de la Frontera Sur. Tapachula, Chiapas.

Carbajal-Evaristo, S. S. y López-Santos, A., 2017. LM006 "Inventario y monitoreo del estado actual de los bosques de manglar de Guerrero". Informe de proyecto.

Cintrón, G. y Schaeffer-Novelli Y. 1985. Características y desarrollo estructural de los manglares de Norte y Sur América. *Ciencia Interamericana* 25(4): 4-15.

Corella, J. F., Valdez, H. J. I., Cetina, A. V. M., González, C. F. V., Trinidad, S. A., y Aguirre, R. J. R. (2004). Estructura forestal de un bosque de mangles en el noreste del estado de Tabasco. *Ciencia Forestal en México*, 26 (90), 73-102.

Donato, D. C., Kauffman, J. B., Murdiyarmo, D., Kurnianto, S., Stidham, M. y Kanninen, M. (2011). Mangroves among the most carbon-rich forests in the tropics. *Nature Geoscience* (4): 293-297.

González, G. M. y Rodríguez, E.A.C. 2002. El sistema lagunar: cambios naturales, antropogénicos y su impacto en el ecosistema estuarino, 39-58. En M. Alfaro y G. Sánchez (Ed) Reflejos de un parque. México. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (Conanp), Programa de las Naciones Unidas Para el Desarrollo (PNUD), Centro de Investigaciones y Estudios Superiores en Antropología Social (CIESAS), Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat) y Plaza Valdés. 282pp.

Pérez-Delgado, P.E., 2002. Estado de Conservación de la vegetación del Parque Nacional Lagunas de Chacahua: propuesta para su rehabilitación. En: Alfaro M. y Sánchez G. (Ed): Reflejos de un parque. México. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (Conanp), Programa de las Naciones Unidas Para el Desarrollo (PNUD), Centro de Investigaciones y Estudios Superiores en Antropología Social (CIESAS), Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat) y Plaza Valdés. 282pp.

Rodríguez-Ramírez, A., Nivia-Ruiz, J y Garzón-Ferreira, J. 2004. Características estructurales y funcionales del manglar de *Avicennia germinans* en la Bahía de Chengue (Caribe Colombiano). *Bol. Invest. Mar. Cost.* 33. Santa Martha, Colombia. 223-244p.

Salas Roblero, R. L. 2006. Estructura forestal de un manglar en la Reserva de la Biosfera La Encrucijada, Chiapas. Tesis Profesional. Chapingo, México. 63p.

Tovilla-Hernández, H. C. 2005. Agonía y desaparición de los ríos y humedales en la costa de Chiapas. *Ecofronteras* (25) 5-8 p.

Tovilla-Hernández, C., de La Presa-Pérez, J.C., Salas-Roblero, R. L., Romero-Berny E. I., Ovalle E. F., Gómez-Ortega R., de la Cruz, M. E., y Hernández, G. A., 2007. Inventario forestal de los bosques de manglar de la costa de Chiapas. Informe Final. ECOSUR / COCYTECH. San Cristóbal De Las Casas, Chiapas, México, 123 pp.

Tovilla-Hernández, C., y Romero-Berny, E. I. 2014. Diagnostico estructural de los manglares de Chiapas y Oaxaca. En A. J. Sánchez , Chiapa-Carrara X. y Brito-Perez, R. (Eds.) *Recursos acuáticos costeros del sureste.* (1) 257–279. Yucatán, México: UNAM/CONCITEY.

Tovilla-Hernández, C., Salas-Roblero R.L., de la Presa-Pérez, J.C., Lan R. A., Villatoro A. E.M., Ovalle E. F., de la Cruz M. E. y de la Cruz M. G. 2018. Informe Final del Proyecto FN 005: Inventario y Monitoreo del Estado Actual de los Bosques de Manglar de Chiapas y Oaxaca, Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas Costeros, El Colegio de la Frontera Sur, ECOSUR Unidad Tapachula y Comisión Nacional Para el Uso y Conocimiento de la Biodiversidad (CONABIO), Tapachula Chiapas, México, 269 pp.

Valderrama-Landeros, L., Rodríguez-Zúñiga, M., Troche-Souza, C., Velázquez-Salazar, S., Villeda-Chávez, E., Alcántara-Maya, J., Vázquez-Balderas, B., Cruz-López, M. y Ressler, R. 2017. Manglares de México: actualización y exploración de los datos del sistema de monitoreo 1970/1980–2015. 1ª edición. Ciudad de México, México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 126 p.

Valdéz Hernández, J. 2002. Aprovechamiento forestal de manglares en el estado de Nayarit costa Pacífica de México. *Madera y bosques* número especial: 129-145.

Vázquez-Lule, A.D. 2008. Estructura vegetal e impacto antrópico en los manglares del sistema lagunar de Alvarado, Veracruz, México. Tesis de Licenciatura. Instituto de Biología UNAM. 114p.

CAPÍTULO 11

INFLUENCIA DEL ESTRÉS HÍDRICO EN EL CRECIMIENTO DEL FRUTO Y EN LA FORMACIÓN DE ACEITE EN EL CULTIVO DEL OLIVO¹

Data de submissão: 27/09/2023

Data de aceite: 12/10/2023

Victorino Vega Macías

IFAPA Centro Alameda del Obispo
Apdo. 3092, 14080
Córdoba, España

Javier Hidalgo Moya

IFAPA Centro Alameda del Obispo
Apdo. 3092, 14080
Córdoba, España

Juan Carlos Hidalgo Moya

IFAPA Centro Alameda del Obispo
Apdo. 3092, 14080
Córdoba, España

Ana Leyva Bollero

IFAPA Centro Alameda del Obispo
Apdo. 3092, 14080
Córdoba, España

María del Carmen Jiménez Muñoz

IFAPA Centro Alameda del Obispo
Apdo. 3092, 14080
Córdoba, España

Daniel Pérez Mohedano

IFAPA Centro Alameda del Obispo
Apdo. 3092, 14080
Córdoba, España

RESUMEN: España es el país con mayor superficie de olivar, con casi 2,8 millones de ha (ESYRCE, 2022), de las cuales, aproximadamente $\frac{3}{4}$ partes no reciben ningún tipo de aporte de agua mediante riego. En el olivar de secano, la climatología, y de forma muy especial la pluviometría, está íntimamente relacionada con el crecimiento de las aceitunas. Es sabido que cuando se retrasan las primeras lluvias otoñales, los rendimientos grasos de la campaña se ven afectados negativamente. Se ha estudiado la influencia del estrés hídrico prolongado en un olivar de la variedad cv Manzanilla de Sevilla, durante el año 2016, donde las lluvias de otoño se produjeron de forma tardía. La plantación, con un solo tronco, presentó una densidad de 408 ol/ha y un volumen de copa de 11.000 m³/ha. Se encuentra ubicada en la provincia de Córdoba, donde se han estudiado tres estrategias de riego en función del potencial hídrico en hoja (ETcmax, RDC1, RDC2), junta a otra de secano. El dispositivo experimental diseñado es en bloque al azar, con 4 repeticiones por tratamiento y parcelas elementales de 16 olivos, con control en los 4 centrales y doble línea guarda. No existen diferencias entre tratamientos en los volúmenes de copa

