

Portada

Podopterus mexicanus Humb. & Bonpl. Polygonaceae. "Rompe capa". Árboles o arbustos de 1.5-6.0 m de altura, ramas con espina terminal, braquiblastos, hojas fasciculadas, flores blancas a verdosas en fascículos, y frutos cubiertos por el perianto externo que forma alas delgadas y largamente decurrentes hacia el pedicelo. Crece en bosques tropicales caducifolios y bosques espinosos, sobre suelo rocoso negro derivado de rocas ígneas. En elevaciones de 550-760 m. Florece de abril a mayo y fructifica de junio a septiembre. Se distribuye desde México hasta Centroamérica. En México se encuentra en los estados de Colima, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán. Se utiliza como planta melífera y para leña.



Podopterus mexicanus Humb. & Bonpl. Polygonaceae. "Rompe capa". Trees or shrubs 1.5-6.0 m tall, branches with a terminal spine, brachyblasts, fasciculate leaves, white to greenish flowers in fascicles, and fruit covered by the external perianth that forms thin wings and longly decurrent towards the pedicel. It grows in tropical deciduous forests and thorny forests, on black, rocky soil derived from igneous rocks. At elevations of 550-760 m. Blossoms from April to May and bears fruit from June to September. It is distributed from Mexico to Central America. In Mexico it is found in the states of Colima, Guerrero, Oaxaca, Puebla, Tamaulipas, Veracruz and Yucatán. It is used as a melliferous plant and for firewood.

por/by **Rafael Fernández Nava**



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Director General: *Dr. Arturo Reyes Sandoval*

Secretario General: *Mtro. Juan Manuel Cantú Vázquez*

Secretario Académico: *Dr. David Jaramillo Viguera*

Secretario de Extensión e Integración Social: *Dr. Luis Alfonso Villa Vargas*

Secretario de Investigación y Posgrado: *Dra. Laura Arreola Mendoza*

Secretario de Servicios Educativos: *Dra. Ana Lilia Coria Páez*

Secretario de Administración: *M. en C. Javier Tapia Santoyo*

Director de Educación Superior: *Mtro. Mauricio Igor Jasso Zaranda*

ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Directora:

Dra. Yadira Rivera Espinoza

Subdirectora Académica:

M. en C. Martha Patricia Cervantes Cervantes

Subdirector Administrativo:

Ing. Raúl Chávez Alvircio

Jefe de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación:

Dr. Gerardo Aparicio Ozores

Subdirector de Servicios Educativos e Integración Social:

Dr. Felipe Neri Rodríguez Casasola

POLIBOTÁNICA, Año 27, No. 53, enero-junio 2022, es una publicación semestral editada por el Instituto Politécnico Nacional, a través de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340 Delegación Miguel Hidalgo México, D.F. Teléfono 57296000 ext. 62331. <http://www.herbario.encb.ipn.mx/>, Editor responsable: Rafael Fernández Nava. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2015-011309001300-203. ISSN impreso: 1405-2768, ISSN digital: 2395-9525, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este número, Unidad de informática de la ENCB del IPN, Rafael Fernández Nava, Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340 Delegación Miguel Hidalgo México, D.F.

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

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

REVISTA BOTÁNICA INTERNACIONAL DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

EDITOR EN JEFE

Rafael Fernández Nava

EDITORA ASOCIADA

María de la Luz Arreguín Sánchez

COMITÉ EDITORIAL INTERNACIONAL

Christiane Anderson
University of Michigan
Ann Arbor, Michigan, US

Heike Vibrans
Colegio de Postgraduados
Estado de México, México

Graciela Calderón de Rzedowski
Instituto de Ecología del Bajío
Pátzcuaro, Mich., México

Theodore S. Cochran
University of Wisconsin
Madison, Wisconsin, US

Hugo Cota Sánchez
University of Saskatchewan
Saskatoon, Saskatchewan, Canada

Fernando Chiang Cabrera
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Thomas F. Daniel
California Academy of Sciences
San Francisco, California, US

Francisco de Asis Dos Santos
Universidad Estadual de Feira de Santana
Feira de Santana, Brasil

Carlos Fabián Vargas Mendoza
Instituto Politécnico Nacional
Ciudad de México, México

José Luis Godínez Ortega
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

José Manuel Rico Ordaz
Universidad de Oviedo
Oviedo, España

Edith V. Gómez Sosa
Instituto de Botánica Darwinion
Buenos Aires, Argentina

Jorge Llorente Bousquets
Universidad Nacional Autónoma de México
Ciudad de México, México

Delia Fernández González
Universidad de León
León, España

Jerzy Rzedowski Rotter
Instituto de Ecología del Bajío
Pátzcuaro, Mich., México

Luis Gerardo Zepeda Vallejo
Instituto Politécnico Nacional
Ciudad de México, México

Claude Sastre
Muséum National d'Histoire Naturelle
París, Francia

Mauricio Velayos Rodríguez
Real Jardín Botánico
Madrid, España

Noemí Waksman de Torres
Universidad Autónoma de Nuevo León
Monterrey, NL, México

Julieta Carranza Velázquez
Universidad de Costa Rica
San Pedro, Costa Rica

Tom Wendt
University of Texas
Austin, Texas, US

DISEÑO Y FORMACIÓN ELECTRÓNICA

Luz Elena Tejeda Hernández

OPEN JOURNAL SYSTEM Y TECNOLOGÍAS DE LA INFORMACIÓN

Pedro Aráoz Palomino

POLIBOTÁNICA, revista botánica internacional del Instituto Politécnico Nacional, incluye exclusivamente artículos que representen los resultados de investigaciones originales en el área. Tiene una periodicidad de dos números al año, con distribución y Comité Editorial Internacional.

Todos los artículos enviados a la revista para su posible publicación son sometidos por lo menos a un par de árbitros, reconocidos especialistas nacionales o internacionales que los revisan y evalúan y son los que finalmente recomiendan la pertinencia o no de la publicación del artículo, cabe destacar que este es el medio con que contamos para cuidar el nivel y la calidad de los trabajos publicados.

INSTRUCCIONES A LOS AUTORES PARA LA PUBLICACIÓN DE TRABAJOS

Se aceptarán aquellos originales que se ajusten a las prescripciones siguientes:

POLIBOTÁNICA incluye exclusivamente artículos que representen los resultados de investigaciones originales que no hayan sido publicados.

1. El autor deberá anexar una carta membretada y firmada dirigida al Editor, donde se presente el manuscrito, así como la indicación de que el trabajo es original e inédito, ya que no se aceptan trabajos publicados o presentados anterior o simultáneamente en otra revista, circunstancia que el autor(es) deberá declarar expresamente en la carta de presentación de su artículo.
2. Al quedar aceptado un trabajo, su autor no podrá ya enviarlo a ninguna otra revista nacional o extranjera.
3. Los artículos deberán estar escritos en español, inglés, francés o portugués. En el caso de estar escritos en otros idiomas diferentes al español, deberá incluirse un amplio resumen en este idioma.
4. Como parte de los requisitos del CONACYT, POLIBOTÁNICA ahora usa la plataforma del Open Journal System (OJS); para la gestión de los artículos sometidos a la misma. Así que le solicitamos de la manera más atenta sea tan amable de registrarse y enviar su artículo en la siguiente liga: www.polibotanica.mx/ojs/index.php/polibotanica
 - a) cargar el trabajo en archivo electrónico de office-word, no hay un máximo de páginas con las siguientes características:
 - b) en páginas tamaño carta, letra times new roman 12 puntos a doble espacio y 2 cm por margen
5. Las figuras, imágenes, gráficas del trabajo deben estar incluidas en el documento de Word original:
 - a) en formato jpg
 - b) con una resolución mínima de 300 dpi y un tamaño mínimo de 140 mm de ancho
 - c) las letras deben estar perfectamente legibles y contrastadas
6. Todo trabajo deberá ir encabezado por:
 - a) Un título tanto en español como en inglés que exprese claramente el problema a que se refiere. El formato para el título es: negritas, tamaño 14 y centrado;
 - b) El nombre del autor o autores, con sus iniciales correspondientes, sin expresión de títulos o grados académicos. El formato para los autores es: alineados a la izquierda, cada uno en un párrafo distinto y tamaño 12. Cada autor debe tener un número en formato superíndice indicando a qué afiliación pertenece;
 - c) La designación del laboratorio e institución donde se realizó el trabajo. La(s) afiliación(es) debe(n) estar abajo del grupo de autores. Cada afiliación deberá estar en un párrafo y tamaño

12. Al inicio de cada afiliación estará el número en superíndice que lo relaciona con uno o más autor/es.

d) El autor para correspondencia deberá estar en el siguiente párrafo, alineado a la izquierda, tamaño 12.

7. Todo trabajo deberá estar formado por los siguientes capítulos:

a) RESUMEN y ABSTRACT. Palabras clave y Key Words. El resumen debe venir después de la afiliación de los autores, alineado a la izquierda, tamaño 12. La palabra “Resumen: / Abstract:” debe venir en negritas y con dos puntos. El texto del resumen debe empezar en el párrafo siguiente, tamaño 12 y justificado. El texto “Palabras clave / Key Words:” debe venir en negritas seguido de dos puntos. Cada una de las palabras clave deben estar separadas por coma o punto y coma, finalizadas por punto.

b) INTRODUCCIÓN y MÉTODOS empleados. Cuando se trate de técnicas o métodos ya conocidos, solamente se les mencionará por la cita de la publicación original en la que se dieron a conocer. El formato para todas las secciones en esta lista es: negritas, tamaño 16 y centrado.

c) RESULTADOS obtenidos. Presentación acompañada del número necesario de gráficas, tablas, figuras o diagramas de tamaño muy cercano al que tendrá su reproducción impresa (19 x 14 cm).

d) DISCUSIÓN concisa de los resultados obtenidos, limitada a lo que sea original y a otros datos relacionados directamente y que se consideren nuevos.

e) CONCLUSIONES.

ESPECIFICACIONES DE FORMATO PARA EL CUERPO DEL TRABAJO

1. Secciones/Subtítulos de párrafo: Fuente tamaño 16, centrado, en negritas, con la primera letra en mayúscula.
2. Subsecciones/Subtítulos de párrafo secundarios : Fuente tamaño 14, centrado, en negritas, con la primera letra en mayúscula. Cuando existan subsecciones de subsección formatear en tamaño 13 negrita y centrado.
3. Cuerpo del texto: Fuente tamaño 12, justificado. NO debe haber saltos de línea entre párrafos.
4. Las notas de pie de página deben estar al final de cada página, fuente tamaño 12 justificadas.
5. Cita textual con mas de tres líneas: Fuente tamaño 12, margen izquierdo de 4 cm.
6. Título de imágenes: Fuente tamaño 12, centrado y en negritas, separado por dos puntos de su descripción. Descripción de las imágenes: tamaño 12.
7. Notas al pie de las imágenes: Fuente tamaño 12 y centradas con respecto a la imagen, la primera letra debe estar en mayúsculas.
8. Imágenes: deben estar en el cuerpo del texto, insertadas en formato png o jpg, a por lo menos 300 dpi de resolución y centradas. Las imágenes deben estar en línea con el texto. Se consideran imágenes: gráficos, cuadros, fotografías, diagramas y, en algunos casos, tablas y ecuaciones.
9. Tablas de tipo texto: El título de las columnas de las tablas debe estar en negritas y los datos del cuerpo de la tabla con fuente normal. Los nombres científicos deben estar en itálicas. Se recomienda utilizar las Tablas como imágenes, estas deberán de ir centradas (a por lo menos 300 dpi de resolución).
10. Notas al pie de la tabla: Fuente tamaño 12 y centradas con respecto a la tabla, la primera letra debe estar en mayúsculas.
11. Ecuaciones pueden estar en Mathtype 1 o en imagen. En este último caso, seguir instrucciones del punto 8.
12. Citas del tipo autor y año deben estar entre paréntesis, con el apellido del autor seguido por el año (Souza, 2007), primera letra en mayúscula.

8. LITERATURA CITADA, Se tomara como base el Estilo APA para las Referencias Bibliográficas, formada por las referencias mencionadas en el texto del trabajo y en orden alfabético. Es obligatorio utilizar Mendeley® (software bibliográfico). El propósito de utilizar este tipo de software es asegurar que los datos contenidos en las referencias están correctamente estructurados y corresponden a las citas del cuerpo del texto.

ESTRUCTURA Y FORMATO DE LOS AGRADECIMIENTOS Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Los Agradecimientos deberán estar después de la última sección del cuerpo del texto. Esta información debe tener como título la palabra “Agradecimientos”, o su equivalente en otro idioma, en negritas, tamaño 12 y centrado. El texto de esta información debe estar en tamaño 12 justificado.
2. Las Referencias bibliográficas deben estar en orden alfabético sin salto de línea de párrafo, alineados a la izquierda, en tamaño 12.
3. Apéndices, anexos, glosarios y otros materiales deben incluirse después de las referencias bibliográficas. En caso de que estos materiales sean extensos deberán ser creados como archivos PDF.

9. REVISIÓN Y PUBLICACIÓN

Todos los artículos enviados a la revista para su posible publicación serán sometidos a una revisión “doble ciego”, se enviarán por lo menos a un par de árbitros, reconocidos especialistas nacionales o internacionales que los revisarán y evaluarán y serán los que finalmente recomienden la pertinencia o no de la publicación del artículo, cabe destacar que este es el medio con que contamos para cuidar el nivel y la calidad de los trabajos publicados.

Una vez aceptado el trabajo, se cobrarán al autor(es) \$299.25 por página más IVA, independientemente del número de fotografías que contenga.

PUBLICATION GUIDELINES

POLIBOTÁNICA, an international botanical journal supported by the National Polytechnic Institute, only publishes material resulting of original research in the botanic area. It has a periodicity of two issues per year with international distribution and an international Editorial Committee.

All articles submitted to POLIBOTÁNICA for publication are reviewed by at least a couple of referees. National or international recognized experts will evaluate all submitted materials in order to recommend the appropriateness or otherwise of a publication. Therefore, the quality of published papers in POLIBOTÁNICA is of the highest international standards.

FOR PUBLICATION OF ARTICLES

Originals that comply with the following requirements will be accepted:

1. POLIBOTÁNICA includes only items that represent the results of original research which have not been published. The author should attach an official and signed letter to Editor stating that the work is original and unpublished. We do not accept articles published or presented before or simultaneously in another journal, a fact that the author (s) must expressly declare in the letter.
2. When an article has been accepted, the author can no longer send it to a different national or foreign journal.
3. Articles should be written in Spanish, English, French or Portuguese. In the case of be written in

languages other than Spanish, it should include an abstract in English.

4. The article ought to be sent to the POLIBOTÁNICA's Open Journal System <http://www.polibotanica.mx/ojs> in an office-word file without a maximum number of pages with the following features:

a) on letter-size pages, Times New Roman font type, 12-point font size, double-spaced and 2 cm margin

5. The figures, images, graphics in the article must be attached as follows:

a) in jpg format

b) with a minimum resolution of 300 dpi and a minimum size of 140 mm wide

c) all characters must be legible and contrasted

6. All articles must include:

a) a title in both Spanish and English that clearly express the problem referred to. The format for this section is: bold, font size 14 and centered.;

b) the name of the author or authors, with their initials, no titles and no academic degrees. The format for this section is: font size 12, aligned to the left, each name in a different paragraph but without spaces in-between and a superscript number indicating the affiliation;

c) complete affiliations of all authors (including laboratory or research institution). The format for this section is: font size 12, aligned to the left, each name in a different paragraph but without spaces in-between and a superscript number at the beginning of the affiliation;

d) correspondence author should be in the next paragraph, font size 12 and aligned to the left.

7. All work should be composed of the following chapters:

a) RESUMEN and ABSTRACT. Palabras clave y Key Words. The format for this section is: bold, font size 12 and centered. Both words (RESUMEN: and ABSTRACT:) must include a colon, be in bold and aligned to the left. The body of the abstract must be justified and in font size 12. Both palabras clave: and keywords: must include a colon, be in bold and aligned to the left. Keywords must be separated by a comma or semicolon, must be justified and in font size 12.

b) INTRODUCTION y METHODS. In the case of techniques or methods that are already known, they were mentioned only by appointment of the original publication in which they were released.

c) RESULTS. Accompanied with presentation of the required number of graphs, tables, figures or diagrams very close to the size which will be printed (19 x 14 cm).

d) DISCUSSION. A concise discussion of the results obtained, limited to what is original and other related directly and considered new data.

e) CONCLUSIONS. The format for sections Introduction, Results, Discussion and Conclusions is: bold, font size 16 and centered.

FORMAT SPECIFICATIONS FOR THE BODY OF WORK

1. Sections: Font size 16, centered, bold, with the first letter capitalized.
2. Subsections / Secondary Subtitles: Font size 14, centered, bold, with the first letter capitalized. When there are second grade subsections format in size 13 bold and centered.
3. Body: Font size 12, justified. There should NOT be line breaks between paragraphs.
4. Footnotes should be at the bottom of each page, font size 12 and justified.
5. Textual quotation with more than three lines: Source size 12, left margin of 4 cm.
6. Image Title: Font size 12, centered and bold, separated by two points from its description. Description of the images: size 12.
7. Images Footnotes: Font size 12 and centered with respect to the image, the first letter must be in capital letters.
8. Images: must be in the body of the text, inserted in png or jpg format, at least 300 dpi resolution and centered. Images should be in line with the text. Graphs, charts, photographs, diagrams and, in some cases, tables and equations are considered images.
9. Text Tables: Only The title of the columns of the tables must be in bold. Scientific names must be in italics. It is recommended to use the Tables as images, they should be centered (at least 300 dpi resolution).
10. Footnotes: Font size 12 and centered with respect to the table, the first letter must be in upper case.
11. Equations can be in Mathtype 1 or in image. In the latter case, follow the instructions in point 8.
12. Quotations of the author and year type must be in parentheses, with the author's last name followed by the year (Souza, 2007), first letter in capital letters.

8. LITERATURE CITED. All references must be cited using the APA stile. POLIBOTÁNICA requires the use of Mendeley® (free reference manager) for the entire bibliography.

STRUCTURE AND FORMAT OF ACKNOWLEDGMENTS AND BIBLIOGRAPHICAL REFERENCES

1. Acknowledgments must be after the last section of the body of the text. This information should be titled the word "Acknowledgments", or its equivalent in another language, in bold, size 12 and centered. The text of this information must be in size 12 justified.
2. Bibliographical references should be in alphabetical order without paragraph line jump, aligned to the left, in size 12.
3. Appendices, annexes, glossaries and other materials should be included after the bibliographic references. If these materials are extensive they should be created as PDF files.

9. REVIEW AND PUBLICATION

All articles submitted to the journal for publication will undergo a review "double-blind", they will be sent at least a couple of referees, recognized national or international experts that reviewed and evaluated and will be finally recommended the relevance or the publication of the article, it is noteworthy that this is the means that we have to take care of the level and quality of published articles.

Once accepted the article, the author will be charged \$15.88 USD per text page, regardless of how many pictures it contains.

Toda correspondencia relacionada con la revista deberá ser dirigida a:

Dr. Rafael Fernández Nava
Editor en Jefe de

POLIBOTÁNICA

Departamento de Botánica
Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional
Apdo. Postal 17-564, CP 11410, Ciudad de México

Correo electrónico:

polibotanica@gmail.com

rfernand@ipn.mx

Dirección Web

http://www.polibotanica.mx

POLIBOTÁNICA es una revista indexada en:

CONACYT, índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

SciELO - Scientific Electronic Library Online.

Google Académico - Google Scholar.

DOAJ, Directorio de Revistas de Acceso Público.

Dialnet portal de difusión de la producción científica hispana.

REDIB Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico.

LATINDEX, Sistema regional de información en línea para revistas científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal.

PERIODICA, Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias.



FABÁCEAS DEL ÁREA DE PROTECCIÓN DE FLORA Y FAUNA MÉDANOS DE SAMALAYUCA, CHIHUAHUA, MÉXICO

FABACEAS OF THE FLORA AND FAUNA PROTECTION AREA MEDANOS DE SAMALAYUCA, CHIHUAHUA, MEXICO

Rueda-Torres, J. R.; L. De León-Pesqueira y A. B. Gatica-Colima.

FABÁCEAS DEL ÁREA DE PROTECCIÓN DE FLORA Y FAUNA MÉDANOS DE SAMALAYUCA, CHIHUAHUA, MÉXICO.

FABACEAS OF THE FLORA AND FAUNA PROTECTION AREA MEDANOS DE SAMALAYUCA, CHIHUAHUA, MEXICO.



FABÁCEAS DEL ÁREA DE PROTECCIÓN DE FLORA Y FAUNA MÉDANOS DE SAMALAYUCA, CHIHUAHUA, MÉXICO.

FABACEAS OF THE FLORA AND FAUNA PROTECTION AREA MEDANOS DE SAMALAYUCA, CHIHUAHUA, MEXICO.

Rueda-Torres, J.R.;
L. De León-Pesqueira
y A. B. Gatica-Colima

FABÁCEAS DEL ÁREA DE
PROTECCIÓN DE FLORA Y
FAUNA MÉDANOS DE
SAMALAYUCA,
CHIHUAHUA, MÉXICO.

FABACEAS OF THE FLORA
AND FAUNA PROTECTION
AREA MEDANOS DE
SAMALAYUCA,
CHIHUAHUA, MEXICO.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 1-12. Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.1

J. R. Rueda-Torres
L. De León-Pesqueira

A. B. Gatica-Colima / agatica@uacj.mx

Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Instituto de Ciencias Biomédicas,
Departamento de Ciencias Químico-Biológicas. Anillo Envoltante del PRONAF y
Estocolmo s/n, Ciudad Juárez, Chih., Méx. C.P. 32310.

RESUMEN: El Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca (APFFMS) con una superficie de 631.82 km² se localiza entre los municipios de Juárez, Ahumada y Guadalupe D.B., en el estado de Chihuahua, con cuenta con dos sistemas de sierras y un sistema complejo de dunas de arena de sílice. El clima es del tipo BWKx' (e') con una precipitación promedio anuales de 212 mm. La vegetación es dominada principalmente por *Larrea tridentata* y *Prosopis glandulosa*. Estudios florísticos en el estado de Chihuahua revelan que la familia Fabaceae es una de las más importantes en cuanto a diversidad, abundancia e importancia económica. Por ello, el objetivo del presente trabajo es actualizar la lista de Fabaceae del Programa de Manejo del APFF a partir de los ejemplares colectados del proyecto PJ018. Se establecieron cinco zonas de muestreo en la temporada seca, húmeda y post-húmeda (2017-2018) en búsqueda de leguminosas. Los resultados de este trabajo incrementan substancialmente el inventario previo de Fabaceae para el área dentro del Programa de Manejo del APFFMS al registrarse 27 taxa. El presente trabajo aumenta el conocimiento florístico y contribuye potencialmete a la toma de decisiones para su conservación y planeación.

Palabras clave: Leguminosae, riqueza, especies, flora, ANP.

ABSTRACT: The Area for the Protection of Flora and Fauna Medanos de Samalayuca (APFFMS) has an area of 631.82 km² is located between the municipalities of Juarez, Ahumada and Guadalupe D.B., in the state of Chihuahua, it has two mountain ranges and a complex system of silica sand dunes. The climate is of the BWKx '(e)' type with an average annual rainfall of 212 mm. The vegetation is mainly dominated by *Larrea tridentata* and *Prosopis glandulosa*. Floristic studies in the state of Chihuahua reveal that the Fabaceae family is one of the most important in terms of diversity, abundance and economic importance. Therefore, the objective of this work is to update the list of Fabaceae of the APFF Management Program from the specimens collected from the PJ018 project. Five sampling zones were established in the dry, humid and post-humid season (2017-2018) in search of legumes. The results of this work substantially increase the previous Fabaceae inventory for the area within the APFFMS Management Program by registering 27 taxa. The present work increases floristic knowledge and potentially contributes to decision-making for its conservation and planning

Key works: Leguminosae, richness, species, flora, ANP.