¹ Agradecimientos a los Proyectos: "Experimentación, Cooperación y Transferencia de Tecnología en Olivar" (PR.TRA.TRA2019.10), cofinanciado al 80% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional, dentro del Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014-2020 y "Experimentación y Transferencia en el Olivar @IfapaOlivar" (PR.TRA.TRA2023.03) cofinanciado al 85% por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional FEDER, dentro del Programa Operativo de Andalucía 2021-2027.

de partida, iniciando el ensayo en condiciones similares. El crecimiento del fruto se ve afectado claramente por el estrés hídrico, de manera que cuando éste es severo y se mantiene en el tiempo, el crecimiento del fruto llega incluso a detenerse. Igualmente, la lipogénesis se ve notablemente afectada, provocando importantes descensos en el rendimiento graso obtenido en recolección.

PALABRAS CLAVE: Riego. Deficitario. Olivar. Aceituna. Aceite.

INFLUENCE OF WATER STRESS ON FRUIT GROWTH AND OIL FORMATION IN OLIVE TREE

ABSTRACT: Spain is the country with the largest area of olive groves, with almost 2.8 million hectares (ESYRCE, 2022), where approximately 75% is in rainfed conditions. Climatic factors, mainly rainfall, is closely related to the growth of the olive fruits. When the first autumn rains are delayed, the fat yield of the fruits can be affected by water stress. This influence has been studied in an olive grove of the variety cv Manzanilla of Seville, during the year 2016, where the autumn rains occurred later than a normal year. The orchard has a density of 408 ol/ha and a canopy volume of 11,000 m³/ha. It is located in the province of Córdoba, where three irrigation strategies have been studied depending on the leaf water potential (ET_{cmax}, RDC1, RDC2), together a rainfed treatment. The experimental device designed is a randomized block, with 4 repetitions per treatment and elementary plots of 16 olive trees, with control in the 4 central plots and a double guard line. There are no differences between treatments in the starting canopy volumes at the beginning of the trial. Fruit growth is clearly affected by water stress, so when this is severe and persists over time, fruit growth even stops. Likewise, the oil formation is notably affected, causing significant decreases in the fat yield obtained during harvesting.

KEYWORDS: Irrigation. Deficit irrigation. Olive tree. Olive fruit. Olive oil.

1 INTRODUCCIÓN

Andalucía es una región que se encuentra al sur de España, y posee más de 1,68 millones de hectáreas, de las cuales el 62% se encuentran en secano (ESYRCE, 2022). La pluviometría media oscila entre 350 y 550 mm, y aunque los suelos en general son profundos y con alta capacidad de almacenamiento de agua de lluvia, los olivares de secano suelen padecer estrés hídrico en momentos de su ciclo, principalmente en verano y comienzos del otoño, aunque es un árbol muy bien adaptado al clima mediterráneo, con verano largos, calurosos y sin lluvia.

Los factores climáticos, y en especial el estrés hídrico afectan directamente a la formación del aceite. En ensayos previos (Pastor et al, 1999; Hidalgo et al, 2011) hemos observado que el rendimiento graso se reduce notablemente cuando los olivos están sometidos a un estrés hídrico severo y prolongado en el tiempo. La cuantía de las lluvias y su reparto a lo largo del año tienen una gran repercusión sobre los procesos que ocurren a lo largo del ciclo del olivo, tales como la lipogénesis o formación de aceite.

La acumulación de aceite comienza inmediatamente después del endurecimiento del hueso (Beltrán et al, 2017), produciéndose la lipogénesis en tres fases diferenciadas. Una vez los frutos están recién formados hasta el endurecimiento del hueso, los lípidos de tipo estructural se forman lentamente (fase de biosíntesis lenta). Tras el endurecimiento del hueso, se inicia una síntesis activa de diglicéridos y triglicéridos que sufre una notable aceleración durante los meses de agosto y septiembre, para alcanzar su máximo a final de septiembre o inicio de octubre (García Martos y Mancha, 1992), coincidiendo con el cambio de pigmentación del fruto (fase de biosíntesis acelerada). Por último, la velocidad de formación de aceite desciende de manera progresiva hasta la semana 28-30 después de plena floración (primeros a mediados de diciembre). A partir de ahí, la formación de aceite es muy lenta, siendo la pendiente de la curva casi nula (fase estacionaria o de ralentización). El riego es una práctica de cultivo que permite evitar el estrés hídrico y favorece que esos procesos se puedan realizar con éxito.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

Los resultados obtenidos mostrados en este trabajo corresponden al primer año de un ensayo de campo de larga duración con aporte de diferentes estrategias de riego en función del estado hídrico de los olivos.

El experimento se desarrolló en un olivar adulto de la variedad Manzanilla de Sevilla, con un marco de plantación de 7 x 3,5 m (408 ol/ha), ubicado en la finca La Reina de Santa Cruz, perteneciente al término municipal de Córdoba (España). El olivar había sido previamente regado en los años anteriores, presentando unas grandes producciones anuales. El ensayo se inició en 2016, con un volumen de copa inicial elevado, 11.000 m³/ha y sin diferencias entre los tratamientos, que son los siguientes:

- ETcmax: Riego con aporte variable según el balance de agua (Etc -Pef) sin considerar el agua almacenada en el suelo, con el objetivo de asegurar que no existe estrés hídrico en posibles situaciones puntuales de falta de agua de riego (averías, fallos en la programación, etc).
- RDC1 (riego deficitario controlado 1), para mantener un potencial hídrico a mediodía entre -4 y -5 MPa.
- RDC2: (riego deficitario controlado 2), para mantener un potencial hídrico a mediodía superior a -6 MPa.
- Secano.

El dispositivo experimental diseñado es en bloque al azar, con 4 repeticiones por tratamiento y parcelas elementales de 4 olivos con doble línea guarda (16 olivos por parcela elemental).

El control de potencial hídrico se realizó cada dos semanas. Los resultados obtenidos en cada medida, junto con los cálculos de balance de agua, fueron utilizados para programar el riego de cada tratamiento, acción comandada en campo con un programador Agronic 2000. Cada tratamiento dispone una instalación de riego independiente, incluyendo un contador volumétrico para contrastar el cumplimiento de la programación quincenal del riego. La instalación dispuso de 4 goteros autocompensantes, con un caudal unitario de 2,3 l/h.

Coincidiendo con las medidas de potencial hídrico y la programación del riego, se tomaron muestras de fruto para ver la evolución del peso, así como el rendimiento graso y la humedad, medidos mediante RMN. Cada muestra corresponde a 20 frutos de cada árbol controlado, tomadas de las 4 orientaciones y siempre por los mismos operarios.

En el momento de la recolección, cada olivo fue cosechado de forma independiente, controlando el peso total de la aceituna, derribada sobre mantos con un vibrador de tronco. Se tomó una muestra de unos 2 kg por cada árbol para el posterior análisis de rendimiento graso y humedad individualizado mediante técnica NIR (OliveScan, Foss). Así mismo se controló el tamaño medio de fruto de cada muestra (peso de 100 frutos por árbol).

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El riego se inició en el mes de junio, dado que las precipitaciones de abril y mayo (**Tabla 1**) fueron superiores a la evapotranspiración del cultivo (ETc). Las primeras lluvias otoñales fueron tardías (12 de octubre), lo que supone un periodo de 5 meses sin lluvias (13 de mayo a 12 de octubre). La evapotranspiración del cultivo (ETc) en ese intervalo de tiempo fue de 517 mm.

Tabla 1. Balance Hídrico mensual expresado (mm).

Mes	oct-15	nov-15	dic-15	ene-16	feb-16	mar-16	abr-16	may-16	jun-16	jul-16	ago-16	sep-16	oct-16	oct15-sep16	Jun-sep16
ETc	66	43	36	34	41	55	62	81	118	133	121	95	71	885	467
Pef	75	56	14	54	40	29	94	82	9	0	0	0	82	453	9
(Etc-Pef)	-9	-13	22	-20	1	24	-32	-1	109	133	121	95	-9	432	458

En el tratamiento ETcmax se aplicaron 514 mm (**Tabla 2**), cubriendo las necesidades hídricas del cultivo. En todo momento el potencial hídrico a mediodía se mantiene en torno

a los -3MPa (**Figura 1**), lo que confirma que los olivos no sufrieron estrés hídrico en todo el ciclo.

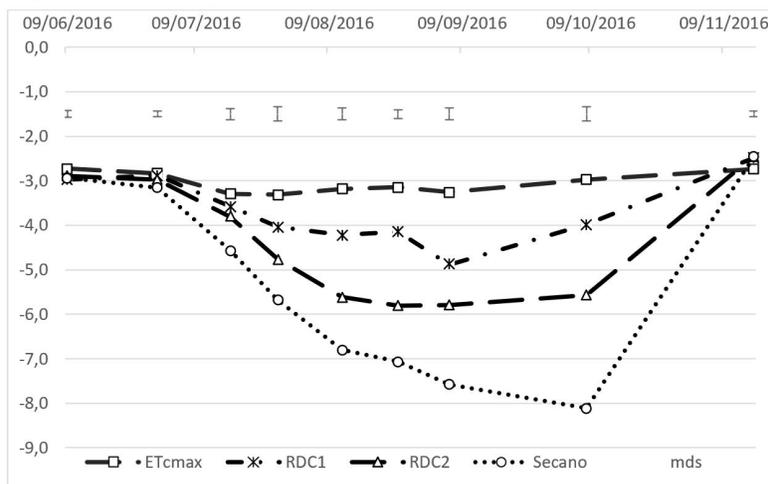
Tabla 2. Cantidades de riego aportadas por tratamiento. Año 2016.

Tratamiento	Riego (mm)
Etcmx	514
RDC1	166
RDC2	108
Secano	0

El aporte de agua de riego en el tratamiento Riego Deficitario 1 (RDC1) fue de 166 mm, el 32% de la aplicada en el tratamiento control (ETcmx). Con esa dosis de riego se ha cumplido el objetivo de mantener el potencial hídrico a mediodía por superior a los -5MPa (Figura 1), según el protocolo con el que se diseñó el ensayo.

Para el tratamiento deficitario 2 (RDC2), con potencial hídrico a mediodía superior a los -6MPa, se han aplicado 108 mm, el 21% de la aplicada en el control. Por último, el secano ha permanecido durante la mayoría de la campaña en situación de estrés hídrico severo, llegando a superar los -8 MPa.

Figura 1. Evolución del potencial hídrico a medio día solar de los diferentes tratamientos.



El número de frutos por árbol en la recolección del año en estudio es similar para todos tratamientos (**Tabla 3**), favorecido por la homogeneidad existente en la parcela donde se ubicó el ensayo (mismo volumen de copa de partida) y una floración y cuajado de frutos ocurrida con en un estado hídrico óptimo (**Figura 1**), favorecido por las condiciones climáticas con lluvias importantes en primavera que han servido para mantener la disponibilidad de agua en el suelo.

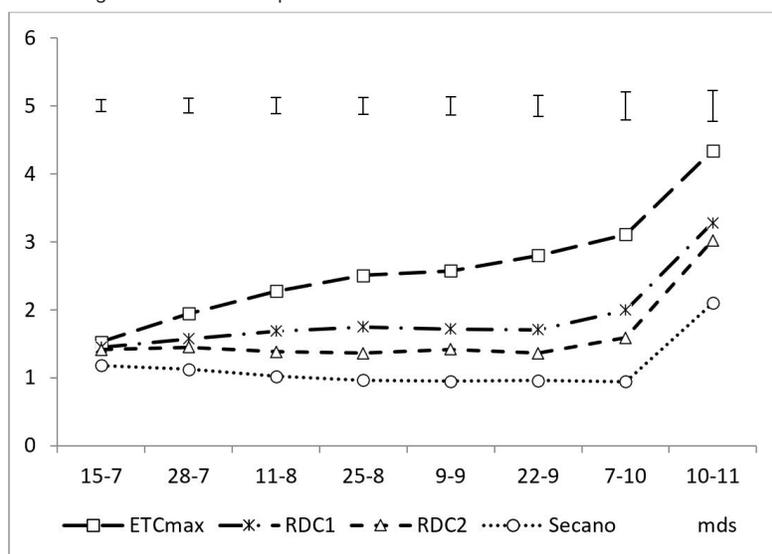
Tabla 3. Peso medio del fruto, número de frutos por árbol, producción de aceituna y aceite y rendimientos grasos expresados sobre fruto (RGH) y sobre materia seca (RGS) de los diferentes tratamientos. Año 2016.

Tratamiento	Riego (mm)	Peso fruto (g)	Núm frutos por árbol	Producción (kg/ol)	Aceite (kg/ol)	RGH (%)	RGS (%)
ETCmax	514	4,22 a	16105 a	65,4 a	9,13 a	14,0 a	40,2 a
RDC1	166	3,59 b	15938 a	54,2 b	7,14 b	13,2 b	38,0 b
RDC2	108	3,06 c	15656 a	46,5 bc	5,79 c	12,5 c	36,4 c
Secano	0	2,59 d	17010 a	42,5 c	4,30 d	10,0 d	29,5 d

Las letras corresponden a diferencias significativas en el test mínima diferencia significativa con alfa igual a 0,05.