INTRODUCCIÓN

La familia Fabaceae o Leguminosae se ha considerado tradicionalmente conformada por tres subfamilias: Caesalpinioideae, Mimosoideae y Papilionoideae (Cronquist, 1981). Recientes estudios filogenéticos establecieron una nueva clasificación, conformada por seis subfamilias: Caesalpinioideae, Cercidoideae, Detarioideae, Dialioideae, Duparquetioideae y Papilionoideae (LPWG, 2017). Son abundantes en los trópicos donde se encuentran la mayoría de las especies, aunque pueden ser encontradas en llanuras templadas, bosques, desiertos y como malas hierbas en zonas agrícolas, industriales y urbanas (Berry *et al.*, 2018). Se ha estimado una riqueza a nivel mundial de 727 géneros y cerca de 19,325 especies (Lewis *et al.*, 2005). México es el segundo país más diverso en especies de leguminosas registrando 1,893 especies de las cuales el 40% son endémicas (Delgado-Salinas *et al.*, 2021).

Con su gran extensión territorial Chihuahua cuenta con diversas comunidades vegetales, donde se han registrado diferentes especies de Fabaceae. En la zona de la laguna Babícora, en los municipios de Gómez Farías y Madera, Estrada *et al.* (1997) documentaron 18 géneros y 48 especies, mientras que para la porción central del estado de Chihuahua Estrada-Castillón y Martínez (2000) registraron 42 géneros y 117 especies, siendo los géneros *Dalea*, *Acacia*, *Phaseolus*, *Desmodium*, *Senna* y *Mimosa* los más diversos. Lebgue *et al.* (2005) registraron 76 géneros y 110 especies en las Barrancas del Cobre, siendo Fabaceae el segundo grupo vegetal con mayor biodiversidad en esa zona, abarcando desde hierbas, árboles y arbustos. La familia Fabaceae ocupa el tercer lugar en número de géneros (45) y especies (137) de plantas vasculares para la región semiárida del centro del estado de Chihuahua (Estrada-Castillón y Villarreal-Quintanilla, 2010). Para el Valle de Janos, se ubica como el tercer grupo de plantas vasculares con mayor diversidad, con 14 géneros y 28 especies registradas, siendo solo superada por Asteraceae y Poaceae (Vega-Mares *et al.*, 2014). Sin embargo, en la porción más norteña del estado los estudios florísticos son escasos, el Programa de Manejo del APFF Médanos de Samalayuca (CONANP, 2013), con 36 familias un total de 248 especies de Fabaceae, representada por 9 géneros y 14 especies. A través de la CONABIO y CONANP se desarrolló entre 2017 y 2019 el proyecto PJ018 “Inventario multitaxonómico del Área Natural Protegida (ANP), Área de Protección de Flora y Fauna (APFF) Médanos de Samalayuca” que resultó en el registro de 273 especies de plantas vasculares, entre ellas Fabaceae (Gatica-Colima, 2019). Por ello, el objetivo del presente trabajo es actualizar la lista de Fabaceae del Programa de Manejo del APFF a partir de los ejemplares colectados del proyecto PJ018, con lo que se podrá contribuir con el conocimiento que permita la preservación, manejo, protección y conservación del ecosistema de los Médanos de Samalayuca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Descripción de área de estudio

El Área Natural Protegida (ANP) clasificada como Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca (APFFMS), se localiza entre las coordenadas 31°23'4.52"N, -106°36'3.47"O en el extremo Noroeste y 31°6'24.89" N, -106°11'51.01" al extremo Sureste. Abarca principalmente el municipio de Juárez y en menor proporción a los municipios de Ahumada y Guadalupe D.B., cuenta con una superficie de 631.82 km², con una altitud que varía de los 1,200 a más de 1,800 msnm. El APFFMS destaca por contar con un sistema complejo de dunas de arena de sílice que abarca una extensión de aproximadamente 416 km² (CONANP, 2013). Cuenta con dos sistemas de sierras, la Sierra de Samalayuca formada por rocas depositadas entre el Paleozoico tardío y

Cretácico temprano (Berg, 1969) y la Sierra del Presidio conformada por rocas depositadas durante el Mesozoico (Webb, 1969). Estas cadenas montañosas tienen una elevación máxima de 1843 y 1771 m, respectivamente (Schmidt Jr y Marston, 1981). El clima de la región corresponde al tipo BWKx' (e'), semiárido típico del norte-centro del desierto Chihuahuense (CONANP, 2013). La temperatura media anual es de 15 a 25°C y las precipitaciones promedio anuales de 212 mm (Enríquez-Anchondo, 2003). Las comunidades vegetales reconocidas son: matorral desértico micrófilo, matorral desértico rosetófilo, pastizal inducido, vegetación de desiertos arenosos, vegetación halófila xerófila, zonas agrícolas de riego, así como zonas sin vegetación aparente (CONANP, 2013). Las especies vegetales dominantes en Samalayuca son *Larrea tridentata* y *Prosopis glandulosa* así como otras menos abundantes como *Atriplex canescens*, *Fouquieria splendens*, *Flourensia cernua* y *Yucca* spp., (Quiñónez-Martínez et al., 2018).

Sitio de muestreo

Se establecieron cinco zonas de muestreo definidas como I a V (Fig. 1): zona I correspondiente a la ladera oeste de la Sierra Presidio con vegetación de matorral desértico rosetófilo, matorral desértico micrófilo y vegetación de desiertos arenosos; II al norte de la Sierra Samalayuca con vegetación de matorral de desierto micrófilo, matorral de desierto arenoso y zonas agrícola de riego; III al sur de Sierra Samalayuca con matorral desértico micrófilo, vegetación de desiertos arenosos y zonas sin vegetación aparente; IV la parte central del ANP con vegetación de desiertos arenosos y zonas sin vegetación aparente y V al sur del ANP con vegetación de desierto arenoso, pastizal inducido, una pequeña porción de matorral desértico micrófilo y zonas sin vegetación aparente. Algunas ornamentales que se encontraron fuera de las zonas de colecta o asociada a los poblados del ANP Médanos de Samalayuca fueron registradas.

Se realizaron diversas salidas al campo entre junio de 2017 y septiembre 2018 abarcando la temporada seca (febrero a junio), húmeda (julio a octubre) y post-húmeda (octubre a enero), con el fin de registrar la mayor cantidad de especies de la familia Fabaceae, en función de la facilidad de ingreso a los predios. En cada zona de muestreo se realizaron tres días de recorridos (15 días por temporada) en los cuales se localizaron, fotografiaron y prensaron los ejemplares recolectados. En cada caso, se tomó la coordenada de cada ejemplar y la altitud con un GPS Garmin Etrex 10, el hábitat y la vegetación asociada. Los ejemplares se prensaron utilizando el método propuesto por Lot y Chiang (1987) para ser trasladados al Herbario de la UACJ (HERB-UACJ), donde se procesaron.

La clasificación de las subfamilias se realizó con base a lo propuesto por (LPWG, 2017). La identificación se llevó utilizando literatura y bases de datos especializadas, entre las que destacan el manual de Flora Neomexicana III (Allred y DeWitt, 2012) y The Legumes of Texas (Turner, 1959). Los nombres de las especies con sus autores fueron tomados de la Red de Herbarios del Noroeste de México. Se revisó la NOM-059-SEMARNAT-2010 para determinar si estaban bajo alguna categoría de riesgo.

Los ejemplares se depositaron en el Herbario de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (HERB-UACJ), con duplicados en el Herbario del Instituto Politécnico Nacional en Durango, en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) para su corroboración y/o determinación por los expertos (ver Apéndice). La información de los ejemplares depositados tanto en CIIDIR como en el HERB-UACJ se depositó en la base de datos BIOTICA v.5.0., asociada al proyecto PJ018 de la CONABIO.

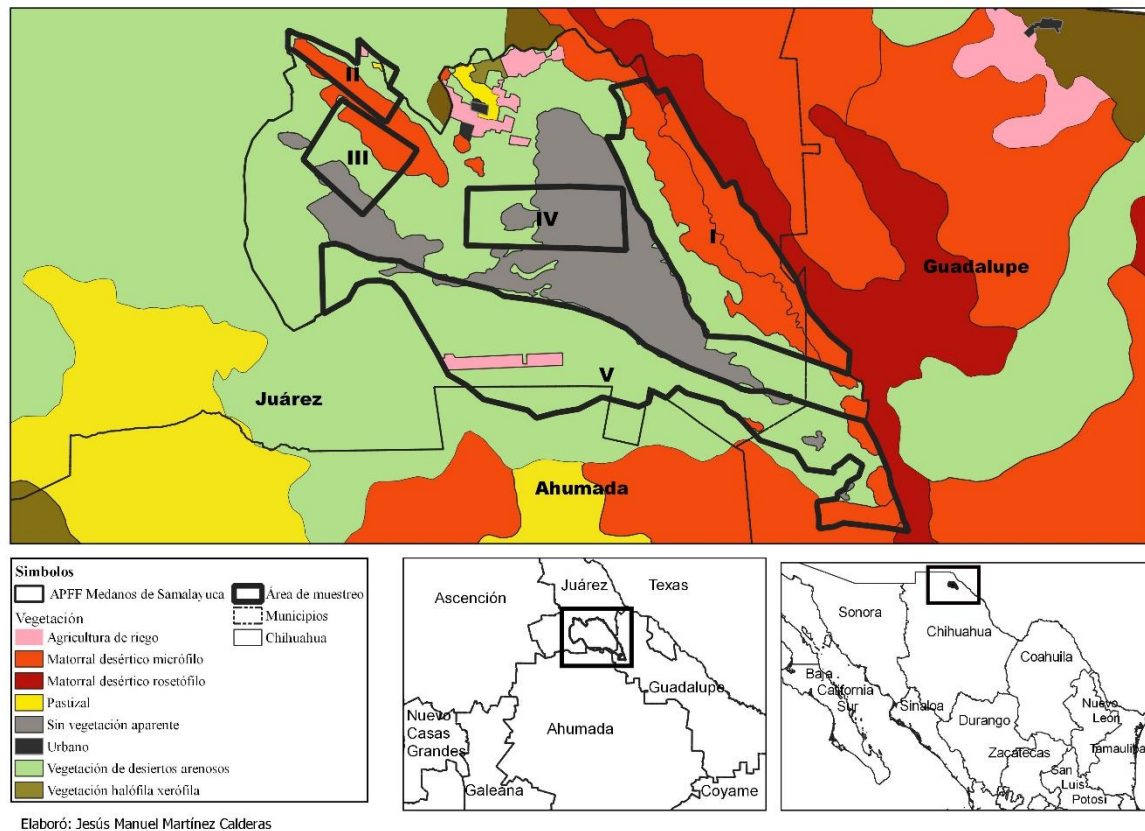


Fig. 1. Localización del Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca (APFFMS). Se delimitan las zonas de muestreo I ladera oeste de la Sierra Presidio, II norte de la Sierra Samalayuca, III sur de Sierra Samalayuca, IV parte central del ANP, V sur del ANP.

RESULTADOS

Se colectaron 97 ejemplares de Fabaceae pertenecientes a dos subfamilias (Caesalpinioideae y Papilionoideae), un total de 16 géneros 23 especies y dos variedades, las cuales no se encontraron bajo ninguna categoría de riesgo según la NOM-059-SEMARNAT-2010. Del total de registros 10 géneros y 14 especies correspondieron a la subfamilia Caesalpinioideae y seis géneros, nueve especies y dos variedades para la subfamilia Papilionoideae (Tabla 1).

El género *Dalea* fue el más diverso con cuatro especies y dos variedades, seguido por *Acacia* con tres especies, *Senna* y *Prosopis* con dos especies respectivamente. El resto de los géneros presentaron solo una especie.

Del total de ejemplares colectados cinco especies correspondieron a especies silvestradas u ornamentales asociadas a los poblados de Samalayuca.

Riqueza de especies presentes en las zonas de muestreo

La zona (II) norte de la Sierra Samalayuca presentó la mayor riqueza con 10 géneros y 12 especies; seguido del sur del APFFMS (V) con nueve géneros, nueve especies y una variedad; al oeste de la Sierra Presidio (I) se registraron seis géneros y siete especies; el sur de Sierra Samalayuca (III) con seis géneros, seis especies y una variedad; la parte central del ANP (IV) fue la zona de menor riqueza registrándose tres géneros, tres especies y dos variedades (Tabla 1). Especies como *Acacia farnesiana*, *Acacia schaffneri*, *Erythrostemon gilliesii* y *Parkinsonia aculeata*, se encontraron asociadas a los poblados fuera de las zonas de muestreo.

La comunidad vegetal que presentó mayor riqueza fue la vegetación de desiertos arenosos (VDA) con 13 especies, seguido del matorral desértico micrófilo (MDM) con nueve especies, las zonas agrícolas de riego (AR) con cuatro especies y las zonas de menor riqueza de Fabaceae fueron el área sin vegetación aparente y el pastizal (P) con dos especies cada uno (Tabla 1).

Tabla 1. Especies colectadas por zona de muestreo y tipo de comunidades vegetales (TCV).

Taxones registrados	TCV	Zona de muestreo				
		I	II	III	IV	V
Caesalpinioideae						
<i>Acacia constricta</i> Benth.	VDA	X	X	X		X
<i>Acacia farnesiana</i> (L.) Willd.*+	AR					
<i>Acacia schaffneri</i> (S. Watson.) F.J. Herm.*+	P					
<i>Acaciella angustissima</i> (Mill.) Britton & Rose	MDM					X
<i>Erythrostemon gilliesii</i> (Wall. ex Hook.) Klotzsch*+	AR					
<i>Gleditsia triacanthos</i> L.*	VDA		X			
<i>Hoffmannseggia glauca</i> (Ortega) Eifert	VDA			X		X
<i>Mimosa rupertiana</i> B.L. Turner,	VDA, SVA			X	X	X
<i>Parkinsonia aculeata</i> L.*+	AR, P					
<i>Pomaria jamesii</i> (Torr. & A. Gray) Walp.	VDA	X				X
<i>Prosopis glandulosa</i> Torr.	VDA	X	X		X	X
<i>Prosopis pubescens</i> Benth.	AR		X			
<i>Senna bauhinoides</i> (A. Gray) H.S. Irwin & Barneby	MDM	X	X	X		
<i>Senna lindheimeriana</i> (Scheele) H.S. Irwin & Barneby	MDM	X				
Papilionoideae						
<i>Astragalus nuttallianus</i> DC.	MDM		X			
<i>Dalea formosa</i> Torr.	MDM, VDA	X	X		X	
<i>Dalea lanata</i> Spreng.	VDA			X		
<i>Dalea lanata</i> var. <i>lanata</i>	VDA				X	
<i>Dalea lanata</i> var. <i>terminalis</i> (M.E. Jones) Barneby	VDA, SVA			X	X	X
<i>Dalea nana</i> Torr. ex A. Gray	VDA					X
<i>Dalea wrightii</i> A. Gray	MDM		X			
<i>Macroptilium atropurpureum</i> (DC.) Urb.	MDM		X			
<i>Peteria glandulosa</i> (A. Gray ex S. Watson) Rydb.	MDM, VDA	X	X			X
<i>Phaseolus pedicellatus</i> Benth.	MDM		X			
<i>Psoralea scoparius</i> (A. Gray) Rydb.	VDA		X	X		X

*Especie ornamental o asociada a poblados.

+Especies fuera de sitios de colecta.

Fabaceae registradas por temporada

Durante la temporada seca se registraron ocho géneros y 13 especies, siendo los géneros *Dalea* y *Acacia* los más diversos con tres especies cada uno y seguida del género *Senna* con dos especies. Los cinco géneros restantes presentaron una especie cada una.

En la temporada húmeda se registraron 13 géneros, 17 especies y una variedad, siendo el género *Dalea* el que presentó la mayor cantidad de especies con cuatro registros y una variedad, seguido del género *Senna* con dos especies. El resto de los géneros presentaron una especie individualmente.

De la temporada post-húmeda se colectaron diez géneros, 11 especies y dos variedades, donde el género *Dalea* presentó la mayor cantidad de registros con dos especies y dos variedades y los demás géneros una sola especie (Tabla 2).

Solo una especie *Acacia constricta* presentó flor y fruto en las tres temporadas. Tres especies *Dalea formosa*, *Prosopis pubescens* y *Prosopis pubescens* presentaron flor y fruto en dos temporadas (húmeda y post-húmeda). Siete especies y una variedad fueron determinadas con apoyo de la presencia de flor o fruto en alguna estación del año (Tabla 2).

Tabla 2. Fabáceas registradas por temporada.

Taxones registrados	Seca	Húmeda	Post-húmeda
<i>Acacia constricta</i> Benth.	X ^{a,b}	X ^{a,b}	X ^{a,b}
<i>Acacia farnesiana</i> (L.) Willd.	X ^b		
<i>Acacia schaffneri</i> (S. Watson.) F.J. Herm.	X ^b		
<i>Acaciella angustissima</i> (Mill.) Britton & Rose		X ^a	
<i>Astragalus nuttallianus</i> DC.			X ^a
<i>Erythrostemon gilliesii</i> (Hook.) Klotzch			X ^b
<i>Dalea formosa</i> Torr.	X ^a	X ^{a,b}	X ^{a,b}
<i>Dalea lanata</i> Spreng.		X ^a	
<i>Dalea lanata</i> var. <i>lanata</i>			X ^a
<i>Dalea lanata</i> var. <i>terminalis</i> (M.E. Jones) Barneby		X ^a	X ^b
<i>Dalea nana</i> Torr. ex A. Gray	X ^a	X ^a	
<i>Dalea wrightii</i> A. Gray	X ^a	X ^a	X ^b
<i>Gleditsia triacanthos</i> L.		X ^{a,b}	
<i>Hoffmannseggia glauca</i> (Ortega) Eifert		X ^{a,b}	
<i>Macroptilium atropurpureum</i> (DC.) Urb.		X ^b	
<i>Mimosa rupertiana</i> B.L. Turner	X ^a	X ^a	X ^a
<i>Parkinsonia aculeata</i> L.	X ^{a,b}		
<i>Peteria glandulosa</i> (A. Gray ex S. Watson) Rydb.	X ^a	X ^a	X ^b
<i>Phaseolus pedicellatus</i> Benth.		X ^a	X ^b
<i>Pomaria jamesii</i> (Torr. & A. Gray) Walp.		X ^{a,b}	
<i>Prosopis glandulosa</i> Torr.	X ^{a,b}		
<i>Prosopis pubescens</i> Benth.		X ^{a,b}	X ^{a,b}
<i>Psoralea scoparius</i> (A. Gray) Rydb.	X ^a	X ^{a,b}	X ^{a,b}
<i>Senna bauhinioides</i> (A. Gray) H.S. Irwin & Barneby	X ^b	X ^a	X ^{a,b}
<i>Senna lindheimeriana</i> (Scheele) H.S. Irwin & Barneby	X ^a	X ^{a,b}	

^a En floración

^b En fructificación

DISCUSIÓN

En el Programa de Manejo Área Natural Protegida Médanos de Samalayuca se registran los géneros *Acacia*, *Astragalus*, *Dalea*, *Eysenhardtia*, *Hoffmannseggia*, *Mimosa*, *Prosopis*, *Psoralea* y *Schrankia* (CONANP, 2013), sin embargo, las especies del género *Schrankia* han sido incluido en *Mimosa* (Barneby, 1991), con lo cual se tendría un total de ocho géneros para el ANP. El presente trabajo contribuyó con ocho géneros nuevos (*Acaciella*, *Erythrostemon*, *Gleditsia*, *Macroptilium*, *Peteria*, *Phaseolus*, *Parkinsonia* y *Pomaria*) para el ANP. El género *Eysenhardtia* no fue registrado, sin embargo, se encuentra reportado para el valle de Janos (Vega-Mares *et al.*, 2014) y para la porción central del estado (Estrada-Castillón y Martínez, 2000; Estrada-Castillón y Villarreal-Quintanilla, 2010).

En el ANP Médanos de Samalayuca se identificaron 14 especies (CONANP, 2013), de las cuales dos especies *Acacia greggii* y *Eysenhardtia spinosa* no fueron registradas, así como *Hoffmannseggia* (*Caesalpinia*) *drepanocarpa*, la cual ha sido reportada para la zona (Simpson, 1999), por lo que un mayor esfuerzo de muestreo en los cañones y cuencas podría permitir el registro de estas especies.

Otras especies reportadas dentro del programa de manejo corresponden a sinonimias o variedades de acuerdo con la Red de Herbarios Del Noroeste de México (2018), como es el caso de *Dalea terminalis*, la cual es considerada como una variedad de *Dalea lanata*, de la misma manera *Mimosa occidentalis* y *Schrankia occidentalis* corresponden a sinonimias de *Mimosa rupertiana*. Con lo cual se tendría un total de 11 taxones válidos para el documento del Programa de Manejo del ANP. Adicionalmente se documentan 16 taxa (10 de la subfamilia Caesalpinioideae y seis de Papilionoideae) para el ANP Médanos de Samalayuca actualizando la lista con 27 taxa, de las cuales *Astragalus nuttallianus*, *Dalea wrightii*, *Macroptilium atropurpureum*, *Phaseolus pedicellatus* y *Prosopis pubescens* se localizaron solo para la ladera norte de la Sierra de Samalayuca asociada a la vegetación de matorral de desierto micrófilo. Como parte de las actividades y acciones del Programa de Manejo del ANP (CONANP, 2013), esta zona podría ser considerado un hábitat frágil y sensible, la cual debería tener atención particular.

Especies como *Acacia schaffneri*, *A. farnesiana*, *Erythrostemon gilliesii* y *Parkinsonia aculeata*, se encontraron en parques, jardines, orillas de caminos y carreteras en los poblados de Samalayuca y en el ejido Villa Luz, se ha reportado que estas especies son cultivadas o establecidas por las personas al ser utilizadas como plantas ornamentales, maderables o de forraje (Castillón *et al.*, 2004; Cochard y Jackes, 2005; Estrada y Martínez, 2000; Foroughbakhch *et al.*, 2012; Osman *et al.*, 2016; Soliman y Harith, 2010), por lo cual, esto explicaría la presencia de estas especies cerca de las zonas pobladas pero su ausencia en zonas alejadas de núcleos urbanos dentro del ANP. En el caso de *Gleditsia triacanthos* es una especie ornamental en los estados de Chihuahua y Coahuila (Estrada-Castillón *et al.*, 2002) y nativa del sureste de los Estados Unidos de América (Webb *et al.*, 1984), por lo que no presenta una distribución natural en Samalayuca y se encuentra asociada a un área de recreo.

Domínguez Gómez *et al.* (2018) mencionan que para el matorral espinoso tamaulipeco el registro de especies de esta familia no difirió en la temporada seca con respecto a la húmeda. No obstante especies de Fabaceae como *Acacia constricta*, *Libidibia sclerocarpa*, *Erythrina flabelliformis* y *E. orthocarpa* se ven beneficiadas con las precipitaciones al germinar o florecer (Borchert *et al.*, 2004; Bowers y Dimmitt, 1994; Conn y Snyder-Conn, 1981), con lo cual, las precipitaciones permiten que la vegetación se desarrolle, como resultado de las temporadas de alta humedad en Samalayuca y registren la mayor cantidad de especies de Fabaceae, evidenciado por la presencia de

flor, fruto o la combinación de ambos, sobre todo en las temporadas húmeda y post-húmeda.