Los tres tratamientos regados presentan similar peso en la medida de 15 de julio (**Figura 2**), mientras que el seco, ya en situación de estrés hídrico con un potencial inferior a $-4,5\text{MPa}$, presenta un menor peso. A partir de final de julio, el crecimiento de fruto también se reduce el tratamiento RDC2, con un potencial de $-4,8\text{MPa}$. A mitad de agosto el crecimiento del tratamiento RDC1 sigue los pasos de los anteriores, reduciéndose el peso de sus frutos en relación a los del control bien regado (ETCmax). El crecimiento del fruto llega a ser nulo cuando el déficit hídrico es severo y así se mantiene durante el mes de septiembre para los tratamientos de seco y los de riego deficitario. Con las lluvias de otoño, los frutos estresados incrementan el peso. La pendiente de la curva de crecimiento del fruto tras la recuperación es similar en todos los tratamientos, incluido el control (ETCmax) que no ha estado en situación de estrés hídrico, por lo que el peso final de los frutos de seco, RDC1 y RDC2 es diferente.

Figura 2. Evolución del peso fresco del fruto de los diferentes tratamientos.



Las barras corresponden con la desviación típica.

En el momento de la recolección (21 de noviembre) el tratamiento control tiene un peso medio de fruto de 4,22g frente a 2,59g en el secano. El RDC1 presenta un valor de 3,59g, mientras que en el RDC2 es de 3,06g, existiendo diferencias significativas entre ellos. Teniendo en cuenta, que el número de frutos por árbol es similar, esta diferencia en el peso del fruto explica claramente las diferencias en la producción final de aceituna y de aceite de los tratamientos (**Tabla 3**).

El retraso en las lluvias junto con un aporte insuficiente de agua de riego son los responsables de un menor tamaño final de los frutos. Además, la lipogénesis también se ha visto afectada, ya que el rendimiento graso, tanto expresado en húmedo (RGH) como sobre materia seca (RGS) de los tratamientos deficitarios y, en mayor medida el secano, es más bajo. Si se considera el rendimiento sobre materia seca (**Tabla 3**) hay 11 puntos de diferencia entre el secano y control (ETcmax), existiendo diferencias significativas entre todos los tratamientos. Estas se mantienen cuando el rendimiento graso se expresa como porcentaje de aceite sobre el peso fresco del fruto (cuatro puntos de diferencia entre riego máximo y secano).

4 CONCLUSIONES

Tras este primer año de estudio, con unas condiciones de partida muy parecidas para todos los tratamientos, se puede ver que el estrés hídrico influye negativamente sobre los procesos de formación de aceite. Así mismo el crecimiento del fruto se ve afectado claramente por el estrés hídrico, de manera que cuando éste es severo y se mantiene en el tiempo, el crecimiento del fruto llega incluso a detenerse. En líneas generales, un aumento de la dosis de riego se traduce en un incremento de la producción, ya que con el riego se evitan situaciones de estrés hídrico prolongadas. Es muy importante aportar agua de riego suficiente para garantizar la formación de aceite en el otoño. Las lluvias de otoño son imprescindibles para una buena formación de aceite cuando los olivos se encuentran en secano. Pero también son muy importantes para el regadío de olivar, puesto que en la mayoría de los casos el riego no es suficiente para cubrir las necesidades del cultivo. Si estas lluvias de otoño se retrasan demasiado, la formación de aceite y el contenido final del mismo pueden verse afectados negativamente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beltrán, G.; Uceda, M.; Hermoso, M.; Frías, L., 2017. Capítulo 6, Maduración. Pg: 187-210. En D.Barranco, R. Fernández Escobar y L.Rallo (eds). El Cultivo del olivo. 7ª Edición. Mundiprensa, Madrid.

ESYRCE. Encuesta sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos. Análisis de los Regadíos en España, 2022. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Gobierno de España.

García Martos, J.M.; Mancha, M., 1992. Evolución de la biosíntesis de lípidos durante la maduración de las variedades de aceituna "Picual" y "Gordal". *Grasas y aceites*, 43 (5): 277-280.

Hidalgo, J.; Hidalgo, J.C.; Pastor, M. 2011. Capítulo 5. Riego de olivar: Capítulo 5. Riego de olivar. Cálculo de necesidades, riego deficitario e influencia del riego en la calidad del aceite, pg:101-124. En: *AD OLEUM HABENDUM*. 2011. I.S.B.N.: 978-84-6150549-4.

Pastor M.; Castro J.; Mariscal M.J.; Vega V.; Orgaz F.; Fereres E.; Hidalgo J. 1999. Respuesta del olivar tradicional a diferentes estrategias y dosis de agua de riego. *Investigación Agraria*, nº 3, Vol 14, 1999, pp 393-404. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria.

CAPÍTULO 12

DESHIDRATACIÓN DE CHILE HABANERO PARTE I: EXPERIMENTACIÓN Y MODELADO

Data de submissão: 25/09/2023

Data de aceite: 16/10/2023

Sergio García-Salas

Departamento de Bioingeniería
Unidad Profesional Interdisciplinaria
de Biotecnología
Instituto Politécnico Nacional
Av. Acueducto S/N.
Col. Barrio La Laguna Ticomán
Ciudad de México

Carlos Orozco-Alvarez

Departamento de Bioingeniería
Unidad Profesional Interdisciplinaria
de Biotecnología
Instituto Politécnico Nacional
Av. Acueducto S/N.
Col. Barrio La Laguna Ticomán
Ciudad de México
<https://orcid.org/0000-0002-5145-6791>

Enrique Hernández-Sánchez

Departamento de Bioingeniería
Unidad Profesional Interdisciplinaria
de Biotecnología
Instituto Politécnico Nacional
Av. Acueducto S/N.
Col. Barrio La Laguna Ticomán
Ciudad de México

Gisela Palma-Orozco

Departamento de Bioingeniería
Unidad Profesional Interdisciplinaria
de Biotecnología
Instituto Politécnico Nacional
Av. Acueducto S/N.
Col. Barrio La Laguna Ticomán
Ciudad de México

Jonathan Alcántara-Melgar

Departamento de Bioingeniería
Unidad Profesional Interdisciplinaria
de Biotecnología
Instituto Politécnico Nacional
Av. Acueducto S/N.
Col. Barrio La Laguna Ticomán
Ciudad de México

RESUMEN: El chile habanero se deshidrató entero y en mitades en un secador tipo túnel y en un invernadero. Se trabajaron 50, 60 y 70 ° C y aire a 2 m/s. El tiempo de secado más corto, 20 h, fue a 70 ° C para el chile en mitades (75 h para el entero). A 60 y 50 ° C los tiempos de secado del chile en mitades fueron de 25 y 30 h, respectivamente, mientras que para el chile entero estos tiempos fueron mayores de 3 a 4 veces. La pérdida de capsaicina fue del 30% y 40% para el chile entero y en mitades, respectivamente; la capsaicina en el chile fresco fue de 15 mg / g de peso seco. En el secado de chile entero y en mitades dentro del invernadero, la pérdida de capsaicina fue

de 45 y 55%, respectivamente, debido a los altos tiempos de secado que fueron 340 y 90 h, respectivamente. El modelado matemático, representó el secado de chile entero y en mitades en el secador de túnel con una precisión de 97-99%, mientras que en el secado en invernadero el modelado fue diferente en sólo 8-10%.

PALABRAS CLAVE: Chile habanero. Secado. Invernadero. Modelado. Diferencias finitas.

1 INTRODUCCIÓN

El chile habanero es uno de los más pungentes en el mundo y en México casi todo es cosechado en Yucatán. En el ambiente regional se procesa en purés, pastas, salsas y productos deshidratados, sin embargo, el estado de Yucatán y otros estados aún no cuentan con una industria de procesamiento de chile habanero. La industria alimentaria es el usuario más importante de chiles habaneros, ya que son usados como agentes colorantes y saborizantes en una gran gama de productos alimenticios tales como salsas, sopas, carnes procesadas, dulces, refrescos y bebidas alcohólicas. También es una materia prima en la formulación de productos farmacéuticos y cosmética por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y analgésicas (Pino et al. 2007). Los capsaicinoides son los responsables de la sensación pungente en frutos del género *Capsicum*, principalmente la capsaicina y la dihidrocapsaicina provocan más del 90% de la pungencia encontrada en pericarpio, placenta y semillas de chile habanero.

Se ha reportado contenidos de capsaicinoides entre 41.8 y 65.9 mg/g de fruta seca, siendo los naranjas los más pungentes (Cisneros et al. 2007). Mientras que los carotenoides presentes en chile habanero son la principal fuente de color en la oleorresina y que es utilizada como colorante natural, se han reportada contenidos de capsantina de 0.34 a 0.10 mg g⁻¹ como principal carotenoide en chiles habaneros rojos (Latournerie et al. 2001). Ante las bondades que el chile habanero proporciona, cabe destacar que es importante considerar otros procesos para su comercialización y distribución, como puede ser el secado del chile con el fin de obtenerlo en forma de polvo para darle mayor estabilidad térmica y vida de anaquel, siendo esto último el objetivo del presente trabajo.

En la parte I de este trabajo sólo se realizó la modelación del secado del chile habanero en mitades, y ahora en el presente trabajo, se modeló el secado del chile entero, deshidratado tanto en el equipo de túnel como también secado en un invernadero.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 SECADO

El secado se realizó en un secador tipo túnel a una velocidad del aire propuesta de 2 m/s y temperaturas de 50, 60 y 70 °C. El chile entero (3 piezas) se colocó en una

charola metálica de 20 cm x 12 cm x 2 cm y en otra charola de las mismas características se colocó el chile en mitades (6 piezas). El registro del peso se efectuó cada hora hasta llegar a peso constante. Para el secado en el invernadero el chile habanero entero y en mitades se colocaron en charolas separadas y el registro del peso se llevó a cabo a las 10:00 y 20:00 h de cada día hasta peso constante. En estos mismos tiempos se registró la temperatura y humedad relativa del aire dentro y fuera del invernadero.

2.2 DETERMINACIÓN DE CAPSAICINA

Para la cuantificación de capsaicina se elaboró una curva tipo usando concentraciones de 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.10 g/L, disolviendo en etanol al 60% y leyendo en celda de cuarzo a una longitud de onda de 286 nm. La correlación lineal obtenida, $R^2 = 0.9893$, fue: $Abs = 2.6724 (g/L) - 0.0134$.

2.3 EXTRACCIÓN DE CAPSAICINA

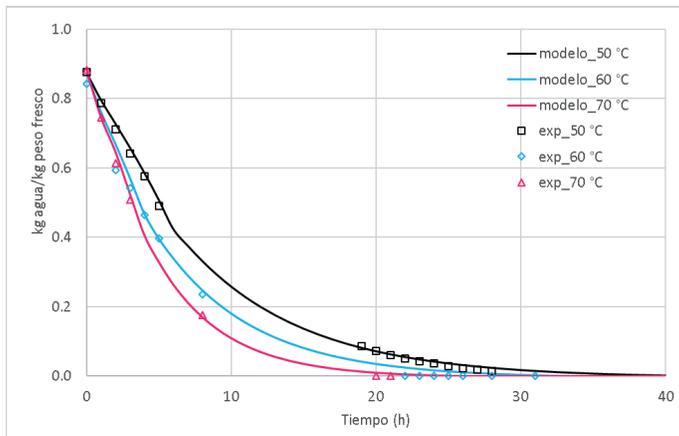
La extracción de capsaicina del chile habanero fresco y secado se efectuó empleando una muestra de 0.2 g molido en mortero durante 15 min con etanol al 60%; luego se centrifugó a 6000 rpm por 15 min.; el sobrenadante se depositó en un vaso con 0.2 de carbón activado y se agitó a 150 rpm por 30 minutos; después se filtró al vacío sobre papel millipore de 0.45 micras de poro; el filtrado sin color se le midió su absorbancia a 286 nm.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 SECADO

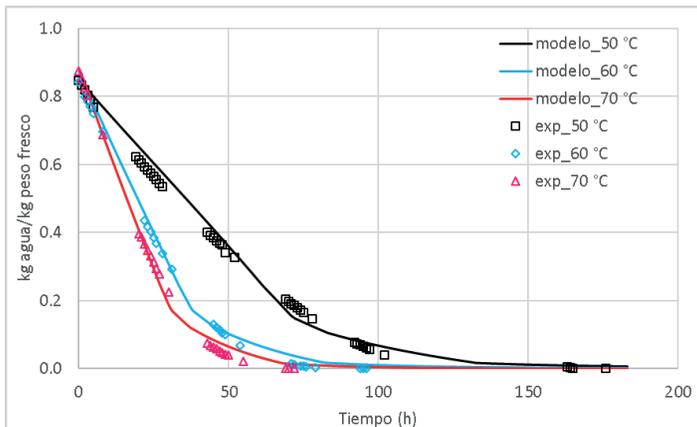
Se realizó el secado de chile habanero cortado en mitades y los resultados se presentan en la figura 1. El menor tiempo de secado se alcanzó a 70 °C, 20 horas, como era de esperarse, y este tiempo aumentó a medida que disminuyó la temperatura, 25 h para 60 °C y 30 h para 50 °C. Cuando el secado se efectuó en el invernadero (figura 3) el tiempo secado fue el más alto, 90 horas, lo cual era esperado puesto que la temperatura promedio (50 a 20 °C) durante el período solar fue de 35 °C, y una temperatura promedio (20 a 15 °C) de 17 °C durante la noche.