CONCLUSIONES

La lista actualizada de especies de Fabaceae para el Área Natural Protegida Médanos de Samalayuca es de 17 géneros, 25 especies y dos variedades.

La zona II correspondiente al norte de la Sierra de Samalayuca permitió documentar seis especies únicas de Fabaceae.

La mayoría de las especies de Fabaceae registradas se encuentran influenciadas por las precipitaciones convirtiéndose en un factor determinante para la presencia y abundancia. La presencia de algunas plantas asociadas a los poblados demuestra que los habitantes han introducido especies de Fabaceae al ANP.

Financiamiento

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP).

AGRADECIMIENTOS

A la Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental: Dirección General de Gestión Forestal y de Suelos con oficio, por otorgar el permiso de colecta de recursos forestales con fines de utilización en investigación y/o biotecnología (No. SGPA/DGGFS/12/2956/17).

A la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) y la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP), a través proyecto de Inventario multitaxonómico del ANP Médanos de Samalayuca (PJ018).

A la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ) por el apoyo en la realización del proyecto PJ018. A la Dra. María del Socorro González Elizondo y al personal del Herbario CIIDIR por su asesoría en la determinación de las plantas; a Alejandro García, Cesar Osvaldo Ponce Rivas, Ediel Esparza García, David Chávez Lara y Jesús Manuel Martínez Calderas por sus contribuciones y apoyo para la realización del presente trabajo; a los diferentes propietarios que nos permitieron muestrear en sus predios y a la SEMARNAT por otorgar los permisos correspondientes.

LITERATURA CITADA

- Allred W. K., y DeWitt I. R. (2012). *Flora Neomexicana III. An Illustrated Identification Manual. Fabaceae.* 304-348.
- Barneby, R. C. (1991). *Sensitivae Censitae: A description of the genus Mimosa Linnaeus, (Mimosaceae) in the New World.* New York Botanical Gardens, 65. 1-835.
- Berg, E. L. (1969). Geology of Sierra de Samalayuca, Chihuahua, Mexico. *New Mexico Geological Society*, 176–181.
- Berry, P. E., Duane, I., y Turner, B. L. (2018). “*Fabales*” *Encyclopedia Britannica*. <https://www.britannica.com/plant/Fabales>

- Borchert, R., Meyer, S. A., Felger, R. S., y Porter-Bolland, L. (2004). Environmental control of flowering periodicity in Costa Rican and Mexican tropical dry forests. *Global Ecology and Biogeography*, 13(5), 409–425. <https://doi.org/10.1111/j.1466-822X.2004.00111.x>
- Bowers, J. E., y Dimmitt, M. A. (1994). Flowering phenology of six woody plants in the northern Sonoran Desert. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 121(3), 215–229. <https://doi.org/10.2307/2997177>
- Castillón, E. E., Méndez, C. Y., Salinas, A. D., y Quintanilla, J. A. V. (2004). Leguminosas del centro del estado de Nuevo León, México. *Anales Del Instituto de Biología. Serie Botánica*, 75(1), 73–85.
- Cochard, R., y Jackes, B. R. (2005). Seed ecology of the invasive tropical tree *Parkinsonia aculeata*. *Plant Ecology*, 180(1), 13–31. <https://doi.org/10.1007/s11258-004-2780-4>
- CONANP. (2013). *Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna Médanos de Samalayuca*. 1–169. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/103571/DR_0810.pdf
- Conn, J. S., y Snyder-Conn, E. K. (1981). Southwestern Association of Naturalists The Relationship of the Rock Outcrop Microhabitat to Germination, Water Relations, and Phenology of *Erythrina flabelliformis* (Fabaceae) in Southern Arizona. *The Southwestern Naturalist*, 25(4), 443–451.
- Cronquist, A. J. (1981). *An Integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York. Columbia University Press.
- Delgado-Salinas, A., Torres-Colín, L., Luna-Cavazos, M., y Bye, R. (2021). Diversity of Useful Mexican Legumes: Analyses of Herbarium Specimen Records. *Diversity*, 13, 267.
- Domínguez Gómez, T. G., González Rodríguez, H., Ramírez Lozano, R. G., Estrada Castillón, A. E., Cantú Silva, I., Gómez Meza, M. V., Villarreal Quintanilla, J. Á., Del Socorro Alvarado, M., y Alanís Flores, G. (2018). Diversidad Estructural Del Matorral Espinoso Tamaulipeco Durante Las Épocas Seca Y Húmeda. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 4(17), 106–123. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v4i17.425>
- Enríquez-Anchondo I. D. (2003). Las cactáceas de Samalayuca. *Ciencia En La Frontera: Revista de Ciencia y Tecnología de La UACJ*, 2(1), 55–62.
- Estrada-Castillón, A., y Martínez M., A. (2000). Legumes from the central part of the state of Chihuahua, Mexico. *SIDA, Contributions to Botany*, 19(2), 351–360.
- Estrada-Castillón, E., Jurado, E., y Jiménez-Pérez, J. (2002). Southwestern Association of Naturalists. *The Southwestern Naturalist*, 57(4), 601–604. <https://doi.org/10.1894/0038-4909-57.4.fmi>
- Estrada-Castillón, E., y Villarreal-Quintanilla, J. A. (2010). Flora del centro del estado de Chihuahua, México. *Acta Botánica Mexicana*, 92, 51–118.
- Estrada C, A., Spellenberg, R., Y., y Lebgue, T. (1997). Flora vascular de la Laguna de Babicora, Chihuahua, México. *SIDA, Contributions to Botany*, 17(4), 809–827.
- Foroughbakhch, R., Carrillo Parra, A., Hernández Piñero, J. L., Alvarado Vázquez, M. A., Rocha Estrada, A., y Cardenas, M. L. (2012). Wood Volume Production and Use of 10 Woody Species in Semiarid Zones of Northeastern Mexico. *International Journal of Forestry Research*, 2012, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2012/529829>
- Gatica-Colima, A. (2019). *Informe final del Proyecto PJ018 Inventario multitaxonómico del ANP Médanos de Samalayuca*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.19071.43687>
- Lebgue, T., Sosa, M., y Soto, R. (2005). La Flora De Las Barrancas Del Cobre, Chihuahua, México. *Ecología Aplicada*, 4(1–2), 17–23. <https://doi.org/10.21704/rea.v4i1-2.293>
- Lewis, G. P., Schrire, B., Mackinder, B., y Lock, M. (2005). *Legumes of the World*. Royal Botanic Garden: Kew, UK.

Recibido:
19/julio/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- Lot, A., y Chiang, F. (1987). *Manual de herbario: Administracion y manejo de colecciones, tecnicas de recoleccion y preparacion de ejemplares botanicos*. Consejo Nacional de la Flora de México. <https://doi.org/10.2307/1221409>
- LPWG. (2017). A new subfamily classification of the leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon*, 66(1), 44–77. <https://doi.org/10.12705/661.3>
- Osman, S. M., El-Haddad, A. E., El-Raey, M. A., El-Khalik, S. M. A., Koheil, M. A., y Wink, M. (2016). A new octadecenoic acid derivative from *Caesalpinia gilliesii* flowers with potent hepatoprotective activity. *Pharmacognosy Magazine*, 12(46), S332–S336. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.185752>
- Quiñónez-Martínez, M., Enríquez Anchondo, I. D., Flores Margez, J. P., Palacios Ramírez, K. Y., Olivas Sánchez, M. P., Garza Ocañas, F., Lebgue Keleng, T., y Nájera Medellín, J. A. (2018). Plant communities in soil of semiarid ecosystem and their relationship with mycorrhizal fungi. *Terra Latinoamericana*, 36(4), 381–391. <https://doi.org/10.28940/terra.v36i4.401>
- Red de Herbarios del Noroeste de México. (2018). *Red de Herbarios del Noroeste de México*. <https://herbanwmex.net/portal/>
- Schmidt Jr, R. H., y Marston, R. A. (1981). Los Médanos de Samalayuca, Chihuahua, México. *New Mexico Journal of Science*, 21, 21–27.
- Simpson, B. B. (1999). *Hoffmannseggia* (Fabaceae) in North America. *Lundellia*, 2, 14–54.
- Soliman, A. S., y Harith, M. A. (2010). Effects of laser biostimulation on germination of *Acacia farnesiana* (L.) Willd. *Acta Horticulturae*, 854(October 2009), 41–50. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2010.854.4>
- Turner, B. L. (1959). The Legumes of Texas. *University of Texas Press*, 298.
- Vega-Mares, J. H., Estrada-Castillon A. E., Villarreal-Quintanilla, J. A., y Martínez G. Q. (2014). Flora of the hallophytic grasslands in the Valle de Janos, Chihuahua, México. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 8(1), 151–163.
- Webb, D. S. (1969). Facets of the geology of the Sierra del Presidio area, north-central Chihuahua. *New Mexico Geological Society, 20th Annual Fall Field Conference Guidebook*, 182–185.
- Webb, D., Wood, P., y Smith, J. (1984). A guide to species selection for tropical and sub-tropical plantations. *Tropical Forestry Papers*, 15, 342 pp.

APÉNDICE

Lista florística de Fabaceae de Samalayuca

La lista florística se organizó siguiendo un orden alfabético por géneros y especies. En cada especie se incluyó el colector, herbario y número de catálogo donde se depositaron los ejemplares del proyecto PJ018. Los colectores incluidos son: Alejandro García Palacios (AGP), Cesar Osvaldo Ponce Rivas (COR), Juan Rolando Rueda Torres (JRRT) y Laura De León Pesqueira (LDL).

Subfamilia Caesalpinioideae

Acacia constricta Benth.

JRRT HERB-UACJ 1717, 1736, 1846, 1847, 1852; CIIDIR 50777.

LDL HERB-UACJ 2409.

Acacia farnesiana (L.) Willd.

JRRT HERB-UACJ 2418.

Acacia schaffneri (S. Wats.) F.J. Herm

JRRT HERB-UACJ 2417.

Acaciella angustissima (Mill.) Britton & Rose

JRRT HERB-UACJ 2405.
Erythrostemon gilliesii (Hook.) Klotzch
JRRT HERB-UACJ 2416.
Gleditsia triacanthos L.
JRRT HERB-UACJ 1638; CIIDIR 50575.
Hoffmannseggia glauca (Ortega) Eifert
JRRT HERB-UACJ 1751, 2377, 2283.
Mimosa rupertiana B.L. Turner
AGP HERB-UACJ 1675.
COR HERB-UACJ 1838.
JRRT HERB-UACJ 1711, 2068, 2263, 2313, 2353.
LDL HERB-UACJ 2316, 2351, 2352.
Parkinsonia aculeata L.
JRRT HERB-UACJ 2419.
Pomaria jamesii (Torr. & A. Gray) Walp.
JRRT HERB-UACJ 2224, 2281; CIIDIR 50788.
LDL HERB-UACJ 1873.
Prosopis glandulosa Torr.
JRRT HERB-UACJ 1716, 1854, 1856, 1860.
Prosopis pubescens Benth.
JRRT HERB-UACJ 1735, 2016.
LDL HERB-UACJ 1896.
Senna bauhinioides (A. Gray) H.S. Irwin & Barneby
JRRT HERB-UACJ 1710, 1702, 1703, 1845, 1882, 1883, 1895; 2008, 2014; CIIDIR 50800.
LDL HERB-UACJ 1895.
Senna lindheimeriana (Scheele) H.S. Irwin & Barneby
JRRT HERB-UACJ 1713, 1720; CIIDIR 50786.

Subfamilia Papilionoideae

Astragalus nuttallianus DC.
JRRT HERB-UACJ 2415.
Dalea formosa Torr.
JRRT HERB-UACJ 1865, 1864, 2013, 2314, 2315; CIIDIR 50791, 50785, 50789.
Dalea lanata Spreng.
AGP HERB-UACJ 1964.
Dalea lanata var. *lanata*
JRRT HERB-UACJ 1860.
LDL HERB-UACJ 1876, 1903).
Dalea lanata var. *terminalis* (M.E. Jones) Barneby
AGP HERB-UACJ 1866.
JRRT HERB-UACJ 1867, 1869, 1870, 1871, 1872, 1888, 2317; CIIDIR 50770.
LDL HERB-UACJ 1878, 1879, 1899, 1902, 2318; CIIDIR 50813.
Dalea nana Torr. ex A. Gray
JRRT HERB-UACJ 1862, 2380.
Dalea wrightii A. Gray
JRRT 1699, 1738, 2012, 2015; CIIDIR 50570, 50574.
Macroptilium atropurpureum (DC.) Urban
JRRT HERB-UACJ 1743. 1749, 1842; CIIDIR 50756, 50793.
Peteria glandulosa (A. Gray ex S. Watson) Rydb.
JRRT HERB-UACJ 1701, 1732, 1740, 2009, 2370, 2373; CIIDIR 50795.
Phaseolus pedicellatus Benth.
JRRT CIIDIR 50811, 50802, 50762.
Psoralea scoparius (A. Gray) Rydb.
JRRT HERB-UACJ 1858, 1859, 1861, 1700, 1880, 2011, 2010, 2282; CIIDIR 50760.
LDL HERB-UACJ 1877.

ESTUDIO DE LA FLORA PRESENTE EN APIARIOS DE TRES MUNICIPIOS EN EL ESTADO DE YUCATÁN, MÉXICO

STUDY OF FLORA PRESENT IN APIARIES OF THREE MUNICIPALITIES IN THE STATE OF YUCATAN, MEXICO

Briceño-Santiago; C. I.; J. Cano-Sosa; A. L. Ramos-Díaz; R. Noriega-Trejo y D. I. Couoh-May.

ESTUDIO DE LA FLORA PRESENTE EN APIARIOS DE TRES MUNICIPIOS EN EL ESTADO DE YUCATÁN, MÉXICO.

STUDY OF FLORA PRESENT IN APIARIES OF THREE MUNICIPALITIES IN THE STATE OF YUCATAN, MEXICO.



ESTUDIO DE LA FLORA PRESENTE EN APIARIOS DE TRES MUNICIPIOS EN EL ESTADO DE YUCATÁN, MÉXICO

STUDY OF FLORA PRESENT IN APIARIES OF THREE MUNICIPALITIES IN THE STATE OF YUCATAN, MEXICO

Briceño-Santiago; C. I.;
J. Cano-Sosa;
A. L. Ramos-Díaz;
R. Noriega-Trejo
y D. I. Couoh-May.

ESTUDIO DE LA FLORA
PRESENTE EN APIARIOS
DE TRES MUNICIPIOS EN
EL ESTADO DE YUCATÁN,
MÉXICO

STUDY OF FLORA
PRESENT IN APIARIES OF
THREE MUNICIPALITIES
IN THE STATE OF
YUCATAN, MEXICO.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 13-34. Enero 2022

DOI:

10.18387/polibotanica.53.2

C. I. Briceño-Santiago

J. Cano-Sosa / jcano@ciatej.mx

A. L. Ramos-Díaz

*Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C.
Subsede Sureste. Km 5.5 Carretera Sierra Papacal-Chuburna Puerto.
C.P. 97302. Sierra Papacal, Mérida, Yucatán, México.*

R. Noriega-Trejo

*Centro de Estudios de Desarrollo Sustentable y Aprovechamiento de la Vida Silvestre
Universidad Autónoma de Campeche. Avenida Héroe de Nacozari #480,
C.P. 24079, San Francisco Campeche, Campeche, México.*

D. I. Couoh-May

*Laboratorio de Apoyo a la Vigilancia Epidemiológica. Unidad Médica de Alta
Especialidad. Hospital de Especialidades I. Instituto Mexicano del Seguro Social.
C.P. 97150. Mérida, Yucatán, México.*

RESUMEN: De acuerdo a la norma oficial Mexicana NOM-004-SAG/GAN-2018, para la producción de miel y especificaciones, Miel: "Es la sustancia dulce natural producida por abejas a partir del néctar de las flores o de secreciones de partes vivas de plantas o de excreciones de insectos succionadores de plantas que quedan sobre partes vivas de las mismas y que las abejas recogen, transforman y combinan con sustancias específicas propias, y depositan, deshidratan, almacenan y dejan en el panal para que madure o pueda añejarse" (SADER, 2020). Las propiedades de la miel derivan del origen botánico ya que al recolectar el néctar y el polen de las plantas que las abejas visitan también sustraen metabolitos secundarios que pueden ser benéficos para la salud humana y la flora melífera posee características apreciadas en lo ornamental. El objetivo del estudio fue identificar la flora melífera con potencial ornamental y medicinal en los apiarios del estado de Yucatán. Los resultados de este trabajo permitirán potencializar el uso de las plantas en diferentes áreas de la ciencia como en la medicina y en el comercio ornamental. Como parte de la metodología aplicada al presente estudio se colectaron e identificaron las especies que se encontraban cerca de los apiarios, se categorizó cada planta según el valor (melífero, ornamental y medicinal). Posteriormente se realizó una palinoteca con el material colectado que nos sirvió de referencia para determinar el origen botánico de las mieles en el estado de Yucatán. Se identificaron 64 especies en floración durante las visitas a los apiarios que pertenecen a las familias Acanthaceae, Agavaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Cactaceae, Capparaceae, Commelinaceae, Convolvulaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lythraceae, Malpighiaceae, Malvaceae, Moringaceae, Oxalidaceae, Passifloraceae, Polygonaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Sapindaceae, Sapotaceae, Solanaceae, Urticaceae y Verbenaceae. De las 116 plantas identificadas, 40 fueron de uso melífero, 28 ornamental y 48 con uso medicinal. Se anexaron 50 especies con la descripción morfológica del polen a la palinoteca del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATE) Subsede Sureste. Algunas de las mieles examinadas fueron clasificadas como monoflorales de dos especies importantes en el estado *Piscidia piscipula* y *Gymnopodium floribundum*.

Palabras clave: Miel, Diversidad, Flora, Apiarios, Yucatán, Polen, Medicinal, Ornamental.

ABSTRACT: According to the official Mexican standard NOM-004-SAG / GAN-2018, for the production of honey and specifications, Honey: "It is the natural sweet substance produced by bees from the nectar of flowers or secretions of living parts of plants or excretions of plant sucking insects that remain on their living parts and that the bees collect, transform and combine with their own specific substances, and deposit, dehydrate, store and leave in the honeycomb so that it can mature" (SADER, 2020). The properties derived from the botanical origin of honey, since when collecting nectar and pollen from the plants that bees visit, they also subtract secondary metabolites that can be beneficial to human health. The objective of the study was to identify the melliferous flora with ornamental and medicinal potential in the apiaries of the state of Yucatán. The results of this This work will make it possible to potentiate the use of plants in different areas of science, such as medicine and ornamental trade, as part of the methodology applied to the present study, the species that were near the apiaries were collected and identified, each plant was categorized according to its (melliferous, ornamental and medicinal). Subsequently, a palinoteca was made with the same collected material that served as a reference to determine the botanical origin of the honeys in the state of Yucatan. Forty four flowering species were identified during visits to apiaries belonging to the families Acanthaceae, Agavaceae, Apocynaceae, Asteraceae, Bignoniaceae, Boraginaceae, Cactaceae, Capparaceae, Commelinaceae, Convolvulaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Lythraceae, Malpighiaceae, Malaceae, Moringidaceae, Polygonaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Sapindaceae, Sapotaceae, Solanaceae, Urticaceae and Verbenaceae. The plants identified, 40 were for melliferous use, 28 for ornamental and 48 for medicinal use. Fifty five species with their morphological description of the pollen were annexed to the palynological plate collection of Center for Research and Assistance in Technology and Design of the State of Jalisco, A.C. Southeast Subsedence. The honeys examined were classified as monofloral of two important species in the state *Piscidia piscipula* and *Gymnopodium floribundum*.

Key words: Honey, Diversity, Flora, Apiaries, Yucatan, pollen.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la Secretaría de Agricultura y Desarrollo rural México en 2019 produjo más miel que en la última década y está entre los 10 primeros países productores de miel. Esta es apreciada por la diversidad en sabor, color y textura que le confiere su origen floral (SEDER, 2020). Dentro de los principales estados productores de miel se encuentra la península de Yucatán, en donde podemos encontrar gran diversidad de plantas vasculares. En esta región están reportados 2,329 taxones a nivel de especie o inferiores, los cuales se agrupan en 956 géneros y 161 familias nativas o silvestres entre estos 203 taxones a nivel especie son considerados endémicos. Si tomamos en cuenta solo al estado de Yucatán, existe un registro de 1402 especies distribuidas en 120 familias y 652 géneros de los cuales 11 especies son endémicas (Carnevali Fernández-Concha *et al.*, 2010; Pérez-Sarabia *et al.*, 2017; Villaseñor & Ortiz, 2014). La diversidad florística se puede visualizar a través de la información generada en artículos, listados florísticos, así como a la existencia de seis Herbarios localizados en la Península de Yucatán. La riqueza de plantas con flores de la península de Yucatán permite que la producción de miel sea una de las actividades más importantes de la región, ya que el 95 % de la miel producida en Yucatán, se destina a mercado internacional como Alemania, Suiza e Inglaterra (Rogel *et al.*, 2003). Es por ello que el área donde se encuentren ubicados los apiarios es de importancia ya que la calidad de la miel la determina la composición florística disponible para el pecoreo de las abejas *Apis mellífera* L. (oferta de néctar y/o polen). En el estado de Yucatán están reportadas 849 especies agrupadas en 81 familias y 332 géneros de plantas que se consideran melíferas, dentro de estas encontramos *Viguiera dentata*, *Gymnopodium floribundum*, *Bursera simaruba* y *Piscidia piscipula* (Villanueva-gutiérrez *et al.*, 2009). Para las especies melíferas también se han reportado otros usos como medicinales de acuerdo con la medicina tradicional maya, y como ornamentales (Toledo *et al.*, 2008, 2013). En el caso de

plantas con algún uso medicinal se han reportado 648 en 404 géneros y 113 familias. Las flores con colores y aromas llamativos atraen a las abejas para la obtención de néctar y/o polen, por lo que estos pólenes se presentan en las mieles que se producen en la región (Martha E. Méndez-González *et al.*, 2014). A la par existen muchas plantas melíferas que podrían tener un potencial ornamental, así como otras aplicaciones tomando en cuenta la promoción del desarrollo y comercialización de variedades, principalmente nativas y especies infrautilizadas (Briceño Santiago, 2018).

Los apicultores conocen bien el periodo de floración de las plantas melíferas y que éste repercute en la calidad de las mieles que se producen, han observado que el cambio climático está afectando al sector apícola. Los apicultores del estado de Yucatán refieren que la temperatura y la humedad afectan negativamente la fenología de las flores melíferas y con ello la estabilidad en la producción de miel, incluyendo las condiciones físicas y sanidad de las colmenas (Castellanos-Potenciano *et al.*, 2016). Por lo anterior es importante conocer y generar información actualizada de la flora, para mejorar el aprovechamiento del recurso melífero. En la Península de Yucatán existen estudios melisopalínológicos enfocados a caracterizar la miel y/o el polen presente en ella, generando una perspectiva y mejor caracterización sobre la flora que se encuentra en los apiarios que son frecuentemente visitados por las abejas (Alfaro Bates *et al.*, 2010; San Román Ávila, 2014; Villanueva-gutiérrez *et al.*, 2009). El objetivo del presente trabajo fue identificar la flora melífera con potencial ornamental y medicinal en los apiarios de cinco municipios productores de miel en el estado de Yucatán. El estudio de la flora melífera contribuye al conocimiento de las características físicas y químicas de la miel proporcionándoles un sabor, color y aroma característico. Actualmente la apicultura enfrenta problemas que disminuyen su productividad, como el cambio climático, afectando los periodos de floración de las plantas y la deforestación que provoca la disminución de especies de interés melífero hasta la total desaparición de algunas de ellas (Martell Tamanis *et al.*, 2019). Aunque existe mucha información sobre las especies prioritarias para la apicultura en la península de Yucatán derivada de investigaciones en campo, la consulta con apicultores y los trabajos melisopalínológicos, es importante seguir actualizando estos datos sobre la disponibilidad de la flora que tienen las abejas en una región. Por otro lado, además de conocer el valor melífero agregamos el valor ornamental y medicinal de las plantas encontradas en los apiarios que en su mayoría forman parte de la flora silvestre de la región, contribuyendo a potencializar su importancia y propiciar futuros trabajos en áreas de la salud humana y animal, paisajismo, propagación etc., de interés para la sociedad. Actualmente las plantas son estudiadas por el potencial que pudieran tener, en cuanto a las plantas ornamentales los beneficios además de ser económicos, representan parte del paisaje y la armonía de un lugar y por otro lado pueden ser aprovechadas por los apicultores representando otro ingreso en las temporadas bajas de producción de miel. En el caso de las plantas medicinales en el área de la farmacología para dar pauta a estudios sobre especies de las cuales aún no se tengan estudios fitoquímicos que relacionen su uso en medicina tradicional.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Este trabajo se realizó en el Estado de Yucatán, el cual presenta un clima cálido sub-húmedo. La temperatura media anual es de 26 °C con máxima de 40 °C y mínima de 11 °C. La precipitación pluvial media anual oscila entre 700 y 1000 mm. Hay dos estaciones climáticas muy marcadas en el año, la época de secas que comprende los meses de noviembre a mayo y la época de lluvias comprendida en los meses de junio a octubre (Lugo & García, 1999). El estudio se llevó a cabo durante siete meses en tres municipios del estado de Yucatán: Tixkokob, Tixpehual y Hocabá. Los sitios de colecta fueron seleccionados por la disponibilidad del apicultor o la presencia de apiarios cercanos. Se visitaron seis apiarios pertenecientes a los municipios de Tixkokob (3), Tixpehual (1) y Hocabá (2).

Obtención de muestras de plantas, flores y polen.

El muestreo de la flora se realizó en los apiarios, abarcando 3 km a la redonda. Se llevaron a cabo recolecciones periódicas de ejemplares botánicos del periodo de junio de 2018 a enero de 2019 correspondiente a una época de lluvia y una de secas. Se seleccionaron especies vegetales en floración, y se colectó un ejemplar de cada especie de planta, que fue herborizado y enviado al herbario del Centro de Estudios de Desarrollo Sustentable y Aprovechamiento de la Vida Silvestre (CEDESU) para su corroboración taxonómica. Algunas de las plantas colectadas en el campo fueron señaladas por los apicultores por el nombre vulgar (español o maya) dato que nos ayudó para tener una referencia para su posterior identificación taxonómica, cotejando con otros ejemplares descritos en catálogos (Flora de la Península de Yucatán, Etnoflora Yucatanense, Flora ilustrada de la Península de Yucatán: Listado Florístico) y herbarios en línea (Trópicos, PlantList, CONABIO)(Carnevali Fernández-Concha *et al.*, 2010; CONABIO-SNIB, 2015). Adicionalmente se recolectaron botones florales de las plantas para garantizar que el polen se encuentre disponible para su análisis palinológico, teniendo cuidado del desarrollo del polen.

Determinación de las categorías de uso (melífero, ornamental y medicinal) de las plantas colectadas en los apiarios.

El listado florístico fue enriquecido con el análisis de la información sobre los usos melífero, ornamental y medicinal de cada especie para ello se recurrió a libros, artículos y base de datos especializados, así como a variables observables en la planta.

Para clasificar a las especies encontradas dentro de la categoría melífera se procedió a una revisión bibliográfica para determinar qué plantas se encuentran reportadas con este uso además de considerar la información proporcionada por el apicultor y observaciones directas en campo de acuerdo con lo propuesto por (Montoya-Pfeiffer *et al.*, 2014). En el caso de las plantas medicinales la información fue recabada solo por estudios etnobotánicos y etnofarmacológicos, que nos proporcionaron datos sobre el valor medicinal de la especie. Para establecer los valores ornamentales de las especies colectadas se tomó en cuenta los propuestos por (Leszczyńska-Borys, 1990) y revisados en (Tlahuextl-Tlaxcalteca *et al.*, 2005) consistió en las observaciones anatómicas y morfológicas de la planta tomando en cuenta las siguientes características en la flor y la hoja: el color, la forma, el tamaño, la textura, la abundancia, el aroma y el tiempo de floración.

Extracción, montaje y descripción de muestras de polen

A las muestras de botones florales y flores de especies identificadas previamente, se les extrajo las anteras con el apoyo de un estereoscopio y se depositaron en tubos de microcentrifuga de 1.5 ml etiquetados con la clave de colecta única para cada especie. A cada tubo se le agregó unas gotas de ácido acético glacial para ablandar las anteras y se maceraron para extraer el polen, posteriormente el macerado se filtró con una malla fina (300 μ) y el residuo se depositó en un tubo de centrifuga de 50ml para su acetólisis. Siguiendo el procedimiento de la técnica acetolítica (Erdtman, 1952). El montaje del polen para observación al microscopio se realizó siguiendo el método glicero-gelatina (Erdtman, 1952; Sáenz de Rivas, 1978), que brevemente consistió en tomar una gota del residuo polínico y depositarlo en un portaobjeto, posteriormente se calentó en una parrilla para evaporar residuos de agua. Posteriormente se le agregó una porción de glicerina-gelatina sobre la muestra y se calentó suavemente en estufa para derretir la glicerina. La mezcla se homogenizó, se colocó el cubre objeto y se selló con parafina líquida para que las muestras sean utilizables indefinidamente. El polen de cada especie fue etiquetado con datos de la familia, especie, así como la clave para ubicarlos en la Palinoteca del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco (CIATEJ).

Para la descripción morfológica del polen se realizaron observaciones de las muestras y sesiones fotográficas en un microscopio óptico con 100X. Cada tipo polínico fue descrito tomando en consideración los siguientes descriptores morfológicos: unidad de dispersión, simetría, polaridad, para el tamaño se consideró polen pequeño (11-25 μ m), mediano (26-

50µm), grande (51-100µm) y muy grande ($\geq 100\mu\text{m}$), clasificación de (Erdtman, 1952), forma, ámbito, apertura (Sistema NPC) y ornamentación.

Análisis de muestras de miel

Se analizaron ocho muestras de mieles proporcionadas por apiarrios de las localidades de Tixcocob, Hocabá y Hunucmá. Las mieles fueron procesadas según técnica de acetólisis de Erdtman, (1952) con algunas modificaciones. Las observaciones se compararon con los preparados de la palinoteca de referencia del CIATEJ además de consulta realizadas en la literatura (Alfaro Bates *et al.*, 2010; Ramos-Díaz *et al.*, 2015; San Román Ávila, 2014). Esta identificación se realizó a nivel de especie cuando fue posible, en otros casos, a nivel de género o familia. Para realizar el conteo se hicieron barridos, con un aumento del objetivo de 40x, tomando 600 granos de polen por muestra. Algunos preparados tuvieron muy bajo contenido polínico y aun contabilizando el pólen presente en varios preparados de forma independiente, no se logró reunir esa cantidad. Posterior a la identificación de los tipos de polen presentes, se determinaron los porcentajes más representativos de cada muestra. Se utilizó la tabla de frecuencia relativa propuesta por (Louveaux *et al.*, 1978) en donde polen dominante es mayor o igual a 45%, polen secundario entre 16-45%, polen de menor importancia entre 3-15% y polen traza es menor a 3%.

Clasificación de las muestras (Origen botánico)

Consideramos una miel monofloral a aquella en cuya composición predomina el polen de una especie vegetal. Mientras las mieles multiflorales, mixtas o poliflorales, sin que ninguna de ellas pueda considerarse predominante, ningún tipo de polen representa el 45% del total de la muestra (Tellería, 2001).

RESULTADOS

El estudio se llevó a cabo mediante colectas siete meses en la época de secas que comprende los meses de noviembre a mayo y la época de lluvias comprendida en los meses de junio a octubre de acuerdo a (Lugo & García, 1999). En figura 1 señalamos en mapa los tres municipios del estado de Yucatán que se visitaron al establecer colaboraciones con apicultores en Tixkokob, Tixpehual y Hocabá.

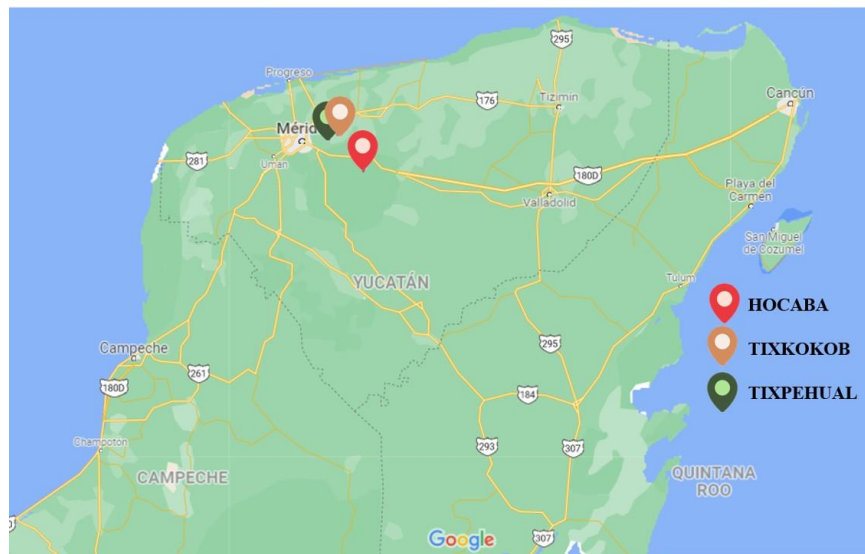


Fig. 1. Mapa de ubicación de sitios de colecta en el Estado de Yucatán. Mapa personalizado generado mediante Google Maps.

Identificación de plantas, flores, polen y clasificación de las muestras (origen botánico).

De las colectas realizadas identificamos en las cercanías de apiarios visitados un total de 64 especies distribuidas en 55 géneros y 29 familias (Tabla 1). Las familias con mayor abundancia dentro del estudio fueron las Fabaceae (15.6%), Euphorbiaceae (12.5%), Rubiaceae (7.8%), Asteraceae y Convolvulaceae (6.25%). Con menor presencia estuvieron las familias Bignoniaceae, Malvaceae y Polygonaceae (4.68%). Las familias Acanthaceae, Boraginaceae, Malpighiaceae y Solanaceae presentaron porcentajes de 3.12%. Así como una sola especie fue colectada para las familias Apocynaceae, Burseraceae, Cactáceae, Capparaceae, Commelinaceae, Lythraceae, Meliaceae, Moringaceae, Oxiladaceae y Passifloraceae. Las familias que se consideraron en la categoría de otros por contar con una especie colectada en los apiarios fueron Apocynaceae, Burseraceae, Cactáceae, Capparaceae, Commelinaceae, Lythraceae, Meliaceae, Moringaceae, Oxiladaceae y Passifloraceae (Fig. 1). Este estudio coincide con lo reportado por otros estudios florísticos realizados en el estado de Yucatán (Gutiérrez-Báez *et al.*, 2011; Kantún, 2005; Navarro Collí, 2001; Palma, 2009; Zamora Crescencio, 2008) donde las familias Euphorbiaceae, Fabaceae y Rubiaceae tienen cierta dominancia en el número de especies debido a que son plantas características de la selva del estado de Yucatán. En nuestras colectas identificamos a dos especies endémicas de la Península de Yucatán: *Nopalea gaumeri* y *Bourreria pulchra*.

Tabla 1. Listado florístico de plantas identificadas en los apiarios del Estado de Yucatán.

Familia	Especie	Nombre común	F C	Pr	Ct
Acanthaceae	<i>Ruellia nudiflora</i> (Engelm. & A. Gray)	Berraco xiiw, cruz xiiw	H	N	S
	<i>Ruellia inundata</i> Kunth	Me'ex chivo	H	-	S
Agaváceas	-	-	-	-	-
Apocynaceae	<i>Thevetia ahouai</i> (L.) A.DC.	Bola de venado	Ar	N	C
Asteraceae	<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray.	Árnica; su'um, su'un k'aak	Ar	N	S
	<i>Viguiera dentata</i> (Cav.) Spreng.	Tajonal	H	-	S
	<i>Asteraceae</i> spp	-	H	-	-
	<i>Asteraceae</i> spp	-	H	-	-
Bignoniaceae	<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.)	Hok'ab, Kok'ab	A	N	-
	<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth	Tronador, k'an lool	Ar	N	-
	<i>Arrabidaea floribunda</i> (Kunth) Loes.	Anilkab, anil aak', bilin aak', sak aak'	B		S
Boraginaceae	<i>Bourreria pulchra</i> (Millsp.) Millsp. ex Green.	Bakal che', sak boj (maya).	A	E	S
	<i>Cordia sebestena</i> L	Siricote blanco, k'oopte', sak k'oopte'	Ar	N	S
Burseraceae	<i>Bursera simaruba</i> (L.) Sarg.	Palo mulato (español); Chakaj (maya).	Ar	N	S
Cactaceae	<i>Nopalea gaumeri</i> Britton & Rose	Pak' am, tsakam (M)	Ar	E	
Capparaceae	<i>Capparis flexuosa</i>	Bokanché, xpayu'ak (M)	Ar		S
Commelinaceae	<i>Commelina erecta</i> L.	Flor de la virgen, hierba de lluvia (E)	H		S
Convolvulaceae	<i>Ipomoea carnea</i> Jacq	Campanilla, farafán (E); ke'elil (M)	B		S
	<i>Ipomoea crinalyx</i> S. Moore	Trompillon (E); tu' xikin (M).	H	N	
	<i>Jacquemontia tamnifolia</i> (L.) Griseb	solen aak' (maya)	Er		
	<i>Operculina pinnatifida</i> (Kunth) O'Donell	Aak' k'oon tin k'iin (maya).	Er		S

Familia	Especie	Nombre común	F C	Pr	Ct
Euphorbiaceae	<i>Croton glabellus</i> L.	ch'awche', chuts, copalchi, kokche'	Ar		S
	<i>Acalypha wilkesiana</i> Müll.Arg.	Chal le'	Ar	I	C
	<i>Cnidocolus aconitifolius</i> Mill I. M. Johnst	Chay, Chaay, Chaya, Chaykol, Xchay.	Ar	N	C
	<i>Croton flavens</i>	Ek balam	Ar		S
	<i>Croton</i> spp		H		
	<i>Euphorbia milii</i> Des Moul.	Corona de cristo	Ar		C
	<i>Kallstroemia maxima</i> (L.) Torr. & A. Gray	xich'iil aak' (maya).	H		
	<i>Manihot esculenta</i> Crantz	Yuca agria	Ar		
Fabaceae	<i>Lonchocarpus longistylus</i> Pittier	Balche', Baal che'.	Ar	N	S
	<i>Piscidia piscipula</i> (L.) Sarg.	ja'abin	Ar	N	S
	<i>Cassia fistula</i> L.	lluvia de oro, caña fistula	A	I	C
	<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit	Waaxim, Waxim.	Ar	N	S
	<i>Centrosema schottii</i> (Millsp.) K.Schum.	bu'ul ch'o' (maya).	H		S
	<i>Caesalpinia gaumeri</i> Greenm.	kitamche', kitimche', Xkitamche', Xkitinche'.	Ar	N	S
	<i>Senna racemosa</i> (Vahl) Irwin & Barneby	k'an lool, k'an ja' abin (maya).	Ar		
	<i>Bauhinia divaricata</i> L.	pata de vaca (español); ts' ulub took' (maya).	Ar	N	S
	<i>Galactia</i> spp	-	-	-	-
<i>Senna</i> spp	-	-	-	-	
Lythraceae	<i>Lagerstroemia indica</i> L.	Astromelia, flor de crepé, Jupiter	Ar	I	C
Malpighiaceae	<i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth.	nance, nance amarillo (español).	A	N	C
	<i>Bunchosia swartziana</i> Griseb	kibche, Sipche	A	N	
Malvaceae	<i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn	Pimm, Yaaxché	A		
	<i>Herissantia crispa</i> (L.) Brizicky	sak le', p'up'ul iik', sak miis (maya)	H		
	<i>Waltheria rotundifolia</i> Schrank	Sak misib. Sak xiiw, Malva blanca, Malva de monte	H		
Meliaceae	<i>Azadirachta indica</i> (Juss).	Neem	A	I	C
Moringaceae	<i>Moringa oleifera</i> Lam.	Moringa	A	I	C
Muntingiaceae	<i>Muntingia calabura</i> L	Capulín	AR	I	-
Oxalidaceae	<i>Oxalis</i> spp	-	H	-	-
Passiflora foetida L.	<i>Passiflora foetida</i> L.	Poch, túbok, poch'aak', poch'iil (maya).	H	S	-
Polygonaceae	<i>Gymnopodium floribundum</i> Rolfe	Dzizilché	Ar	-	-
	<i>Antigonon leptopus</i> Hook. & Arn	Flor de San Diego (español); chak lool, makal (maya).	H	-	S
	<i>Neomillspaughia emarginata</i> (H. Gross) S.F. Blake	sak iitsa'	Ar		S
Rubiaceae	<i>Chiococca (alba)</i> (L.) Hitchc.	Canchan che	Ar		
	<i>Ixora finlaysoniana</i> Wall. ex G.Don	Corona de novia	Ar		C
	<i>Murraya paniculata</i> (L.) Jack	Limonaria	A	I	C
	<i>Rubiaceae</i> spp 1	-	-	-	-
	<i>Citrus reticulata</i> Blanco	Mandarina	Ar		

Familia	Especie	Nombre común	F C	Pr	Ct
Sapindaceae	<i>Serjania triquetra</i> Radlk.	Ch'emil aak' (maya).	Ar		
Sapotaceae	<i>Sideroxylon americanum</i> (Mill.) T.D.Penn	caimitillo, pico real	Ar		
Solanaceae	<i>Capsicum annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>	Chile maax (español-maya); maax iik (maya).	Ar	S	
	<i>Solanum tridynamum</i> Dunal	Kóon ya'ax iik, pool iik, p'aak' kaan, puut balam, tóom p'aak', ts'ay,	Ar		S
Urticaceae	<i>Cecropia peltata</i> L.	Guarumbo (español); k'ooch k'aax, sak k'ooch, k'ooch le' (maya).	Ar	N	
Verbenaceae	<i>Stachytarpheta</i> spp	I'binxiw, Talche'.	Ar		C

F.C: Forma de crecimiento; Pr: procedencia; Ct: categoría; H: Hierba; Ar: Arbusto; A: Árbol; B: Bejuco; N: Nativa; E: Endémica de la Península de Yucatán; S: Silvestre; C: cultivada.

Determinación de las categorías de uso (melífero, ornamental y medicinal) de las plantas colectadas en los apiarios

Derivado de una revisión de los usos reportados en la literatura para las plantas colectadas, se organizaron bajo tres categorías (medicinal, melífera y ornamental). Del total de las especies colectadas, 40 especies, el 62.5% han sido reportadas como especies melíferas o poliníferas que contribuyen a las mieles de la región, 28 especies, el 43.75% son consideradas como ornamentales y 48 especies, el 75% tienen un valor medicinal y 13 especies tienen valor tanto medicinal, como melífero y ornamental. (Fig. 2). Del total de las especies melíferas el 25% se encontró que ya poseen usos alternativo ornamental y/o medicinal. En nuestro estudio la familia con mayores especies melíferas reportadas fue la familia Asteraceae, algunas especies de importancia fueron *Tithonia diversifolia*, *Viguiera dentata* y de la familia Fabaceae encontramos a *Piscidia piscipula*; *Cassia fistula*, *Lonchocarpus longistylus* y *Bauhinia divaricata*. La familia Convolvulaceae destacando las especies de *Ipomoea carnea* y *Ipomoea crinicalyx* por lo vistoso de sus flores tienen potencial ornamental. La especie *Ruellia nudiflora* de la familia Acanthaceae que tiene potencial ornamental.

Para la categoría de plantas con potencial medicinal en su mayoría fueron especies dentro de la familia Fabaceae y Euphorbiaceae. Algunas plantas melíferas tienen un uso en la medicina tradicional, por ejemplo, *Tithonia diversifolia* (Asteraceae), *Bauhinia divaricata* (Fabaceae) y *Piscidia piscipula* (Fabaceae) se han utilizado para el tratamiento de padecimientos respiratorios como bronquitis, tos y asma. Para controlar los niveles de insulina en la sangre se han reportado las especies *Tecoma stans* (Bignoniaceae), *Ipomea carnea* (Convolvulaceae) y *Cecropia peltata* (Urticaceae). Las especies de *Nopalea gaumeri* (Cactaceae), *Stachytarpheta jamaicensis* (berbenaceae) y *Byrsonimia crassifolia* (Malphigiaceae) han sido utilizadas para el tratamiento de enfermedades del sistema digestivo, como espasmos, diarreas e infecciones intestinales. Mientras que *Murraya paniculata* (Rutaceae) ha sido utilizada para padecimientos del sistema nervioso (Casado Martín et al., 2011).

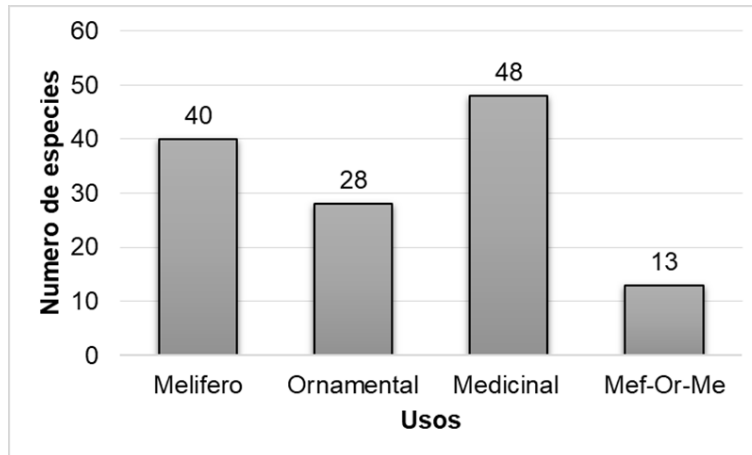

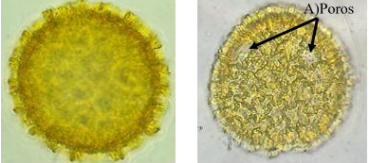

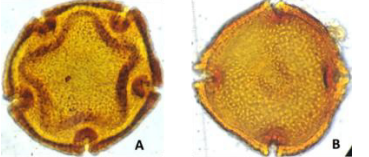


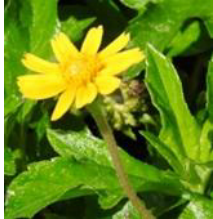
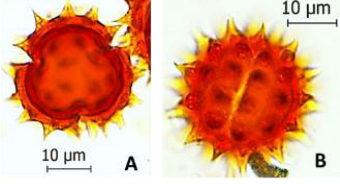
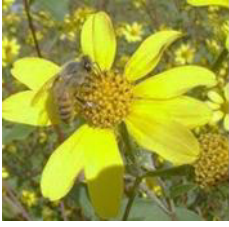
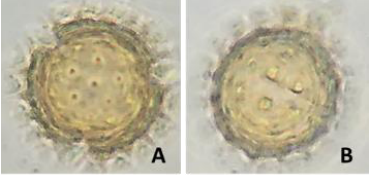

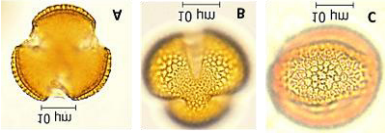
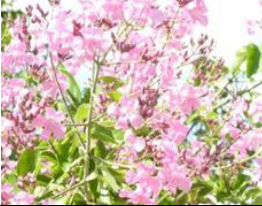
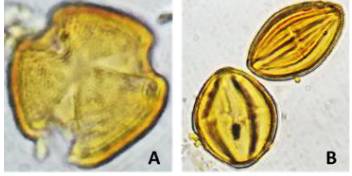
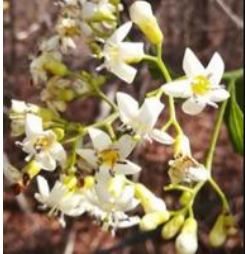
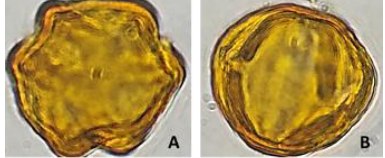
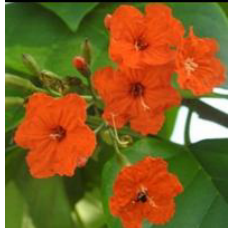
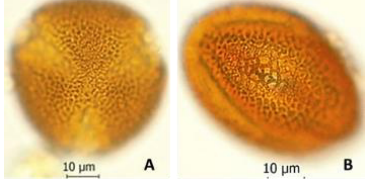
Fig. 2. Uso (melífero, ornamental y medicinal) de las especies identificadas en los apiarios del Estado de Yucatán. Mef: melífero; Or: Ornamental; Me: Medicinal.