Fig. 1. Secado en túnel de chile habanero en mitades: experimentación y modelado.



Cuando el secado de chile habanero entero se llevó a cabo tanto en el secador de túnel como en el invernadero se obtuvieron los resultados presentados en la figura 2 y 3, respectivamente.

Fig. 2. Secado en túnel de chile habanero entero: experimentación y modelado.



Se observó la misma tendencia comentada anteriormente, es decir, a mayor temperatura menor fue el tiempo de secado (Singh, P. y Heldman, D., 2009). Sin embargo, ahora el tiempo de secado fue de 3 a 4 veces mayor para cada temperatura que se compare, este mayor tiempo también era esperado, puesto que la superficie interna “encerrada” del chile no tiene contacto directo con el aire de secado y lo cual retardó su secado, caso que no sucedió con el chile en mitades donde toda la superficie sin “piel” sí está en contacto con el aire. Por otra parte, se realizó la cuantificación del contenido de capsaicina al inicio y al final de cada corrida de secado, y también en el invernadero, y los resultados son presentados en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados globales del secado de chile habanero.

	Capsaicina (mg/g muestra seca)	% de Conservación			
		Temperaturas de secado			
Parte del chile	Fresco	50 °C	60 °C	70 °C	invernadero
Entero	15	66	71	72	56
Mitades	13	54	49	59	46

El chile entero conservó 71-72% a 60 y 70 °C, mientras que a 50 °C sólo conservó el 66% de capsaicina; y en el invernadero se obtuvo el nivel más bajo de conservación con 56%. El chile en mitades conservó el 54-59% a 50 y 70 °C, respectivamente; mientras que en el invernadero sólo se conservó el 46%. Es interesante observar que en el secado en invernadero, los tiempos de secado (tanto para chile entero y en mitades) fueron 2.2 veces mayores en comparación con el secado a 50 °C, pero con cero gasto energético, de tal forma que podría justificarse el gasto en energía si se empleara un pequeño ventilador durante el secado solar para reducir los tiempos de secado.

3.2 MODELADO PARA EL CHILE EN MITADES

Se llevó a cabo el modelado del secado de chile habanero en mitades en el túnel bajo condiciones de convección forzada a 2 m/s, y también se efectuó el modelado del secado en el invernadero para lo cual fueron registrados la temperatura y humedad relativa del aire.

Se empleó el método de *Diferencias Finitas* para predecir la reducción de la humedad durante el secado (Cengel, Y. y Ghajar, A., 2011; Özisi, M. N., 1994). A continuación se muestran las ecuaciones obtenidas en forma *explícita*, considerando una transferencia de masa unidimensional en la dirección del grosor del chile habanero en mitades (3 mm) y para tres nodos; ecuaciones 1, 2 y 3, para las caras “sin piel”, centro y “con piel”, respectivamente:

$$W_0^{i+1} = W_0^i(1 - 2\tau_m) + \tau_m \left(2W_1^i - \frac{2\Delta x(C_{ws} - C_w)}{\rho Dif} h_m \right); (1)$$

$$W_1^{i+1} = W_1^i(1 - 2\tau_m) + \tau_m(W_0^i - W_2^i); (2)$$

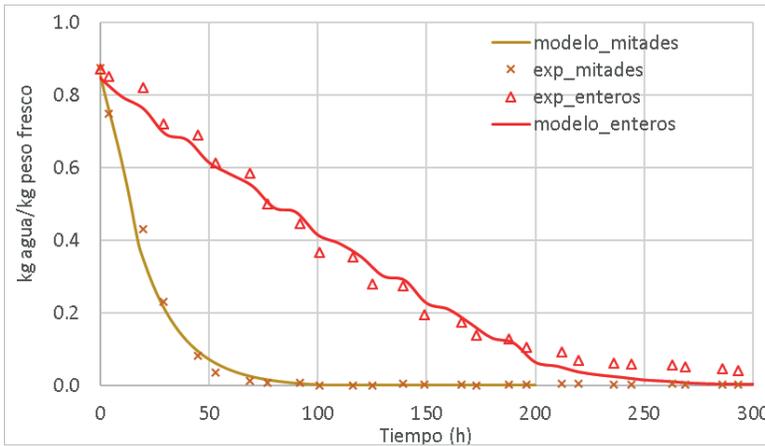
$$W_2^{i+1} = W_2^i(1 - 2\tau_m) + \tau_m \left(2W_1^i - \frac{2\Delta x(C_{ws} - C_w)}{\rho Dif} U_m \right); (3)$$

Cada ecuación se resuelve empezando con los valores $W_0^i = W_1^i = W_2^i = 0.87 \text{ kg agua/kg peso fresco}$ al tiempo cero. El intervalo de tiempo de resolución Δt es cada hora para el secado en túnel, y cada 10 horas para el secado en invernadero, hasta cubrir el tiempo de secado experimental. Los términos restantes se describen a continuación (Cengel, Y. y Ghajar, A., 2011):

- a) τ_m (número de Fourier) = $D \Delta t / \Delta x^2$;
- b) Δx (separación entre nodos) = 0.0015 m ;
- c) D_{if} (difusividad efectiva en el chile habanero a 50, 60 y 70 °C) = 1.25, 1.54, $2.09 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, respectivamente; 0.52×10^{-10} para el invernadero (temperatura promedio, día y noche, de 30 °C)
- d) ρ (densidad promedio del chile habanero en mitades) = 600 kg/m^3 ;
- e) $C_{ws}-C_w$ (fuerza impulsora para la transferencia de masa a 50, 60 y 70 °C y 23 %HR) = 0.0096, 0.0115, 0.0138 y 0.0164 kg de agua/ m^3 , respectivamente; para el invernadero se empleó la siguiente correlación empírica: $0.003 \text{ seno}(t)+0.005$, t , en horas.
- f) h_m (coeficiente de película de transferencia de masa a 50, 60 y 70 °C) = 3.25, 3.88 y $5.37 \times 10^{-3} \text{ m/s}$, respectivamente; calculado a través de la secuencia siguiente: $h_m = Sh D_a / L_c$; $Sh = 0.664 Re^{0.5} Sc^{0.33}$; $Re = v L_c \rho_a / \mu_a$; $Sc = \mu_a / (\rho_a D_a)$; $L_c = 0.045 \text{ m}$; $v = 2 \text{ m/s}$ y 0.4 m/s para el invernadero; $\rho_a = 1 \times 10^{-5} T^2 - 0.0045 T + 1.2908$, densidad del aire, T en °C; $\mu_a = -3 \times 10^{-11} T^2 + 5 \times 10^{-8} T + 1.729 \times 10^{-5}$, viscosidad del aire, T en °C. $D_a = 1.87 \times 10^{-10} (T^{2.072} / P)$, difusividad del vapor de agua en el aire, T en K y P en atm.
- g) U_m (coeficiente global de transferencia de masa a 50, 60 y 70 °C) = 4.19, 5.16 y $6.96 \times 10^{-6} \text{ m/s}$, respectivamente; calculado como $U_m = h_m h_p / (h_m + h_p)$; $h_p = D_{if} / x_p$; x_p (grosor de la piel del chile) = $30 \mu\text{m}$.