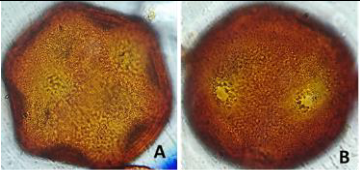



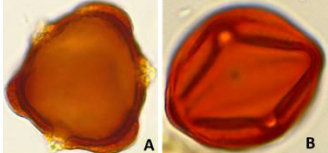



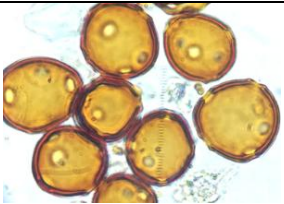
Descripción de muestras de polen


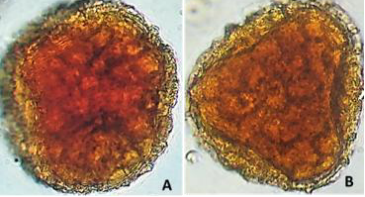

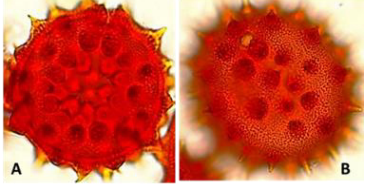

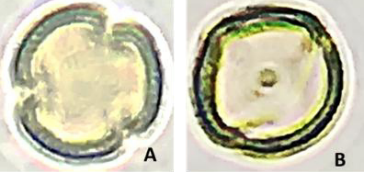

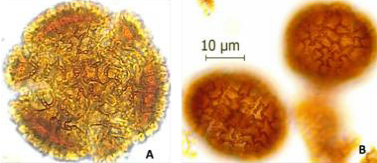

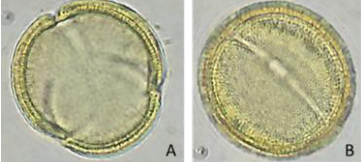
De acuerdo a los resultados de los análisis palinológicos, describimos veinte tipos polínicos de las sesenta y cuatro plantas colectadas e identificadas alrededor de los apiarios. Observamos una amplia diversidad de pólenes. Las características más notorias fueron, el tamaño, la forma y la ornamentación. En la tabla 2 se presentan las características morfológicas descritas en nuestro estudio de las principales familias e imágenes de polen para algunas de las especies:



Tabla 2. Descripción de muestras de polen de plantas colectadas en apiarios. Visto en microscopio óptico de 100x.

Familia	Especie	Descripción de polen	Imagen de polen
Acanthaceae	<i>Ruellia nudiflora</i> (Engelm. & A. Gray) 	un grano de polen grande, esférico, porado, semitectado, reticulado, heterobrochado y simetría radial	 A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.
Apocynaceae	<i>Thevetia ahouai</i> (L.) A.DC. 	polen de tamaño muy grande, cinco aperturas, tectado, y microreticulado y ámbito circular; Sánchez-Dizb <i>et al</i> , 2009 describe a este polen tres o cinco aperturas en forma de colpo, exina tectada y patrón microreticulado, simetría radiosimétrica y forma subprolato, circular-cuadrado.	 A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.

<p>Asteraceae</p>	<p><i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A. Gray.</p> 	<p>grano de polen mediano, tricolporado, forma esferoidal, ámbito circular, isopolar, radiosimétrico y ornamentación equinada</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
	<p><i>Viguiera dentata</i> (Cav.) Spreng.</p> 	<p>grano de polen tricolporado, forma esferoidal, ámbito circular, isopolar, radiosimétrico y ornamentación equinada.</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
<p>Bignoniaceae</p>	<p><i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth.</p> 	<p>grano de polen colporado y reticulado.</p>	 <p>A) Vista polar; B) Ornamentación; C) Vista Ecuatorial.</p>
	<p><i>Arrabidaea floribunda</i> (Kunth) Loes.</p> 	<p>polen radiosimétrico, isopolar, prolatoesferoidal, circular y Trizonocolporado y microreticulado</p>	 <p>A) Vista Polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
<p>Boraginaceae</p>	<p><i>Bourreria pulchra</i> (Millsp.) Millsp. ex Green.</p> 	<p>polen tricolporado, polen grande, radiosimétrico, isopolar, forma esferoidal, ámbito inter-hexagonal.</p>	 <p>A) Vista Polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
	<p><i>Cordia sebestena</i> L.</p> 	<p>polen tricolporado, reticulado, tamaño grande y ornamentación reticulada heterobrochada</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>

<p>Burseraceae</p>	<p><i>Bursera simaruba</i> (L.) Sarg.</p> 	<p>polen radiosimétrico, isopolar, tamaño pequeño, forma esferoidal, ámbito circular, apertura colporado, y ornamentación estriado-reticulado</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
<p>Cactaceae</p>	<p><i>Nopalea gaumeri</i> Britton & Rose</p> 	<p>asimétrico, apolar, polen muy grande, esferoidal, circular, polipantoporado y microreticulado.</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
<p>Commelinaceae</p>	<p><i>Commelina erecta</i> L.</p> 	<p>polen heteropolar, bisimétrico, tamaño grande, forma subprolato, apertura monosulcada, y ornamentación equinada.</p>	 <p>Vista Ecuatorial del polen.</p>
<p>Lythraceae</p>	<p><i>Lagerstroemia indica</i> L.</p> 	<p>Polen radiosimétrico, isopolar, tamaño mediano, forma oblato-esferoidal, ámbito inter-subangular, apertura tricolporado y ornamentación escábrida.</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
<p>Malpighiaceae</p>	<p><i>Byrsonima crassifolia</i> (L.) Kunth.</p> 	<p>radiosimétrico, isopolar, tamaño pequeño, forma esferoidal, apertura tricolporado y ornamentación microreticulado</p>	 <p>A) Vista Ecuatorial ; B) Ornamentación; C) Vista Polar.</p>
	<p><i>Bunchosia swartziana</i> Griseb</p> 	<p>polen asimétrico, apolar, tamaño pequeño, forma esferoidal, ámbito circular, apertura porado</p>	 <p>Vista Ecuatorial del polen.</p>

<p>Malvaceae</p>	<p><i>Ceiba pentandra</i> (L.) Gaertn</p> 	<p>polen radiosimétrico, isopolar, tamaño grande, forma subprolato, ámbito subangular y se observaron tres aperturas y ornamentación reticulada.</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
	<p><i>Herissantia crispa</i> (L.) Brizicky</p> 	<p>polen radiosimétrico, isopolar, tamaño grande, forma oblata, ámbito circular, apertura tricolporada y ornamentación equinado</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
<p>Muntingiaceae</p>	<p><i>Muntingia calabura</i> L.</p> 	<p>polen radiosimétrico, isopolar, tamaño pequeño, forma esferoidal, ámbito circular, apertura tricolporada y ornamentación microrreticulada.</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
<p>Passiflora foetida L.</p>	<p><i>Passiflora foetida</i> L.</p> 	<p>polen mónade, radiosimétrico, isopolar, seis aperturas tipo colpo, el ámbito es circular, la forma oblato y la ornamentación reticulada,</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>
<p>Polygonaceae</p>	<p><i>Gymnopodium floribundum</i> Rolfe</p> 	<p>grano mónade, radiosimétrico, isopolar, mediano, ámbito circular, forma subprolato, tricolporado, ornamentación reticulada</p>	 <p>A) Vista polar del polen; B) Vista Ecuatorial del polen.</p>

	<p><i>Neomillspaughia emarginata</i> (H. Gross) S.F. Blake</p> 	<p>polen mónade, radiosimétrico, isopolar, prolato y tamaño pequeño.</p>	 <p>Vista Ecuatorial del polen.</p>
--	--	--	--

Análisis de muestras de miel y su clasificación por origen botánico

Las muestras de miel colectadas se clasificaron de M1-M5 de acuerdo a la tabla siguiente (Tabla 3).

Tabla 3. Mieles de apiarios en localidades visitadas para recolección de flora.

Clave	Localidad	Mes de colecta
M1	Tixkokob	marzo
M2	Hocabá	abril
M3	Hocabá	abril
M4	Hocabá	marzo
M5	Tixkokob	abril

De acuerdo al análisis polínico la miel M1 la clasificamos como monofloral con un alto porcentaje de polen predominante de la familia Fabaceae representada por la especie *Piscidia piscipula* (66.70%), como polen secundario se categorizó a la especie *Gymnopodium floribundum* (26.5%) perteneciente a la familia Polygonaceae. Las familias Sapindaceae, Acanthaceae, Asteraceae, Malvaceae, Bombacaceae, Rutaceae, Burseraceae, Sapotaceae y Convolvulaceae se clasifican como de menor importancia en esta miel (Fig. 3). La muestra de miel M2, fue clasificada como monofloral, siendo el polen de *Piscidia piscipula* predominante con un porcentaje de 63.3%, a diferencia de la muestra M1, el polen secundario fue de *Bursera simaruba* (Burseraceae) con un 17.83%. En la categoría del polen de importancia menor identificamos a *Gymnopodium floribundum* y la familia Sapotaceae con porcentajes de 9.7% y 4.83% respectivamente. Mientras los sedimentos polínicos de las familias Amaranthaceae, Sapindaceae, Myrtaceae, Rutaceae y Asteraceae se identificaron como polen presente ($\leq 1\%$) (Figura 4). El análisis polínico de la muestra M3 permitió clasificarla como miel monofloral, el polen dominante (61.7%) fue *Piscidia piscipula* y las especies de *Bursera simaruba* y *Gymnopodium floribundum* estuvieron como polen secundario con 17.5% y 15.5% respectivamente. Las familias de menor importancia identificadas en la muestra de miel fueron Sapotaceae, Sapindaceae, y Rutaceae (Figura 5). De acuerdo al análisis polínico de la muestra M4 se clasificó como miel monofloral de *Gymnopodium floribundum* con polen dominante (90%). Las familias que identificamos en la muestra como polen menor fueron Myrtaceae, Fabaceae, Moraceae, Asteraceae, Burseraceae, Combretaceae, Rutaceae, Sapindaceae (Figura 6). La miel M5 fue clasificada como monofloral con un alto porcentaje de polen predominante de la familia Fabaceae representada por la especie *Piscidia piscipula* (60.5%), como polen secundario se categorizó a la especie *Gymnopodium floribundum* (34.76%) perteneciente a la familia Polygonaceae. Las familias Euphorbiaceae, Amaranthaceae, Rutaceae y Sapindaceae fueron determinados de importancia menor en la miel (Fig. 7).

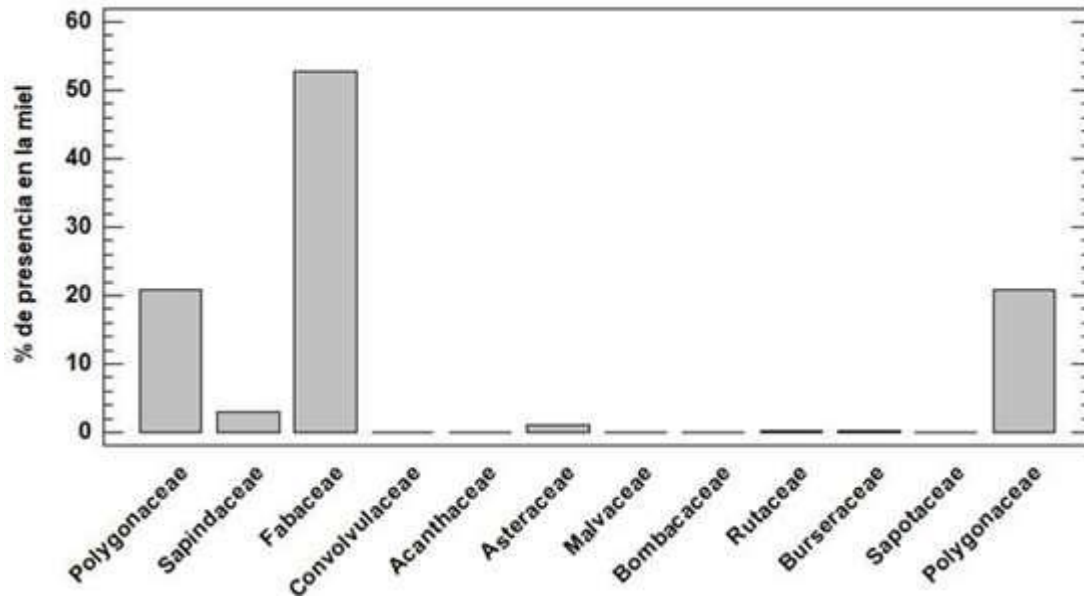


Fig. 3. Porcentajes (%) de ocurrencia del polen de las familias identificadas en la miel M1.

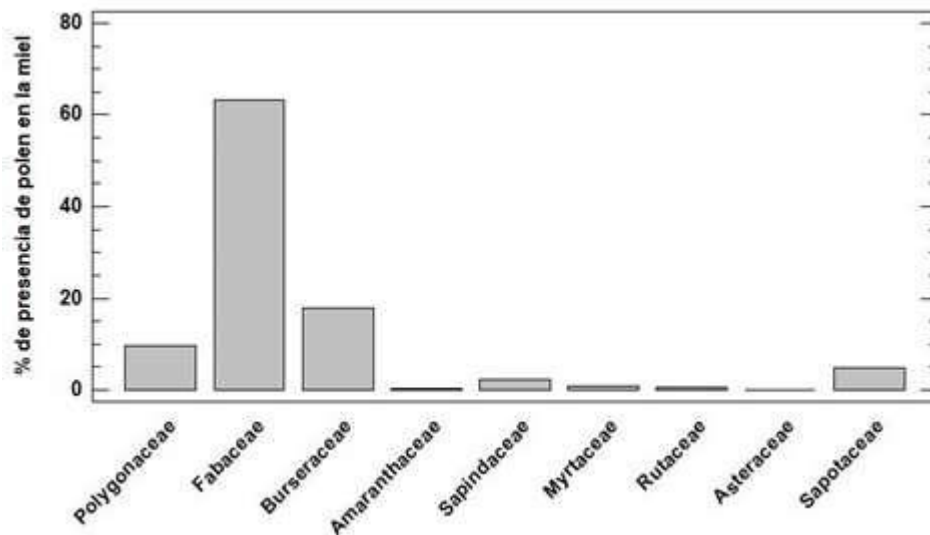


Fig. 4. Porcentajes (%) de ocurrencia del polen de las familias identificadas en la miel M2.

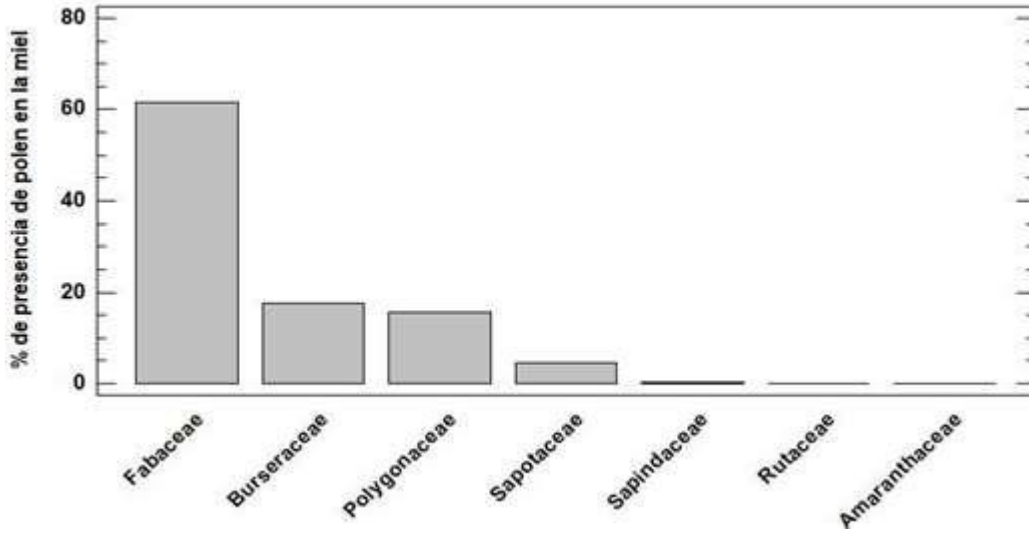


Figura 5. Porcentajes (%) de ocurrencia del polen de las familias identificadas en la miel M3

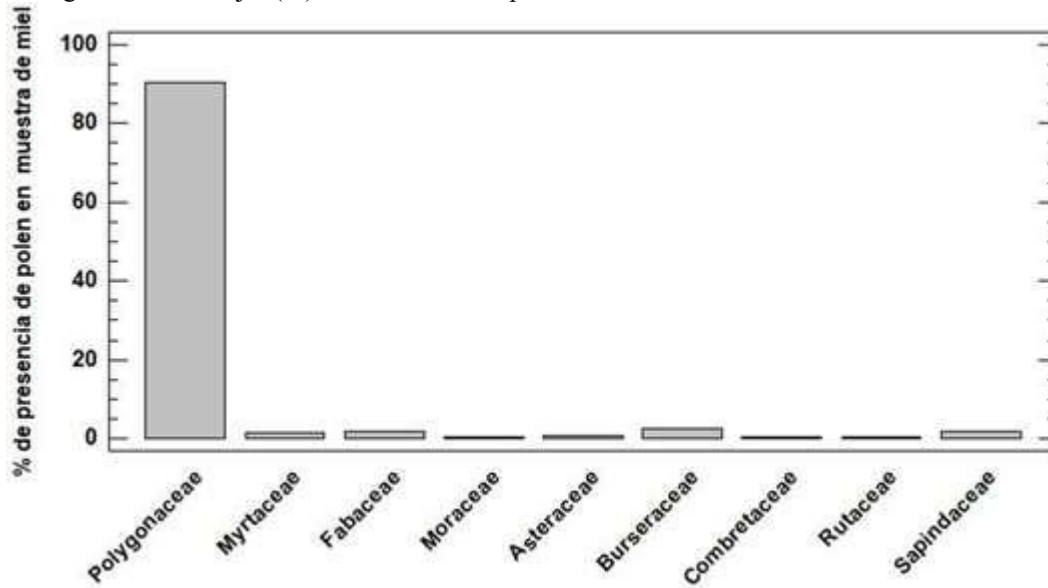


Fig. 6. Porcentajes (%) de ocurrencia del polen de las familias identificadas en la miel M4

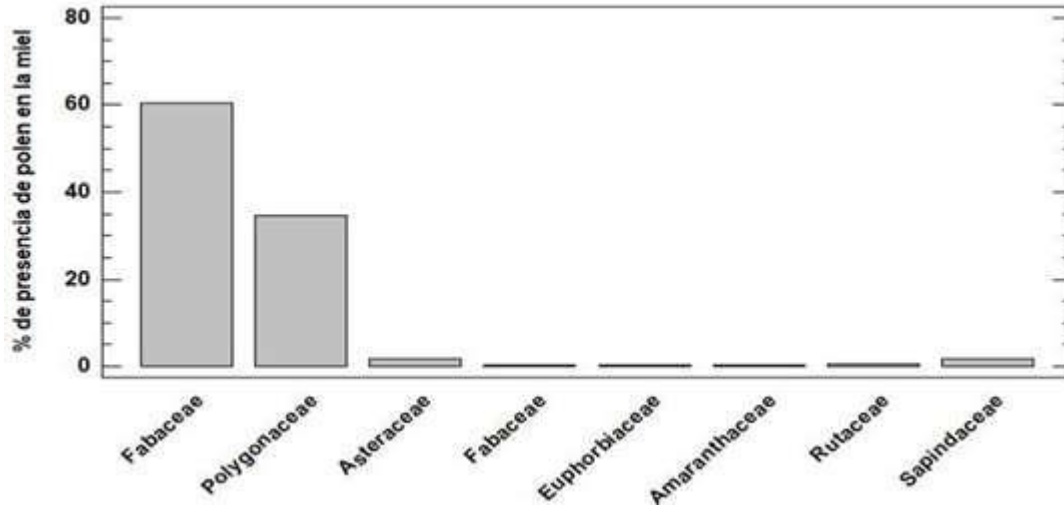


Fig. 7. Porcentajes (%) de ocurrencia del polen de las familias identificadas en la miel M5.

DISCUSIÓN

Las familias con mayor abundancia dentro del estudio fueron las Fabaceae (15.6%), Euphorbiaceae (12.5%), Rubiaceae (7.8%), Asteraceae y Convolvulaceae (6.25%). Con menor presencia estuvieron las familias Bignoniaceae, Malvaceae y Polygonaceae (4.68%). Este estudio coincide con lo reportado por otros estudios florísticos realizados en el estado de Yucatán (Navarro, 2001; Kantún 2005; Palma, 2009; Gutiérrez, *et al.*, 2011) donde la familia Fabaceae, Euphorbiaceae y Rubiaceae tienen cierta dominancia en el número de especies debido a que son plantas características de la selva del estado de Yucatán. El mayor porcentaje de especies reportadas en este estudio fueron de tipo melífero pero también encontramos con valor ornamentales y con reportes de uso medicinal lo que concuerda con estudios como el de Carnevali Fernández-Concha *et al.* (2010) y Dorantes Euán *et al.* (2012) quienes mencionan la diversidad de usos que tienen las especies melíferas, mientras Coh-Martínez *et al.* (2017) para el estado de Campeche reportó 77 especies melíferas de las cuales 40 fueron medicinales mientras el número de especies fue bastante bajo en ornamentales con 12 especies.

La familia con mayores especies melíferas reportadas en nuestro estudio fueron la familia Asteráceae, la importancia de esta familia ha sido reportada por diferentes autores que han estudiado la flora melífera en la región (Alfaro Bates *et al.*, 2010; Castellanos-Potenciano *et al.*, 2012; San Román Ávila, 2014; Villanueva-Gutiérrez *et al.*, 2009). De la familia Acanthaceae la especie *Ruellia nudiflora* posee potencial ornamental (Cruz Durán & García Granados, 2012), es una planta nativa que puede ser aprovechada por los apicultores como especie medicinal, melífera y de ornato. Las especies estudiadas de las familias Fabaceae y Euphorbiaceae como lo reporta Méndez-González *et al.* (2010) son de uso medicinal. Como ejemplo *Tithonia diversifolia*, *Bahuniadivaricata* y *Piscidiapiscipula* se han utilizado para el tratamiento de padecimientos respiratorios como bronquitis, tos y asma. Para controlar los niveles de insulina en la sangre se han reportado las especies *Tecomastan*, *Ipomea carnea* y *Cecropiapeltata*. Las especies de *Nopaleagaumeri*, *Stachytarpheta jamaicensis* y *Byrsonimiacrassifolia* han sido utilizadas para el tratamiento de enfermedades del sistema digestivo, como espasmos, diarreas e infecciones intestinales. Mientras que *Murraya paniculata* ha sido utilizada para padecimientos del sistema nervioso (Liang *et al.*, 2020).