En las figuras 1 y 3, se presentan los resultados experimentales y modelados del chile habanero en mitades. Claramente los resultados modelados fueron prácticamente idénticos a los resultados experimentales para el secado en túnel, mientras que para el secado en invernadero hubo una semejanza del 90-95 % entre los datos experimentales y modelados.

Fig. 3. Secado en invernadero de chile habanero entero y en mitades: experimentación y modelado.



Cabe destacar la propuesta de emplear dos tipos diferentes de coeficientes de transferencia de masa, h_m para la cara del chile sin piel, al ser cortado en mitades, y que solo toma en cuenta la difusividad del vapor de agua desde la superficie del chile a la corriente de aire. Mientras que U_m , para la cara del chile con piel, tomó en cuenta el grosor de esta cutícula que es una resistencia adicional a la pérdida de humedad y que por lo tanto haría más lento el secado.

3.3 MODELADO PARA EL CHILE ENTERO.

A continuación se muestran las ecuaciones obtenidas en forma *explícita*, considerando una transferencia de masa bidimensional en las direcciones radial y axial del chile entero, considerado como un cilindro hueco, y para nueve nodos; las ecuaciones se presentan a continuación:

$$W_0^i \left[1 - \mathcal{F}_m \left(4 + \frac{2}{a^2} \right) \right] + \mathcal{F}_m \left[4W_1^i + \frac{W_5^i + W_8^i}{a^2} - 4U_m \frac{n}{m} \frac{\Delta r}{\rho D i f} (C_{ws} - C_w) \right] = W_0^{i+1}$$

$$W_1^i \left[-2\mathcal{F}_m \left(2 + \frac{1}{a^2} \right) \right] + \mathcal{F}_m \left[\frac{W_3^i + W_4^i}{a^2} + 2(W_0^i + W_2^i) \right] = W_1^{i+1}$$

$$W_2^i \left[1 - \mathcal{F}_m \left(4 + \frac{2}{a^2} \right) \right] + \mathcal{F}_m \left[4W_1^i + \frac{W_6^i + W_7^i}{a^2} - 4U_m \frac{n}{m} \frac{\Delta r}{\rho D i f} (C_{ws} - C_w) \right] = W_2^{i+1}$$

$$W_3^i \left[1 - 2\mathcal{F}_m \left(2 + \frac{1}{a^2} \right) \right] + \mathcal{F}_m \left[2(W_7^i + W_8^i) + \frac{2W_1^i}{a^2} - \frac{2}{a} U_m \frac{\Delta r}{\rho D i f} (C_{ws} - C_w) \right] = W_3^{i+1}$$

$$W_4^i \left[1 - 2\mathcal{F}_m \left(2 + \frac{1}{a^2} \right) \right] + \mathcal{F}_m \left[2(W_5^i + W_6^i) + \frac{2W_4^i}{a^2} - \frac{2}{a} U_m \frac{\Delta r}{\rho D i f} (C_{ws} - C_w) \right] = W_4^{i+1}$$

$$W_5^i \left[1 - 2\mathcal{F}_m \left(2 + \frac{1}{a^2} \right) \right] + \mathcal{F}_m \left[4W_4^i + \frac{2W_5^i}{a^2} - \frac{2\Delta r}{\rho D i f} (C_{ws} - C_w) \left(\frac{U_m}{a} + \frac{2n}{m} U_m \right) \right] = W_5^{i+1}$$

$$W_6^i \left[1 - 2\mathcal{F}_m \left(2 + \frac{1}{a^2} \right) \right] + \mathcal{F}_m \left[4W_4^i + \frac{2W_6^i}{a^2} - \frac{2\Delta r}{\rho D i f} (C_{ws} - C_w) \left(\frac{U_m}{a} + \frac{2n}{m} U_m \right) \right] = W_6^{i+1}$$

$$W_7^i \left[1 - 2\mathcal{F}_m \left(2 + \frac{1}{a^2} \right) \right] + \mathcal{F}_m \left[4W_3^i + \frac{2W_7^i}{a^2} - \frac{2\Delta r}{\rho D i f} (C_{ws} - C_w) \left(\frac{U_m}{a} + \frac{2n}{m} U_m \right) \right] = W_7^{i+1}$$

$$W_8^i \left[1 - 2\mathcal{F}_m \left(2 + \frac{1}{a^2} \right) \right] + \mathcal{F}_m \left[4W_3^i + \frac{2W_8^i}{a^2} - \frac{2\Delta r}{\rho D i f} (C_{ws} - C_w) \left(\frac{U_m}{a} + \frac{2n}{m} U_m \right) \right] = W_8^{i+1}$$

Los términos se describen a continuación:

a) τ_m (número de Fourier) = $D \Delta t / \Delta r^2$;

Δr (separación entre nodos en el eje radial) = 0.01 m; Δz (separación entre nodos en el eje axial) = 0.0225 m; $a = \Delta z / \Delta r$; n, m (relaciones geométricas de área y volumen del elemento de volumen) = 3/5 y 2/5, respectivamente.

b) ρ (densidad promedio del chile habanero) = 390 kg/m³;

c) el resto de los términos ya fueron definidos previamente.

En las figuras 2 y 3, se presentan los resultados experimentales y modelados del chile habanero entero. Los resultados modelados fueron prácticamente iguales a los resultados experimentales para el secado por convección forzada en el túnel (figura 2), mientras que para el secado en invernadero hubo una semejanza promedio del 90% entre los datos experimentales y modelados (figura 3). En esta parte del modelado sólo se empleó el coeficiente de transferencia de masa (U_m), puesto que el chile entero está rodeado por “su piel”, y este coeficiente tomó en cuenta el grosor de esta “cutícula” que es una resistencia adicional a la pérdida de humedad.

4 FINANCIAMIENTO

Instituto Politécnico Nacional. Proyecto SIP 20210435.

5 CONCLUSIONES

El secado de chile habanero entero en secador tipo túnel a 70 °C y 2 m/s conservó el 72% de la capsaicina, mientras que para el chile en mitades sólo se conserva el 59%

a las mismas condiciones de secado. Se recomienda secar en mitades porque el tiempo de secado se reduce 3 a 4 veces con respecto al chile entero. El secado en invernadero conservó el 56% de capsaicina en chile entero y sólo el 46% en chile en mitades, pero el tiempo de secado es tres veces menor en el chile en mitades; así, el secado de chile en mitades en invernadero sería competitivo si se empleara un ventilador que trabajara día y noche para reducir aún más el tiempo de secado según el modelado.