De acuerdo a las descripciones polínicas para especies de la familia Acanthaceae, nuestras observaciones fueron similares a la literatura publicada por Ramos-Díaz *et al.* (2015) que describe el polen esferoidal, porado y reticulado, con exina semitectada y lúmenes irregulares; Cruz Durán y García Granados (2012) menciona que este género tiene características únicas en su morfología como el tipo de polen esférico, triporado y escultura reticulada. Para la familia Apocynaceae, Sáenz de Rivas (1978) en la que nos basamos catalogamos el polen de tamaño muy grande, con cinco aperturas, tectado, y microreticulado y con un ámbito circular (Sánchez-Dzib *et al.*, 2009) describe a este polen con tres o cinco aperturas en forma de colpo, con exina tectada y un patrón microreticulado, con simetría radiosimétrica y forma subprolato, circular-cuadrado. Dentro del mismo género este autor describió el polen de *Thevetia peruviana* como un grano tricolporado y reticulado, por lo cual el género estaría dado por granos de polen Euripalínicos. La familia Asteraceae presenta una gran diversidad de morfológica en cuanto al polen, por lo que se considera también un taxón con Euripalínicos (Erdtman, 1952), sin embargo, Stix (1960) indica que en la mayoría de las tribus de Astereaceae existe una gran similitud, y solo dos tribus presentan diferencias. A el polen de la especie de *Tithonia diversifolia* lo describimos como un grano de polen mediano, tricolporado, forma esferoidal, ámbito circular, isopolar, radiosimétrico con ornamentación equinado, sin embargo, hay mucha controversia sobre la morfología polínica citada en la literatura. Parani & Cortopassi-Laurino, (1993) y Saavedra (2016) describen al polen con apertura tricolporado, circular, ámbito esferoidal mientras, Ekeke *et al.* (2016) y Akinnubi *et al.* (2014) difieren describiendo a un polen pantoporado. La otra especie identificada es *Viguiera dentata*, con polen similar a lo reportado por San Román Ávila (2014) y Alfaro Bates *et al.* (2010) que describen este polen tricolporado, como un grano esférico de 23 µm con espinas largas y puntiagudas de 3.8 µm. Para la familia Boraginaceae, la descripción fue similar a lo descrito por Nowicke & Ridgway (1973). Para la especie *Bourreria pulchra endémica* de la Península de Yucatán se ha reportado en observaciones al MEB que los granos van de escabrosos a verrugosos (Gutiérrez & Zamora, 2012). La familia Boraginaceae se ha considerado como euripalínica (Quiroz-García *et al.*, 1997). Dentro de la familia Burseraceae se ha descrito que los granos las especies del género *Bursera* generalmente son pequeños, prolotos-esferoidales, con ámbito circular, brevicolpado y con ornamentación estriada-reticulada (Aguilar-Sierra & Melhem, 1998). Estas características que fueron observadas en el polen de *Bursera simaruba* y descritas también por Alfaro Bates *et al.* (2010) y San Román Ávila (2014), como granos de polen tricolporado o triporados. En la familia Cactaceae, el polen de *Nopalea gaumeri* es asimétrico, apolar, polen muy grande, esferoidal, circular, polipantoporado y microreticulado. Esta especie fue descrita por Palacios Chávez *et al.* (1991) con ocho o más poros y es la segunda especie endémica de la Península de Yucatán que colectamos e identificamos en el trabajo. En la familia Commelinaceae normalmente el polen posee con polen heteropolar, bisimétrico, tamaño grande, forma subprolato, con apertura monosulcada, y ornamentación equinada, pero pueden variar mucho en el tamaño y ornamentación dentro de los géneros (Maia, 2006). La familia Euphorbiaceae, es una de las familias con el mayor número de especies colectadas e identificadas alrededor de los apiarios en el presente estudio. La mayoría ya han sido descritas por diferentes autores (Alfaro Bates *et al.*, 2010; Ramos-Díaz *et al.*, 2015; San Román Ávila, 2014), por lo que no se presentaron imágenes del polen en la tabla 2, al igual que con la familia Fabaceae. La familia Lythraceae, existe información sobre la morfología polínica de esta especie debido a su importancia como ornamental (Gu *et al.*, 2019), algunas de las controversias sobre la morfología polínica es la ornamentación, algunos autores la describen como reticulada (Herguido, 2017). El polen de la familia Malpighiaceae también fue descrito por (Palacios Chávez *et al.*, 1991) como un grano con apertura de seis poros y ornamentación psilada. Para la familia Malvaceae, (Montoya-pfeiffer *et al.*, 2014) describe al polen de *Ceiba pentandra* con apertura brevicolporada. La especie de *Herissantia crispa* presenta un polen radiosimétrico, isopolar, tamaño grande, forma oblata, ámbito circular, con apertura tricolporado de ornamentación equinada similar a lo reportado por (Quiroz-García *et al.*, 1997) (Jiménez Reyes, 2002). Para la familia Muntingiaceae, la descripción concuerda con lo descrito como un polen radiosimétrico, isopolar, tamaño pequeño, forma esferoidal, ámbito circular, apertura tricolporado y ornamentación microrreticulada (Montoya-Pfeiffer *et al.*, 2014). La familia

Passifloraceae, las características son similares a lo reportado por (Barrios *et al.*, 2005). Para la familia Polygonaceae, la morfología del polen ha sido estudiada por varios autores como (Wodehouse, 1931) y (Erdtman, 1952). Estas plantas tienen una gran diversidad de tipos polínicos debido a la variación en todas sus características como apertura, ornamentación y estructura de la exina (Alfaro Bates *et al.*, 2010), describió estas mismas especies y su descripción para el género *Gymnopodium* fueron similares a nuestras observaciones.

Los resultados obtenidos para las mieles colectadas en los apiarios de algunas de las comunidades visitadas concuerdan con lo reportado por (Villanueva-Gutiérrez *et al.*, 2009), la especie *Piscidia piscipula* es común encontrarla en las mieles del estado de Yucatán con alto porcentaje de frecuencia polínica. (Alfaro Bates *et al.*, 2010) señalan que una de las mieles principales que se cosechan en épocas de secas es monofloral de la especie mencionada, lo cual concuerda con la época de cosecha de la muestra de miel de nuestro estudio en el mes de marzo. Se ha reportado que los granos de polen encontrados como acompañantes de la miel de *Piscidiapiscipula* pueden ser de las especies, *Bursera simaruba* y *Gymnopodium floribundum* (Alfaro Bates *et al.*, 2010) esta última se presentó como polen secundario en nuestro análisis.

CONCLUSIONES

Las familias más representativas de las especies encontradas con uso medicinal fueron las Fabáceae, Asteráceae, Euphorbiaceae y Polygonaceae que se han reportado en la medicina tradicional para ayudar a problemas del sistema respiratorio como asma, bronquitis y tos; enfermedades del sistema digestivo, infecciosas y parasitarias, además de problemas del tejido cutáneo como acné y salpullidos.

Las especies nativas *Ipomoea carnea*, *Ipomoea crinicalyx* y *Ruellia nudiflora* se identificaron con un gran potencial ornamental de importancia para el estado por la forma de las flores (campanillas) y sus colores (blanco y morado).

Las muestras de polen descritas se anexaron a la palinoteca del laboratorio de Biotecnología Vegetal del Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Subsección Sureste. Los granos de polen de las familias Asteraceae, Fabaceae, Bignoniaceae, Polygonaceae y Rubiaceae, que presentaron mayor número de especies en las colectas fueron determinadas palinológicamente como granos de polen euripalinológicos, por la diversidad de formas, tamaños, aperturas y ornamentación que se describieron, por lo tanto, poseen características propias de cada familia, que permiten diferenciar entre familias.

Los estudios melisopalinológicos mostraron que las cinco muestras de miel analizadas en este estudio y correspondientes a las zonas de colecta de la flora fueron monoflorales. Cuatro mieles fueron determinadas como miel de *Piscidia piscipula* y una de las muestras se identificó como miel de *Gymnopodium floribundum*. Las familias que contribuyen principalmente a esta composición polínica de la miel coincidieron con las reportadas para la península de Yucatán, siendo las más relevantes: Asteraceae, Fabaceae, Euphorbiaceae, Polygonaceae, Sapindaceae y Sapotaceae.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca No. 453588. Al Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco por el uso de sus instalaciones. Al Centro de Estudios de Desarrollo Sustentable y aprovechamiento de la vida silvestre-Universidad Autónoma de Campeche por el resguardo de material de herbario. Al proyecto Miel orgánica realizado en el CIATEJ por la empresa Plenum Soft. A los apicultores Jaime Couoh Chalé, Fermín Kantún, Javier Enrique Chavarría, Carlos Koyoc y Antonio Koyoc

por las facilidades brindadas para las colectas. Se agradece al financiamiento del proyecto denominado plataforma digital para el control, seguimiento y validación (normatividad) de procesos de producción de miel orgánica No. 240777.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Sierra, C. I., & Melhem, T. S. (1998). Morfología polínica da tribo Canarieae (Burseraeae) na América do Sul. *Revista Brasileira de Botânica*, 21(1), 27–34. <https://doi.org/10.1590/s0100-84041998000100004>
- Akinnubi, F. M., Akinloye, A. J., Olaleye-Otunla, O., & Adenegan-Alakinde, T. A. (2014). Foliar anatomy of some species of Asteraceae in South Western Nigeria. *African Journal of Plant Science*, 8(9), 426–440. <https://doi.org/10.5897/ajps2014.1196>
- Alfaro Bates, R. G., Gonazales Acereto, J. A., Ortiz Díaz, J. J., Viera Castro, F. A., Burgos Pérez, A. I., Martínez Hernández, E., & Ramírez Arriaga, E. (2010). *Caracterización Palinológica de las Mieles de la Península de Yucatan*.
- Barrios, A., María, C., Carlos, I., Eeckenbrugge, C., Alejandro, J., & Cristian, A. (2005). *Passiflora y Dilkea 1*.
- Briceño Santiago, C. I. (2018). Identificación De Flora Melífera Con Potencial. In *Identificación de flora melífera con potencial ornamental y medicinal en Yucatán*. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.
- Carnevali Fernández-Concha, G., Muñoz-Tapia, J. I., Duno de Stefano, R., & Ramírez, I. M. (2010). *Flora ilustrada de la Península de Yucatán: listado florístico*. Centro de Investigación Científica de Yucatán.
- Casado Martín, C. M., Gutiérrez Gaitén, Y. I., & Rodríguez Amado, E. (2011). Acercamiento al género *Murraya* (Rutaceae) y a la especie *Murraya paniculata* (L.) Jack. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(4), 408–418.
- Castellanos-Potenciano, B. P., Gallardo-López, F., Sol-Sánchez, Á., Landeros-Sánchez, C., Díaz-Padilla, G., Sierra-Figueroa, P., & Santibañez-Galarza, J. L. (2016). Impacto potencial del cambio climático en la apicultura. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 2(1), 1–19.
- Castellanos-Potenciano, B. P., Ramírez Arriaga, E., & Zaldivar-Cruz, J. M. (2012). Análisis del contenido polínico de mieles producidas por *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae) en el estado de Tabasco, México. *Acta Zoológica Mexicana (N.S.)*, 28(1), 13–36. <https://doi.org/10.21829/azm.2012.281813>
- Coh-Martínez, M. E., Cetzal-Ix, W., Zúñiga Díaz, D., Poot-Pool, W. S., Noguera-Savelli, E., Martínez-Puc, J. F., & Cuevas, M. J. (2017). Multiusos de la flora apícola: una alternativa económica para los productores de Campeche, México. In *Apicultura: Manejo, Nutrición, Sanidad y Flora Apícola*. (pp. 90–103). Universidad Autónoma de Campeche.
- CONABIO-SNIB. (2015). *Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) Sistema Nacional de Información sobre Biodiversidad (SNIB) Registros de especímenes Versión 2015-11*.
- Cruz Durán, R., & García Granados, M. E. (2012). Presencia de *Ruellia jaliscana* Standl. (Acanthaceae. sect. Chiropterophila) en la flora del estado de Guerrero, México. *ramiro. Botanical Sciences*, 90(3), 353–356.
- Dorantes Euán, A., Tapia Muñoz, J. L., Méndez González, M. E., Ferrer Cervantes, M. E., Durán García, R., Borges Argáez, R. de L., Peraza Sánchez, S. R., & Torres Avilez, W. M. (2012). *Flora medicinal de los mayas peninsulares*.
- Ekeke, C., Obute, G. C., & Ogwu, N. (2016). Pollen Morphology of some Medicinal Plants in Asteraceae form Nigeria. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 4(7), 165–172. <https://doi.org/10.20546/ijcrar.2016.407.020>
- Erdtman, G. (1952). Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms. Ed. . 539 p. *The Chronica Botanica CO. Waltham, Mass*, 539.

- Gu, C., Ma, L., Wu, Z., Chen, K., & Wang, Y. (2019). Comparative analyses of chloroplast genomes from 22 Lythraceae species: Inferences for phylogenetic relationships and genome evolution within Myrtales. *BMC Plant Biology*, 19(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1870-3>
- Gutiérrez-Báez, C., Ortiz-Díaz, J., Flores-Guido, J. S., Zamora-Crescencio, P., Domínguez-Carrasco, M., & Villegas, P. (2011). Estructura y composición florística de la selva mediana subcaducifolia de Nohalal-Sudzal Chico, Tekaz, Yucatán, México. *Foresta Veracruzana*, 13(1), 7–14. <http://www.redalyc.org/pdf/497/49719786002.pdf>
- Gutiérrez, C., & Zamora, P. (2012). Especies Leñosas de la Selva Baja Caducifolia de Xmatkuil, Yucatán, México. *Foresta Veracruzana*, 14(2), 9–14.
- Herguido, J. I. (2017). *Caracterización Polínica de Mieles Procedentes de de Apicultura Urbana en los Jardines del Real de la Ciudad de Valencia*. 100.
- Jiménez Reyes, M. N. (2002). *Morfología de los granos de polen de la familia Malvaceae de Jalisco, México*. Universidad de Guadalajara.
- Kantún, J. (2005). *Diagnóstico de la vegetación secundaria de Tixcacaltuyub, Yucatán y opciones de manejo basadas en la estructura y composición de especies*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma.
- Leszczyńska-Borys, H. (1990). *Elementos Básicos en el Arte del Diseño Floral*. Ediciones UPAEP. Serie Manuales de Horticultura Ornamental.
- Liang, H., Cao, N., Zeng, K., Zhao, M., Tu, P., & Jiang, Y. (2020). Coumarin and spirocyclopentenone derivatives from the leaves and stems of *Murraya paniculata* (L.) Jack. *Phytochemistry*, 172(June 2019), 112258. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112258>
- Louveaux, J., Maurizio, A., & Vorwohl, G. (1978). Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59(4), 139–157.
- Lugo, J., & García, M. (1999). *El relieve de la Península de Yucatán*. En: García FA, Córdoba OJ, Chico PLP (Eds.) *Atlas de Procesos territoriales en Yucatán*. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, Yucatán México. (pp. 159–162).
- Maia, D. C. da. (2006). Estudio taxonómico dos gêneros *Commelina* L. e *Dichorisandra* J.C. Mikan (Commelinaceae), no Estado do Paraná, Brasil. *Dissertação Apresentada Como Requisito Parcial à Obtenção Do Grau de Mestre, Pelo Curso de Pós-Graduação Em Botânica Do Setor de Ciências Biológicas Da Universidade Federal Do Paraná*.
- Martell Tamanis, A. Y., Lobato Rosales, F. G., Landa Zárate, M., Luna Chontal, G., García Santamaría, L. E., & Fernandez Lambert, G. (2019). Variables de influencia para la producción de miel utilizando abejas *Apis mellifera* en la región de Misantla. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(6), 1353–1365. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1690>
- Méndez-González, Martha E, Torres-Avilez, W. M., Dorantes-Euán, A., & Durán-García, R. (2014). Jardines medicinales en Yucatán: Una alternativa para la conservación de la flora medicinal de los mayas. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 37(2), 97–106. <https://doi.org/10.35196/rfm.2014.2.97>
- Méndez-González, M.E.; Durán-García, R., Campos-Bobadilla, S. M., & Dorantes-Euán, A. (2010). Flora medicinal. *Biodiversidad y Desarrollo Humano En Yucatán*, 349–352.
- Montoya-Pfeiffer, P. M., León-Bonilla, D., & Nates-Parra, G. (2014). *Cafeteras en la Sierra Nevada de Santa Marta, Magdalena, Colombia*. 38(149).
- Navarro Collí, V. M. (2001). *Estudio florístico de la vegetación de la Sierrita de Ticul en el Rancho Hobonil, municipio de Tzucacab, Yucatán, México*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán.
- Nowicke, J. W. ., & Ridgway, J. E. (1973). Pollen Studies in the Genus *Cordia* (Boraginaceae). *American Journal of Botany*, 60(6), 584–591.
- Palacios Chávez, R., Ludlow-Wiechers, B., & Villanueva, R. (1991). *Flora palinológica de la Reserva de la Biósfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México*. CIQRO.
- Palma, P. G. (2009). *Estructura y composición de la selva mediana subcaducifolia de Kabah y San Juan Bautista Tabí y anexa Saniclé, Yucatán*. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Autónoma de Yucatán. Mérida, México.

Recibido:
3/agosto/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- Parani, J. R., & Cortopassi-Laurino, M. (1993). *Flores e abelhas em São Paulo*. EDUSP.
- Pérez-Sarabia, J. E., Duno de Stefano, R., Fernández-Concha, G. C., Ramírez Morillo, I., Méndez-Jiménez, N., Zamora-Crescencio, P., Gutiérrez-Baez, C., & Cetzal-Ix, W. (2017). El conocimiento florístico de la península de Yucatán, México, Mexico. *Polibotánica*, 0(44), 39–49. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.44.3>
- Quiroz-García, D. L., Palacios-Chávez, R., & Arreguín-Sánchez, M. de la L. (1997). Morfología de los granos de polen de la Familia Boraginaceae de la Estación de Biología Chamela, Jalisco, México. *Polibotánica*, 4, 37–53.
- Ramos-Díaz, A., Noriega-trejo, R., Góngora-chin, R., Ángeles, S.-C., & Rodríguez-Buenfil, I. (2015). *Catálogo de los principales tipos polínicos encontrados en mieles producidas en la Península de Yucatán*. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco.
- Rendón Correa, A., & Fernández Nava, R. (2007). Plantas con potencial uso ornamental del estado de Morelos, México. *Polibotánica*, 23, 121–165.
- Rogel, Francisco J., P. F. G. R., Carlos, E. G., G., V., Juan Manuel, R., & Álvarez, G. (2003). La apicultura en la península de Yucatán. Actividad de subsistencia en un entorno globalizado. *Revista Mexicana Del Caribe*, VIII(16), 117–132.
- Saavedra, S. (2016). *Fenología y fisiología de semillas de botón de oro Tithonia diversifolia (Hemsl.) Gray*. Universidad Nacional de Colombia.
- SADER. (2020). Norma Oficial Mexicana NOM-004-SAG/GAN-2018, Producción de miel y especificaciones. *DOF - Diario Oficial de La Federación*, 8.
- Sáenz de Rivas, C. (1978). *Polen y esporas: (introducción a la Palinología y Vocabulario palinológico)*.
- San Román Ávila, D. A. (2014). *Desarrollo de un método espectrofotométrico para la detección de alcaloides pirrolizidínicos (pas) en mieles y polen de plantas melíferas de la península de Yucatán*. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.
- Sánchez-Dzib, Y. de los A., Sosa-Nájera, S., & Lozano-García, M. del S. (2009). Morfología polínica de especies de la selva mediana subperennifolia en la cuenca del río Candelaria, Campeche. *Boletín de La Sociedad Botánica de México.*, 104(84), 83–104.
- SEDER. (2020). *La miel mexicana va endulzando el mundo*. 1–5. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/la-miel-mexicana-va-endulzando-el-mundo?idiom=es>
- Stix, E. (1960). Pollenmorphologische untersuchungen an compositen. *Grana Palynologica*, 2(2), 41–104. <https://doi.org/10.1080/00173136009429443>
- Tellería, M. C. (2001). El polen de las mieles, un indicador de su procedencia botánica y geográfica. *Ciencia Hoy.*, 11(62), 63–65.
- Tlahuextl-Tlaxcalteca, C., Ávila-Sanchez, J. M., & Leszczyńska-Borys, H. (2005). Flores de corte y follaje en florerías y mercados de Puebla, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 11(2), 323–327.
- Toledo, V. M., Barrera-bassols, N., & Alarcón-chaies, E. G. P. (2008). *Uso múltiple y biodiversidad entre los mayas yucatecos (México)*. May 2014.
- Toledo, V. M., Barrera-Bassols, N., García-Frapolli, E., & Alarcón-Cháires, P. (2013). *Etnoecología de los Mayas Yucatecos*.
- Villanueva-gutiérrez, R., Moguel-ordóñez, Y. B., & Echazarreta-, C. M. (2009). *Monofloral honeys in the Yucatan Peninsula , Mexico Monofloral honeys in the Yucatán Peninsula , Mexico. September*. <https://doi.org/10.1080/00173130902929203>
- Villaseñor, J. L., & Ortiz, E. (2014). Biodiversity of flowering plants (Division Magnoliophyta) in Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(SUPPL.), 134–142. <https://doi.org/10.7550/rmb.31987>
- Wodehouse, R. P. (1931). Pollen Grains in the Identification and Classification of Plants VI. Polygonaceae. *American Journal of Botany*, 18(9), 749. <https://doi.org/10.2307/2435790>
- Zamora Crescencio, P. (2008). Estructura y composición florística de la selva mediana subcaducifolia en el sur del estado de Yucatán, México. *Polibotánica*, 26, 39–66.

RELACIONES FILOGENÉTICAS DE ESPECIES DE *Phaseolus* DE MÉXICO CON BASE EN MARCADORES DE ADN CLOROPLÁSTICO

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *Phaseolus* SPECIES FROM MÉXICO BASED ON CHLOROPLASTIC DNA MARKERS

Villarreal-Villagrán, V. H.; J. S. Muruaga-Martínez; M. L. P. Vargas-Vázquez; N. Mayek-Pérez y S. Hernández-Delgado.

RELACIONES FILOGENÉTICAS DE ESPECIES DE *Phaseolus* DE MÉXICO CON BASE EN MARCADORES DE ADN CLOROPLÁSTICO.

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *Phaseolus* SPECIES FROM MÉXICO BASED ON CHLOROPLASTIC DNA MARKERS.



RELACIONES FILOGENÉTICAS DE ESPECIES DE *Phaseolus* DE MÉXICO CON BASE EN MARCADORES DE ADN CLOROPLÁSTICO

PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS OF *Phaseolus* SPECIES FROM MÉXICO BASED ON CHLOROPLASTIC DNA MARKERS

Villarreal-Villagrán, V. H.;
J. S. Muruaga-Martínez;
M. L. P. Vargas-Vázquez;
N. Mayek-Pérez y
S. Hernández-Delgado.

RELACIONES
FILOGENÉTICAS DE
ESPECIES DE *Phaseolus* DE
MÉXICO CON BASE EN
MARCADORES DE ADN
CLOROPLÁSTICO.

PHYLOGENETIC
RELATIONSHIPS OF
Phaseolus SPECIES FROM
MÉXICO BASED ON
CHLOROPLASTIC DNA
MARKERS.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 35-51. Enero 2022

DOI:

10.18387/polibotanica.53.3

V. H. Villarreal-Villagrán

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica.
Blvd. del Maestro s/n esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, 88710,
Reynosa, Tamaulipas, México. Tel./Fax (+52-899) 9243627
<https://orcid.org/0000-0002-5856-4680>

J. S. Muruaga-Martínez

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).
Campo Experimental Valle de México. Coatlinchán, Texcoco, México 56230.
<https://orcid.org/0000-0002-7819-9190>

M. L. P. Vargas-Vázquez

Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP).
Campo Experimental Valle de México. Coatlinchán, Texcoco, México 56230.
<https://orcid.org/0000-0002-2732-1125>

N. Mayek-Pérez

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica.
Blvd. del Maestro s/n esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, 88710,
Reynosa, Tamaulipas, México. Tel./Fax (+52-899) 9243627
Universidad Autónoma de Tamaulipas, Unidad Académica Multidisciplinaria
Reynosa-Rhode. Carretera Reynosa - San Fernando, cruce con Canal Rodhe
Col. Arcoiris, 88779. Reynosa, México. <https://orcid.org/0000-0001-6960-6287>

S. Hernández-Delgado / shernandezd@ipn.mx

Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica.
Blvd. del Maestro s/n esq. Elías Piña, Col. Narciso Mendoza, 88710,
Reynosa, Tamaulipas, México.
<https://orcid.org/0000-0002-0962-9599>

RESUMEN: El género *Phaseolus* es originario de México; al menos 31 de las 81 especies conocidas y distribuidas a través de América son endémicas al país. Los estudios filogenéticos en *Phaseolus* deben incluir las especies conocidas y las nuevas especies que se siguen descubriendo. En este trabajo se analizaron las relaciones filogenéticas de 34 accesiones de *Phaseolus* colectadas en México, que incluyeron 19 especies y dos subespecies de *P. coccineus*; tres especies (*P. albiviolaceus*, *P. maculatifolius* y *P. rotundatus*) no se habían incluido en una filogenia. Como grupo externo se incluyó una accesión de *Vigna radiata*. Cinco regiones no codificantes de ADN cloroplástico (ADNc): *trnT-trnL*, *trnL-trnF*, *rpl16*, *rpoC1-rpoC2* y *rps14-psaB* permitieron la reconstrucción filogenética por tres métodos (máxima parsimonia, máxima verosimilitud, análisis Bayesiano de probabilidades posteriores). Los resultados indicaron que el género *Phaseolus* es un grupo monofilético que se subdivide en dos linajes principales: un primer clado formado por *P. pluriflorus*, *P. esperanzae*, *P. pedicellatus*, *P. microcarpus*, *P. glabellus*, *P. oligospermus*, *P. gladiolatus*, *P. zimapanensis* y *P. albiviolaceus* y un segundo clado que incluye *P. filiformis*, *P. acutifolius*, *P. vulgaris*, *P. coccineus*, *P. macvaughii*, *P. leptostachyus*, *P. lunatus*, *P. maculatus*, *P. maculatifolius* y *P. rotundatus*. La topología de los subclados

estuvo de acuerdo, en general, con la topología para *Phaseolus* reconocida a la fecha. De las especies no estudiadas previamente *P. albiviola* según su morfología pertenece al grupo *Pedicellatus* pero aquí se ubicó en el grupo *Tuerckheimii*; *P. maculatifolius* y *P. rotundatus* se incluyeron en el grupo *Polystachios*. El clado ancestral de las especies de *Phaseolus* mostró una edad de 4.95 M.a. y la diversificación de los dos clados principales exhibió edad similar (3.8 M.a). La divergencia entre *P. albiviola* y *P. zimapanensis* fue de 0.07 M.a. mientras que entre *P. rotundatus* y *P. maculatifolius* fue de 0.31 M.a.

Palabras clave: Secuenciación de DNA cloroplástico, relaciones filogenéticas, colecta de germoplasma, frijoles silvestres.

ABSTRACT: The *Phaseolus* genus is native to Mexico; at least 31 of the 81 species known and distributed throughout America are endemic to the country. Phylogenetic studies in *Phaseolus* must include known species and new species that continue to be discovered. In this work, the phylogenetic relationships of 34 *Phaseolus* accessions collected in Mexico were analyzed, which included 19 species and two subspecies of *P. coccineus*; three species (*P. albiviola*, *P. maculatifolius* and *P. rotundatus*) had not been included in a phylogeny. As an external group, an accession of *Vigna radiata* was included. Five non-coding regions of chloroplast DNA (cDNA): *trnT-trnL*, *trnL-trnF*, *rpl16*, *rpoC1-rpoC2*, and *rps14-psaB* allowed phylogenetic reconstruction by three methods (maximum parsimony, maximum likelihood, Bayesian analysis of posterior probabilities). The results indicated that the *Phaseolus* genus is a monophyletic group that is subdivided into two main lineages: a first clade formed by *P. pluriflorus*, *P. esperanzae*, *P. pedicellatus*, *P. microcarpus*, *P. glabellus*, *P. oligospermus*, *P. gladiolatus*, *P. zimapanensis*, and *P. albiviola*; and a second clade that includes *P. filiformis*, *P. acutifolius*, *P. vulgaris*, *P. coccineus*, *P. macvaughii*, *P. leptostachyus*, *P. lunatus*, *P. maculatus*, *P. maculatifolius*, and *P. rotundatus*. The topology of the subclades was in general agreement with the topology for *Phaseolus* recognized to date. Of the species not previously studied, *P. albiviola* belongs to the *Pedicellatus* group according to its morphology, but here it was located at *Tuerckheimii* group; *P. maculatifolius* and *P. rotundatus* were included in the *Polystachios* group. The ancestral clade of the *Phaseolus* species showed an age of 4.95 M.a. and the diversification of the two main clades exhibited similar age (3.8 M.a). The divergence between *P. albiviola* and *P. zimapanensis* was 0.07 M.a. while between *P. rotundatus* and *P. maculatifolius* it was 0.31 M.a.

Key words: Chloroplast DNA sequencing, phylogenetic relationships, germplasm collection, wild beans.

INTRODUCCIÓN

El género *Phaseolus* es originario de América y pertenece a la familia Leguminosae (Fabaceae), sub-familia Papilionoideae y tribu Phaseoleae. El género *Phaseolus* es monofilético y comprende 81 especies y, alrededor de 30 taxa infra específicos, conforman ocho grupos filogenéticos dentro de dos clados (Debouck, 2021; Delgado-Salinas *et al.*, 2006; Dohle *et al.*, 2019; Freytag & Debouck, 2002; Ramírez-Villegas *et al.*, 2010). Cinco especies se han domesticado: *Phaseolus vulgaris* L., *P. lunatus* L., *P. coccineus* L., *P. acutifolius* A. Gray y *P. polyanthus* Greenman [sin. *P. dumosus*] y dicho proceso ocurrió en distintos eventos prehistóricos y en diversas áreas geográficas de América (Hernández-López *et al.*, 2013).

En el territorio mexicano las especies endémicas del género *Phaseolus* representan un recurso genético importante. De las especies descritas (Debouck, 2021; Freytag & Debouck, 2002) al menos 31 son endémicas de México, lo que lo convierte en el país con la mayor biodiversidad del género (Debouck, 2021). Sin embargo, la mayor parte de los estudios relacionados con *Phaseolus*, así como las colecciones de recursos fitogenéticos del mismo se han centrado principalmente en *P. vulgaris* y, en menor medida, en el resto de las especies domesticadas del género: *P. lunatus*, *P. coccineus*, *P. acutifolius* y *P. polyanthus* (Dohle *et al.*, 2019).

El marcado interés en *P. vulgaris* se entiende si consideramos que el frijol común, por su alto valor nutricional y otras cualidades, es una de las leguminosas de mayor cultivo, distribución y consumo en México y otros países de Latinoamérica y África, principalmente. A pesar de que se le atribuye una importancia creciente al estudio de las especies silvestres como reservorio potencial de rasgos y fenotipos valiosos con fines de mejoramiento genético (Acosta-Gallegos *et al.*, 2007), existen pocos estudios sobre la genética de las especies silvestres de *Phaseolus*.

El estudio de 70 especies de *Phaseolus* con base en ITS/5.8 S de DNA y los loci *trnK* y *matK* del cpDNA indicó que *Phaseolus* es un género monofilético con dos clados principales que luego se ramifican en ocho clados con todas las especies excepto cinco ‘enigmáticas’ (*P. glabellus*, *P. macrolepis*, *P. microcarpus*, *P. oaxacanus* y *P. talamancensis*) o ‘incertae sedis’. Los ocho clados muestran rasgos morfológicos, ecológicos y biogeográficos distintivos (Delgado-Salinas *et al.*, 2006). La edad del clado troncal de *Phaseolus* es de 6 a 8 millones de años y la diversificación de los ocho clados ocurrió hace 1 - 2 millones de años, después que cesó la actividad tectónica en la Cordillera Volcánica Trans mexicana (Alva-Valdivia *et al.*, 2000). Entre los ocho clados de *Phaseolus*, el grupo más ancestral es *vulgaris* con cerca de cuatro millones de años de antigüedad, mientras que el más derivado incluye a *filiformis*, *pedicellatus* y *polystachios* con \approx 1 millón de años (Delgado-Salinas *et al.*, 2006). Por su parte, Servin y Márquez-Ortiz (2007) identificaron nueve subclados al analizar la filogenia de diversas especies de *Phaseolus*, y coincidieron en señalar cuatro especies sin resolverse (*P. glabellus*, *P. macrolepis*, *P. microcarpus* y *P. oaxacanus*) como lo reportaron Delgado-Salinas *et al.* (2006).

El conocimiento detallado de las relaciones filogenéticas de *Phaseolus* es esencial en el entendimiento del origen y diversificación genética (Smýkal *et al.*, 2015), así como para su conservación, aprovechamiento y su mejoramiento genético (López Soto *et al.*, 2005; Meza-Vázquez *et al.*, 2015). Este trabajo se llevó a cabo para analizar las relaciones filogenéticas de especies de *Phaseolus* de México con base en marcadores moleculares de ADN cloroplástico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y Extracción del ADN

Se trabajó con semillas de 34 accesiones representando 19 especies de *Phaseolus*, incluyendo dos subespecies de *P. coccineus*, colectadas en diferentes sitios de México (Tabla 1). Las especies en estudio, salvo *P. albiviolaceus*, *P. maculatifolius* y *P. rotundatus*, se incluyeron en la filogenia disponible del género (Delgado-Salinas *et al.*, 2006), para poder comparar mejor el trabajo realizado aquí. Las semillas de cada accesión se escarificaron con un bisturí para romper la testa y facilitar la germinación (Lépiz-Ildefonso *et al.*, 2010), luego se sembraron en una mezcla de tierra de campo, turba y perlita (1:1:1 peso: peso: peso) (Lépiz-Ildefonso *et al.*, 2010). Las muestras de tejido se tomaron de trifolios jóvenes completamente expandidos y los mismos se lavaron con agua estéril. Las muestras se conservaron a -70° C hasta su uso. Para el aislamiento del ADN genómico se utilizaron diferentes métodos: Wizard Genomic de Promega® (Madison, EUA); DNeasy Plant Mini Kit de Qiagen® (Hilden, Alemania) y CTAB (Cota-Sánchez *et al.*, 2006), recomendado para especímenes de herbario y tejidos mucilaginosos. Las muestras obtenidas se re-suspendieron en TE a 0.1X de concentración y se almacenaron a -20° C hasta su uso y la visualización y cuantificación se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, utilizando como referencia al DNA del fago λ (Invitrogen) y el sistema ‘Molecular Imager Gel Doc XR’ marca Bio-Rad® (Hercules, EUA). Las muestras de DNA se diluyeron a una concentración de $20 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$.

Tabla 1. Accesiones y especies del género *Phaseolus* seleccionadas para realizar el análisis filogenético.

Especie	Origen	Latitud Norte	Longitud Oeste	Altitud (m s.n.m.)
<i>P. acutifolius</i>	Morelos	19.01	98.99	2090
<i>P. acutifolius</i>	Chihuahua	27.01	107.74	591
<i>P. acutifolius</i>	Durango	24.0287	104.69	1890
<i>P. coccineus griseus</i>	Jalisco	20.55	102.51	1902
<i>P. coccineus striatus</i>			Desconocido	
<i>P. esperanzae</i> Seaton	Puebla	18.86	97.37	2470
<i>P. filiformis</i>	Baja California Sur	24.96	111.88	17
<i>P. filiformis</i>	Durango	24.86	103.69	1648
<i>P. filiformis</i>	Coahuila	25.52	103.46	1131
<i>P. glabellus</i>	Tamaulipas	23.03	99.15	751
<i>P. glabellus</i>	San Luis Potosí	21.26	98.79	1153
<i>P. leptostachyus</i> Benth	Veracruz	20.54	98.48	2152
<i>P. lunatus silvestre</i>	Campeche	18.66	90.37	131
<i>P. maculatus</i>	Coahuila	26.99	102.06	726
<i>P. maculatus</i>	Puebla	19.18	97.99	3259
<i>P. microcarpus</i>	Durango	25.18	104.56	1350
<i>P. pedicellatus</i> Benth	Hidalgo	20.16	98.20	2208
<i>P. pluriflorus</i>	Veracruz	20.54	98.48	2152
<i>P. zimapanensis</i> Delgado	Tamaulipas	23.61	99.22	620
<i>P. zimapanensis</i> Delgado	Hidalgo	20.74	99.38	2478
<i>P. macvaughii</i>	Guerrero	17.64	101.55	25
<i>P. vulgaris</i>	Morelos	18.73	99.34	980
<i>P. vulgaris</i>	Jalisco	20.09	103.86	1700
<i>P. oligospermus</i> Piper	Chiapas	16.83	93.09	1175
<i>P. gladiolatus</i> Freytag y Debouck	San Luis Potosí	22.67	100.42	2100
<i>P. maculatifolius</i> Freytag y Debouck	Nuevo León	23.97	99.77	1960
<i>P. albiviola</i> Freytag y Debouck	Tamaulipas	22.60	99.03	900
<i>P. leptostachyus</i> Benth	Jalisco	19.68	103.60	2200
<i>P. zimapanensis</i> Delgado	Hidalgo	20.74	99.38	1800
<i>P. lunatus silvestre</i>	Veracruz	20.45	97.38	149
<i>P. rotundatus</i> Freytag y Debouck	Oaxaca	17.46	97.26	2140
<i>P. lunatus silvestre</i>	Tamaulipas	22.40	97.93	20
<i>P. rotundatus</i> Freytag & Debouck	Jalisco	20.87	102.79	1990
<i>P. glabellus</i> Piper	Veracruz	19.56	96.93	1500

Análisis de ADN cloroplástico

La selección de las regiones de ADN cloroplástico a amplificar por PCR se basó en Chacón *et al.* (2007) quienes exploraron diez regiones no codificantes de ADN de cloroplasto (ADNc) incluyendo varios espaciadores inter génicos e intrones principalmente de la región grande de copia única (Tabla 2). Los oligonucleótidos se diluyeron a 10 μ M en TE 1X. Los ensayos de PCR se llevaron a cabo en un termociclador Bio-Rad iCycler de 96 pocillos para tubos Eppendorf de 0.2 mL utilizando la siguiente mezcla de reacción: 1.0 μ L de DNA genómico (20 ng), 2.0 μ L de cada iniciador ('Sentido' y 'Anti-sentido') 0.5 μ M, 0.8 μ L de cada deoxinucleótido (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) 0.2 mM, 0.3 μ L de *Taq* DNA polimerasa (1.5 U), 8.0 μ L de la solución amortiguadora, 3.2 μ L de MgCl 2 mM y agua Milli-Q para un volumen final de 40 μ L. Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: 1 ciclo inicial de 94 °C por 1 min; 30 ciclos de tres pasos incluyendo desnaturalización a 94 °C por 1 min, acoplamiento a 52 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 2 min; y un ciclo de extensión final de 72 °C por 10 min. Para la amplificación del intrón *rpl16* la temperatura de extensión se cambió a 65 °C y para el espaciador *rps14-psaB* la concentración de los dNTPs se optimizó a 0.05 mM,

mientras que el número de ciclos de PCR se aumentó de 30 a 45. La purificación de los productos de DNA amplificados se realizó utilizando dos protocolos. Los productos menores a 1000 pb se purificaron con el estuche comercial Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System de Promega® (Madison, EUA). Para el caso de los productos amplificados mayores a 1000 pb se utilizó el protocolo de purificación del estuche comercial ExoSAP-IT® (Cleveland, EUA). Las muestras con DNA obtenidas con ambos protocolos se almacenaron a -20 °C y su cuantificación se llevó a cabo con el protocolo para cuantificar DNA genómico.

Tabla 2. Regiones e iniciadores para amplificación por PCR (Chacón *et al.*, 2005).

Región de cpDNA	Iniciadores (5' - 3') para PCR	Sentido	Temperatura de hibridación (°C)	Tamaño amplificado (bp)	Referencia
Espaciador <i>trnT-trnL</i>	CAT TAC AAA TGC GAT GCT CT	Sentido	52	800	Taberlet <i>et al.</i> (1991)
	TCT ACC GAT TTC GCC ATA TC	Anti-sentido			
Intrón <i>trnL</i>	CGA AAT CGG TAG ACG CTA CG	Sentido	52	630	Taberlet <i>et al.</i> (1991)
	GGG GAT AGA GGG ACT TGA AC	Anti-sentido			
Espaciador <i>trnL-trnF</i>	GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC	Sentido	52	530	Taberlet <i>et al.</i> (1991)
	ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG	Anti-sentido			
Intrón <i>rpl16</i>	CCA ACA CAT ACA TTC GGA TT	Sentido	52	1210	Jordan <i>et al.</i> (1996) Rediseñado por Chacón <i>et al.</i> (2005)
	GCT CCT CGC GAA TGA AGT AA	Anti-sentido			
Espaciador <i>rpoC1-rpoC2</i>	GAA GTT CAC TAT GAA TCT	Sentido	52	1700	Asmussen y Liston (1996)
	TTN GGT ACC TAG ACA TCG GTA CTC CAG TGC	Anti-sentido			
Espaciador <i>atpβ-rbcL</i>	GAA GTA GTA GGA TTG ATT CTC	Sentido	50	950	Manen <i>et al.</i> (1994)
	TAC AGT TGT CCA TGT ACC AG	Anti-sentido			
Espaciador <i>rps14-psaB</i>	CAT TTC ACG AAG TAT GTG	Sentido	55	600	Fofana <i>et al.</i> (1997)
	TCC G TGG CGT GGA TAT TGG CAG GA	Anti-sentido			
Región <i>petA-psbE</i>	GCA TCT GTT ATT TTG GCA CA	Sentido	53	1200	Fofana <i>et al.</i> (1997)
	TAC CTT CCC TAT TCA TTG CG	Anti-sentido			
Espaciador <i>accD-psaI</i>	GGA AGT TTG AGC TTT ATG	Sentido	55	700	Small <i>et al.</i> (1998)
	CAA ATG G AGA AGC CAT TGC AAT TGC CGG AAA	Anti-sentido			
Intrón <i>ndhA a</i>	GGW CTT CTY ATG KCR GGA	Sentido	42	1500	Small <i>et al.</i> (1998)
	TAT RGM TC CTG YGC TTC MAC TAT ATC AAC TGT AC	Anti-sentido			

Análisis de secuencias

La secuenciación de los productos de la amplificación por PCR se realizó mediante electroforesis capilar por el método dideoxi (Sanger *et al.*, 1977). Aquí se utilizaron los terminadores BigDye® v3.1 en un secuenciador Applied Biosystems modelo 3730xl. Los productos de amplificación (10 µL a 2.0 µM) se secuenciaron a una concentración de 30 a 50 ng µL⁻¹. Las secuencias de los productos de PCR se procesaron en formato fasta, seq y abi. Para el ensamble del par de secuencias generadas para cada producto de PCR se utilizó el programa Sequencher 4.1.4 de Gene Codes (Ann Arbor, EUA). La integración de los ‘contigs’ se facilitó al usar como referencia la secuencia del genoma cloroplástico de *P. vulgaris* variedad Negro Jamapa (Guo *et al.*, 2007). La edición de las secuencias se realizó con criterios conservadores como el recorte de los extremos de las secuencias que mostraban nivel de calidad en la lectura menor a una puntuación de QV20 en la escala del programa Sequence Scanner 1.0 (Applied Biosystems; Foster City, EUA). En los casos donde hubo discrepancias entre un par de secuencias complementario sólo se consideraron como válidas aquellas bases donde al menos uno de los trazos de los electroferogramas no admitía ambigüedad y podía corroborarse con la secuencia de referencia. Para polarizar la filogenia se incluyó como grupo externo a *Vigna radiata*, cuyo genoma completo fue publicado previamente (Tangphatsornruang *et al.*, 2010). La monofilia de *Phaseolus* se determinó previamente (Delgado-Salinas *et al.*, 2006).

Análisis filogenético

El alineamiento de las secuencias se llevó a cabo con el método MUSCLE en el programa MEGA (Edgar, 2004) en 16 iteraciones para cada región. El alineamiento múltiple de las regiones cloroplásticas en matrices individuales se concatenó directamente taxón por taxón (Kupczok *et al.*, 2010). Para determinar los parámetros óptimos para la reconstrucción filogenética de las especies estudiadas primero se realizó un análisis de verosimilitud con el programa jModelTest (Schwarz, 1978) aplicando dos criterios informáticos: el AIC o ‘Akaike Information Criteria’ (Akaike, 1998) y el BIC o ‘Bayesian Information Criteria’. Para la reconstrucción filogenética se utilizaron tres métodos: máxima parsimonia, máxima verosimilitud y análisis Bayesiano de probabilidades posteriores. En el primer caso se generó un árbol filogenético de expansión mínima por el método de parsimonia con ‘DNAPARS’ del paquete PHYLIP v3.52 (Felsenstein, 1993) y el uso del algoritmo NNI (‘nearest neighbor interchange’) a través de la interfase bioinformática del programa Seaview (Gouy *et al.*, 2010). Para el análisis de máxima verosimilitud se utilizó el algoritmo de Guindon & Gascuel (2003) con el programa Seaview. El análisis Bayesiano de probabilidad posterior se realizó con el programa MrBayes versión 3.1.1 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) en la interfase del programa Geneious versión 5.1 (Drummond *et al.*, 2011). En los dos últimos análisis se utilizó el modelo de sustitución nucleotídica GTR (‘General Time Reversible’) y la distribución *gamma* con cuatro categorías de variación entre sitios recomendadas por el programa jModelTest; el modelo seleccionado generó la menor puntuación BIC (Posada, 2008).