REFERENCIAS

Cengel, Y., Ghajar, A. 2011. Transferencia de calor y masa. 3ra edición. México: McGraw-Hill. Capítulos V y XIV.

Cisneros-Pineda O., Torres-Tapia L.W., Gutiérrez-Pacheco L.C., Contreras-Martín F., González-Estrada T., Peraza-Sánchez S.R. 2007. "Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico". *Food Chemistry* 104(4): 1755-1760.

Domínguez-Cañedo I.L., Beristain-Guevara C.I., Díaz-Sobac R., Vázquez-Luna A. 2015. "Degradación de carotenoides y capsaicina en el complejo de inclusión molecular de oleoresina de chile habanero (*Capsicum chinense*) con β -ciclodextrina". *CyTA-Journal of Food* 13(1): 151-158.

Forsythe G. E. y Wasow W. R. 1960. Finite Difference Methods for Partial Differential Equations, Nueva York: John Wiley & Sons.

Latournerie L., Chávez J.L., Pérez M., Hernández C.F., Martínez R., Arias L.M., Castañón G. 2001. "Exploración de la diversidad morfológica de chiles regionales en Yucabá, Yucatán, México". *Agronomía Mesoamericana* 12(1): 41-47.

Özisi, M. N. 1994. Finite Difference Methods in Heat Transfer, Boca Ratón, FL: CRC Press.

Pino J., González M., Ceballos L., Centurión-Yah A.R., Trujillo-Aguirre J., Latournerie-Moreno L., Sauri-Duch E. 2007. "Characterization of total capsaicinoids, color and volatile compounds of Habanero chilli pepper (*Capsicum chinense* Jack.) cultivars grown in Yucatan". *Food Chemistry* 104: 1682-1686.

Singh, P., Heldman, D. 2009. Introducción a la ingeniería de los alimentos. 2da edición. España: ACRIBIA. Capítulos IV y IX.

SOBRE O ORGANIZADOR

Manuel Simões é licenciado em Engenharia Biológica e doutorado em Engenharia Química e Biológica. Atualmente é Professor Associado com Agregação e Pró-Diretor da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto (FEUP), e investigador sénior do Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia (LEPABE) do Departamento de Engenharia Química da FEUP. Nos últimos anos esteve envolvido em 10 projetos nacionais (5 como investigador principal) e 6 projetos europeus. Foi membro do comité de gestão da ação COST BACFOODNET (Rede Europeia para Mitigação da Colonização e Persistência Bacteriana em Alimentos e Ambientes de Processamento de Alimentos) e esteve envolvido em outras 2 ações: iPROMEDAI e MUTALIG. Manuel Simões tem mais de 190 artigos publicados em revistas indexadas no Journal of Citation Reports, 4 livros (1 como autor e 3 como editor) e mais de 40 capítulos em livros. Ele é Editor Associado para o jornal Biofouling - The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research (o periódico mais antigo sobre pesquisa em biofilme), Editor Associado para o jornal Frontiers in Microbiology e Section Editor-in-Chief para o jornal Antibiotics. Seus principais interesses de pesquisa estão focados nos mecanismos de formação de biofilme e seu controlo com agentes antimicrobianos, particularmente usando novas moléculas antimicrobianas, e no uso de microalgas para tratamento de efluentes. É um dos investigadores mais citados do mundo (top 1%), tendo sido distinguido nos últimos dois anos no índice Essential Science Indicators, um dos mais prestigiados indicadores da qualidade de investigação.

Identificação SCOPUS: 55608338000; Nº orcid: 0000-0002-3355-4398

ÍNDICE REMISSIVO

A

Aceite 1, 12, 38, 40, 44, 54, 62, 76, 80, 84, 96, 106, 133, 134, 135, 138, 139, 140, 141
Aceituna 134, 136, 138, 139, 140
Acné 84, 85, 88, 89, 90, 92, 93, 94, 95
Aguacate criollo 1, 2, 3, 4, 9, 10
Aleurona 38, 39, 40, 41, 42, 43
Anatomía *Tropaeolum tuberosum* 12
Antibióticos 88, 96, 97, 98, 99, 101, 102, 103, 104, 105
Aplicabilidade 96, 103, 105

B

Bactérias 78, 84, 88, 89, 92, 96, 97, 98, 99, 101, 102, 105
Begonia 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82
Bioetanol 63, 64, 65, 68, 73, 74
Box-Behnken 62, 63, 66, 72, 75
Brotación 44, 45, 47, 48, 49, 50, 52

C

Caracterización morfológica y genética 1, 2
Celulasas 62, 63, 64, 65, 66, 69, 70, 72, 73, 74
Chile habanero 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149
Compostos-bioativos 96
Conservación 65, 107, 131, 132, 145
Cultivares 9, 10, 11, 54, 78

D

Daños 54, 56, 78
Deficitario 134, 135, 137, 138, 140
Dermatitis atópica 84, 85, 86, 87, 88, 93
Diferencias finitas 142, 145

E

Ecofisiología 12, 35, 36
Educação 96

Endospermo 38, 39, 40, 41, 42, 43

I

Inflamación 84, 85, 86, 87, 88, 91, 92, 93

Invernadero 64, 76, 79, 82, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149

M

Manglares 106, 107, 110, 118, 119, 122, 123, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132

Modelado 141, 142, 144, 145, 147, 148, 149

Monitoreo 106, 107, 108, 109, 112, 116, 120, 122, 126, 131, 132

Mortalidad 107, 109, 113, 114, 116, 118, 119, 122, 125, 126, 129

N

Nematodo del nudo de la raíz 77

O

Olivar 133, 134, 135, 139, 140

Optimización 62, 63, 65, 66, 70, 72

P

Papa 13, 32, 33, 35, 45, 46, 47, 49, 50, 51, 52, 53

Pardeamiento 44, 45, 47, 48, 49, 51, 52

Patrones perineales 76, 77, 80, 81

Pericarpio 38, 39, 40, 41, 42, 142

Piel 84, 85, 86, 87, 88, 90, 92, 93, 144, 145, 146, 147, 148

Psoriasis 84, 85, 90, 91, 92, 93

Punta morada 44, 45, 46, 52, 53

R

Regeneración 107, 114, 116, 119, 120, 122, 126, 129

Resistência 44, 57, 77, 89, 92, 96, 97, 98, 99, 103, 147, 148

Riego 3, 46, 108, 127, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140

S

Secado 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149

T

Trips 54, 56, 57, 58, 59, 60, 61

Tropaeolum tuberosum 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 32, 33, 34, 36, 37

X

Xantonas 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93

Z

Zea mays 39