Estimación de tiempos de divergencia

Con el programa BEAST (‘Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees’) versión 2.3.1 se estimaron la tasa de evolución y los tiempos de divergencia de las ramas en los árboles generados. Con BEAUti (‘Bayesian Evolutionary Analysis Utility’) versión 2.3.1 se convirtieron los alineamientos de secuencias del formato NEXUS al formato XML, propio de BEAST. El modelo de evolución nucleotídica fue el utilizado previamente con jModelTest (Posada, 2008) y que dio el mejor ajuste para el tipo de datos, GTR con una distribución *gamma* con cuatro categorías y auto estimación de la tasa de sustitución. Luego, se utilizó un Reloj Molecular Relajado (Relaxed Clock Log Normal) donde las tasas de sustitución pueden variar de manera continua a lo largo de cada rama. En el parámetro Árbol (Tree) de la pestaña de probabilidades *a priori* (Priors) se seleccionó el Modelo Yule, en el cual la tasa de especiación es constante a través del tiempo. Para inferir tiempos absolutos de divergencia se introdujo un punto de calibración como distribución de probabilidad *a priori* en el nodo del ancestro común más reciente entre *P. coccineus* y *V. radiata*, con un valor medio de 8.0 millones de años y un valor *sigma* de 0.5. Dichos valores se obtuvieron de análisis evolutivos

de filogenias de plástidos pertenecientes a la familia Leguminosae (Fabaceae) donde se utilizaron registros fósiles de la era Terciaria como marco de referencia temporal absoluta (Lavin *et al.*, 2005). Con dichos parámetros se realizaron dos corridas independientes y en cada una se generaron 10'000,000 iteraciones MCMC, con un descarte del 20% de las mismas como "burn-in". Los resultados de BEAST se analizaron con el programa Tracer v1.6 para corroborar el tamaño efectivo de la muestra (ESS) y valorar que los productos posteriores obtenidos fueran superiores a 200. El total de árboles resultantes se combinaron en un solo archivo mediante el programa LogCombiner v2.3.1, de donde se seleccionó el árbol con la credibilidad máxima de 95% usando el programa TreeAnnotator versión 2.3.1.

RESULTADOS

La evaluación preliminar de diez regiones de ADN cloroplástico resultó en la selección de cinco: espaciador *trnT-trnL*, espaciador *trnL-trnF*, intrón *rpl16*, espaciador *rpoC1-rpoC2* y espaciador *rps14-psaB* (Tabla 2). La longitud en pares de bases y el número de sitios idénticos en cada matriz de las cinco regiones cloroplásticas indicó porcentajes de identidad desde 90.8 (espaciador *trnT-trnL*) hasta 98.9% (*rpoC1-rpoC2*); con un promedio del 95.2%. La variación observada incluyó tanto polimorfismos puntuales como inserciones y supresiones. La matriz combinada de las cinco regiones fue de 35 x 4475, con 310 sitios informativos (Tabla 3). El análisis de conglomerados por los tres métodos utilizados (máxima parsimonia, máxima verosimilitud y enfoque Bayesiano) produjo árboles filogenéticos con topologías similares y conformados por tres clados. El primero corresponde al grupo externo (*V. radiata*) y que polariza la filogenia de *Phaseolus* spp. En el segundo clado se agruparon nueve especies: *P. pluriflorus*, *P. esperanzae* (grupo Pauciflorus), *P. pedicellatus* (grupo Pedicellatus) (subclado 2a), *P. microcarpus*, *P. glabellus* (grupo Incertae sedis), *P. oligospermus*, *P. gladiolatus*, *P. zimapanensis* y *P. albiviolaecus* (grupo Tuerckheimii) (subclado 2b), todas especies silvestres. En el tercer clado se incluyen las diez especies restantes: *P. filiformis* (grupo Filiformis), *P. acutifolius*, *P. coccineus griseus*, *P. coccineus striatus*, *P. vulgaris* (grupo Vulgaris) (suclado 3a), *P. macvaughii*, *P. leptostachyus* (grupo Leptostachyus), *P. lunatus* (grupo Lunatus), *P. maculatus*, *P. rotundatus* y *P. maculatifolius* (grupo Polystachios) (subclado 3b); aquí se incluyen las especies domesticadas de *Phaseolus* representadas (*P. acutifolius*, *P. coccineus*, *P. vulgaris*, *P. lunatus*) (Figs. 1 a 3).

Tabla 3. Estadísticos descriptivos de los alineamientos múltiples obtenidos con cinco regiones cloroplásticas secuenciadas en 19 especies de *Phaseolus*. La última fila representa los valores de la concatenación de todas las regiones. En estos datos no se incluyó la secuencia testigo (*V. radiata*).

Región	Longitud (pb)	No. Sitios Idénticos	Sitios Idénticos (%)	Identidad por pares (%)	Contenido de GC (%)
<i>trnT-trnL</i>	849	572	67.37	90.8	17.9
<i>trnL-trnF</i>	552	401	72.64	94.1	25.0
<i>rpl16</i>	822	632	76.89	93.7	22.7
<i>rpoC1-rpoC2</i>	1643	1548	94.22	98.9	36.4
<i>rps14-psaB</i>	609	567	93.10	98.3	37.6
Súper matriz	4475	3720	83.13	95.2	29.1

pb = pares de bases, GC = Guanina-Citosina

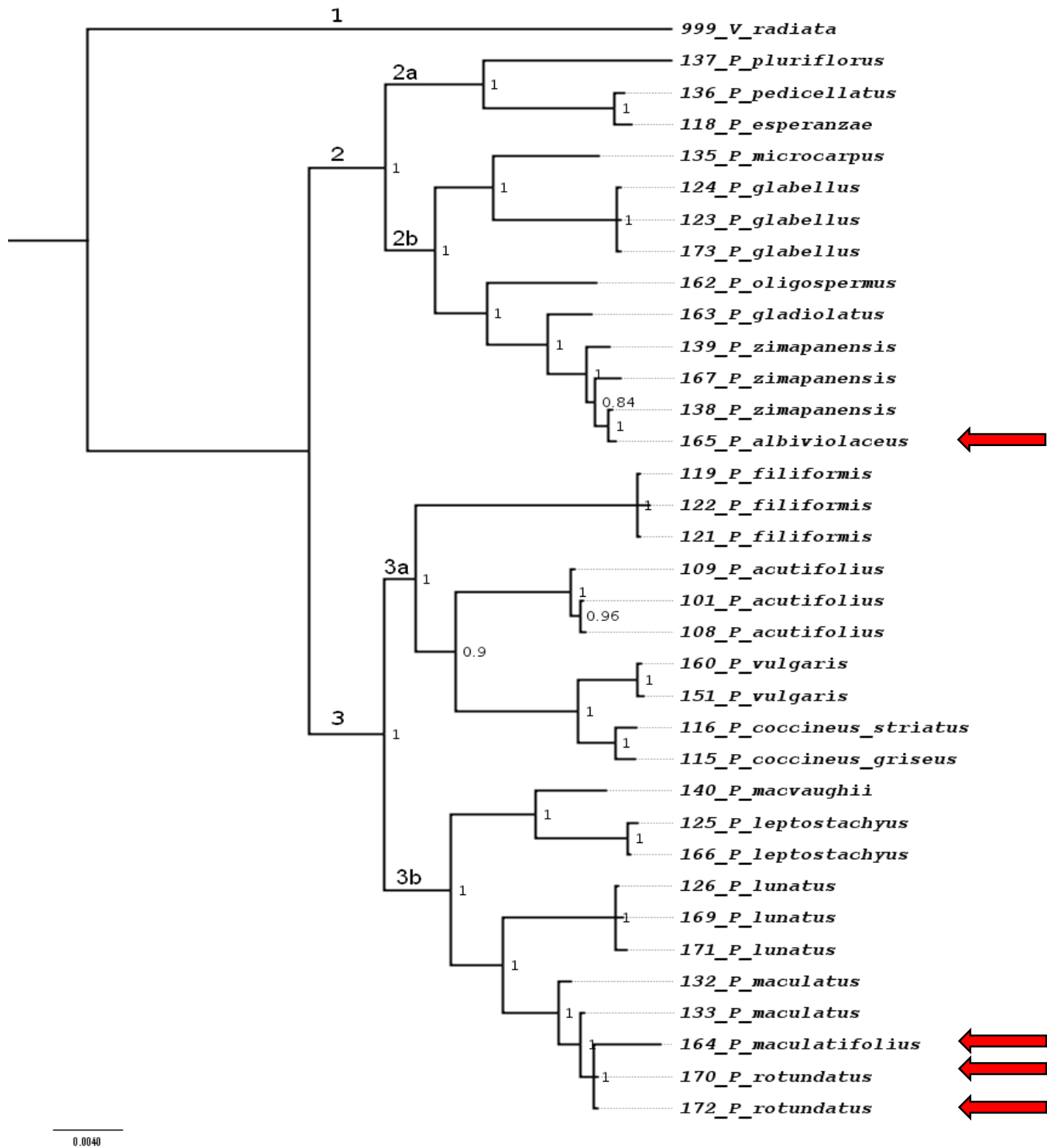


Fig. 3. Dendrograma Bayesiano de productos posteriores de 19 especies de *Phaseolus* de México. La probabilidad posterior se muestra en cada nodo donde 1 = 100%. Las flechas indican las especies no analizadas anteriormente.

Los tiempos de divergencia estimados entre especies van desde 7.97 M.a., que corresponden al nodo de calibración donde se unen las especies de *Phaseolus* con el grupo externo *Vigna*, hasta los 0.31 M.a. en el caso del ancestro en común más reciente de *P. rotundatus* y *P. maculatifolius*. Como es de esperarse, los nodos intraespecies muestran tiempos de divergencia aún menores. El clado ancestral de todas las especies de *Phaseolus* incluidas en este estudio aparece con una edad de 4.95 M.a. La diversificación de los dos clados principales de *Phaseolus*, muestra esencialmente la misma edad de 3.8 M.a. El subclado 2a (*P. pluriflorus*, *P. esperanzae*, *P. pedicellatus*) muestra una edad de 2.39 M.a., mientras que el subclado 2b (*P. microcarpus*, *P. glabellus*, *P. oligospermus*, *P. gladiolatus*, *P. zimapanensis* y *P. albiviolaceus*) tiene 2.87 M.a. El subclado 3a (*P. filiformis*, *P. acutifolius*, *P. coccineus striatus*, *P. coccineus griseus* y *P. vulgaris*) muestra una edad de 3.26 M.a. y el subclado 3b (*P. macvaughii*, *P. leptostachyus*, *P. lunatus*, *P. maculatus*, *P. maculatifolius* y *P. rotundatus*) tiene 2.68 M.a. La divergencia entre *P. albiviolaceus* y *P. zimapanensis* fue de 0.07 M.a.; mientras que entre *P. rotundatus* y *P. maculatifolius* fue de 0.31 M.a. La divergencia genética entre *P. vulgaris* y su más cercana rama monofilética, *P. coccineus*, ocurrió hace aproximadamente 0.91 M.a. (Fig. 4).

DISCUSIÓN

En este trabajo se ratificó que el género *Phaseolus* es un grupo monofilético que se subdivide en dos linajes principales: uno incluye a las especies *P. pluriflorus*, *P. esperanzae*, *P. pedicellatus*, *P. microcarpus*, *P. glabellus*, *P. oligospermus*, *P. gladiolatus*, *P. zimapanensis* y *P. albiviolaceus* y otro a las especies *P. filiformis*, *P. acutifolius*, *P. vulgaris*, *P. coccineus*, *P. macvaughii*, *P. leptostachyus*, *P. lunatus*, *P. maculatus*, *P. maculatifolius* y *P. rotundatus*. La topología de los subclados estuvo de acuerdo, en general, con la topología para *Phaseolus* reconocida a la fecha.

Delgado-Salinas *et al.* (2006) determinaron la filogenia de 70 especies de *Phaseolus* mientras que aquí se analizaron 19 especies y dos subespecies de *Phaseolus* colectadas durante 2009 y 2010, Delgado-Salinas *et al.* (1999) combinaron marcadores moleculares de origen nuclear (ITS) así como de origen cloroplástico; aquí se usaron marcadores cloroplásticos. Nuestros resultados coinciden con Delgado-Salinas *et al.* (2006) en cuanto a la conformación de los clados y subclados; así como en los valores de soporte, cuando se consideran datos de loci cloroplásticos. En nuestro caso, los tres métodos de análisis estadístico produjeron árboles filogenéticos con topologías similares y con altos niveles de robustez estadística. Con máxima parsimonia, se observa el 85% de los nodos con valores de soporte mayores al 90%; mientras que con máxima verosimilitud y enfoque Bayesiano los valores fueron del 81 y 96%, respectivamente.

De las 19 especies aquí incluidas hay tres que no se incluyen en estudios previos de taxonomía de *Phaseolus* basada en caracteres moleculares: *P. albiviolaceus*, *P. maculatifolius* y *P. rotundatus*. La filogenia derivada de las cinco regiones cloroplásticas concuerda con el agrupamiento global de *Phaseolus* spp. de Delgado-Salinas *et al.* (1999), indicando que el género es monofilético y que se ramifica en dos grandes linajes o clados. Delgado-Salinas *et al.*, (1999) reportan que los dos linajes principales se ramifican a su vez en ocho subclados específicos con valores de soporte mayores a 95%; mientras que Servin L E y Márquez-Ortiz Y. (2007) reportan nueve sub-clados con algunas especies que no lograron resolverse.

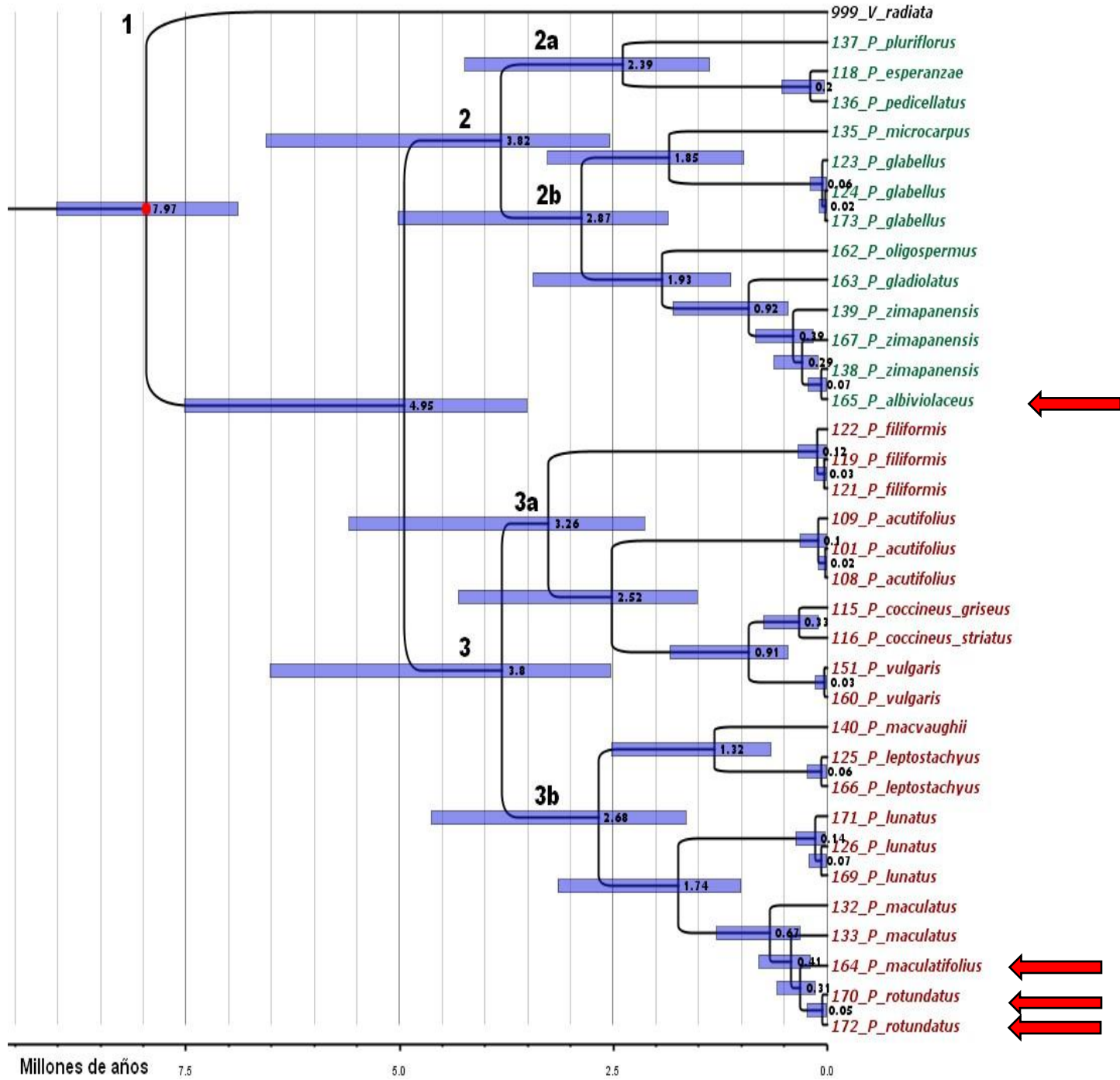


Fig. 4. Tiempos de divergencia entre especies de *Phaseolus* de México con base en análisis Bayesiano. El punto rojo indica la calibración cronológica *a priori* de ocho millones de años como restricción mínima. Las barras moradas sobre cada nodo representan los intervalos de credibilidad de 95% que incluyen su edad. Las flechas indican las especies no analizadas anteriormente.

El primer clado principal incluye los grupos Pauciflorus, Pedicellatus y Tuerckheimii; el segundo a Filiformis, Vulgaris, Leptostachyus, Lunatus y Polystachios. Las especies aquí incluidas también se agruparon dentro de los cladogramas y sub-cladogramas descritos por Delgado-Salinas *et al.* (2006). *P. pluriflorus* aparece como un taxón terminal independiente, porque es la única especie representada del grupo Pauciflorus. Sin embargo, el taxón de *P. pluriflorus* se asocia estrechamente con el nodo inter-específico que une a los grupos Pauciflorus y Pedicellatus (Delgado-Salinas *et al.*, 1999). En este trabajo, tanto *P. maculatifolius* como *P. rotundatus* aparecen junto con *P. maculatus* en el grupo Polystachios dentro del segundo clado principal, como lo indicó la clasificación morfológica de Freytag & Debouck (2002). Además, el grupo que aparece no resuelto en la filogenia de Delgado-Salinas *et al.* (2006) e *Incertae sedis* en este estudio se presenta invariablemente como un sub-clado distinto. El primer clado incluyó especies silvestres exclusivamente, mientras que el segundo clado incluyó a las especies domesticadas de *Phaseolus* (Freytag & Debouck, 2002; Delgado-Salinas *et al.*, 2006; Debouck, 2021) se observa una distribución parcialmente diferenciada entre cladogramas de las especies de acuerdo con su adaptación climática, tanto a climas semicálidos o templados de México (Cerdá-Hurtado *et al.*, 2018).

La especie *P. rotundatus*, endémica del occidente de México, se considera en peligro de extinción y las pocas poblaciones conocidas a la fecha se localizan en áreas naturales no protegidas como Tepatitlán de Morelos, Jalisco (Salcedo *et al.*, 2009). La colecta de los especímenes de esta y otras especies fue difícil debido principalmente a la expansión creciente de los asentamientos humanos y la consiguiente afectación de los hábitats naturales de las especies silvestres de *Phaseolus* (Acosta-Díaz *et al.*, 2015; Baez-González *et al.*, 2019). Las especies de *Phaseolus* agrupadas en el segundo clado de los árboles filogenéticos corresponden, en general, a sitios geográficos de recolección ubicados hacia el Este de México.

La especie *P. albiviola* aparece en el grupo Tuerckheimii y no en Pedicellatus, como se diagnosticó morfológicamente (Freytag & Debouck, 2002). En este estudio se ubica a *P. glabellus* Piper en el clado Incerta Sedis, lo mismo que Delgado-Salinas *et al.* (2006) y fuera de la sección *Coccinei* (Freytag & Debouck, 2002) fuera del grupo Pedicellatus, en donde alguna vez se incluyó con base en su morfología por Delgado-Salinas *et al.* (1999).

El clado ancestral de las especies de *Phaseolus* estudiadas mostró una edad de 4.95 M.a. y la diversificación de los dos cladogramas principales exhibió edad similar (3.8 M.a.), la edad menor (0.31 M.a.) se observó en el ancestro en común de *P. rotundatus* y *P. maculatifolius*. El subclado 2a (*P. pluriflorus*, *P. esperanzae*, *P. pedicellatus*) tuvo una edad de 2.39 M.a. y el subclado 2b (*P. microcarpus*, *P. glabellus*, *P. oligospermus*, *P. gladiolatus*, *P. zimapanensis* y *P. albiviola*) tiene 2.87 M.a. El subclado 3a (*P. filiformis*, *P. acutifolius*, *P. coccineus striatus*, *P. coccineus griseus* y *P. vulgaris*) muestra una edad de 3.26 M.a. y el subclado 3b (*P. macvaughii*, *P. leptostachyus*, *P. lunatus*, *P. maculatus*, *P. maculatifolius* y *P. rotundatus*) tiene 2.68 M.a. Las edades aquí calculadas son similares a las descritas previamente (Delgado-Salinas *et al.*, 2006). Respecto a las especies no estudiadas antes, se determinó que la divergencia entre *P. albiviola* y *P. zimapanensis* fue de 0.07 M.a.; mientras que entre *P. rotundatus* y *P. maculatifolius* fue de 0.31 M.a.

Estudios a futuro deben contemplar las especies ya conocidas y las que se identifiquen como nuevas a partir de colectas recientes y amplias de germoplasma (Debouck, 2021), de modo que se puedan resolver las inconsistencias e incertidumbres con respecto a la clasificación filogenética de las especies del género *Phaseolus*, considerando las tasas evolutivas rápidas en el género (Delgado-Salinas *et al.*, 2006).

CONCLUSIONES

El género *Phaseolus* es un grupo monofilético que se subdivide en dos linajes principales: uno incluye *P. pluriflorus*, *P. esperanzae*, *P. pedicellatus*, *P. microcarpus*, *P. glabellus*, *P. oligospermus*, *P. gladiolatus*, *P. zimapanensis* y *P. albiviolaecus*; y otro a *P. filiformis*, *P. acutifolius*, *P. vulgaris*, *P. coccineus striatus*, *P. coccineus griseus*, *P. macvaughii*, *P. leptostachyus*, *P. lunatus*, *P. maculatus*, *P. maculatifolius* y *P. rotundatus*.

La topología de los subclados distales en las filogenias reconstruidas con tres estuvo de acuerdo, en general, con la topología para *Phaseolus* de Delgado-Salinas *et al.* (2006). De las especies no estudiadas previamente se observó que *P. albiviolaecus*, según su morfología, pertenece al grupo *Pedicellatus* pero aquí se ubicó en el grupo *Tuerckheimii*, mientras que *P. maculatifolius* y *P. rotundatus* se incluyeron en el grupo *Polystachios*.

El clado ancestral de las especies de *Phaseolus* mostró una edad de 4.95 M.a. y la diversificación de los dos clados principales exhibió edad similar (3.8 M.a), La divergencia entre *P. albiviolaecus* y *P. zimapanensis* fue de 0.07 M.a. mientras que entre *P. rotundatus* y *P. maculatifolius* fue de 0.31 M.a.

LITERATURA CITADA

- Acosta-Díaz, E., Hernández-Torres, I., Amador-Ramírez, M. D., Padilla-Ramírez, J. S., Zavala-García, F., & Baez-González, A. D. (2015). Collection and characterization of wild species of *Phaseolus* (Fabaceae) in northeastern Mexico for *ex situ* conservation. *Plant Ecology and Evolution*, 148(1), 119–127. <https://doi.org/10.5091/plecevo.2015.1009>
- Acosta-Gallegos, J. A., Kelly, J. D., & Gepts, P. (2007). Prebreeding in Common Bean and Use of Genetic Diversity from Wild Germplasm. *Crop Science*, 47, S-44-S-59. <https://doi.org/10.2135/cropsci2007.04.0008IPBS>
- Akaike, H. (1998). *Information Theory and an Extension of the Maximum Likelihood Principle* (pp. 199–213). https://doi.org/10.1007/978-1-4612-1694-0_15
- Alva-Valdivia, L. M., Goguitchaichvili, A., Ferrari, L., Rosas-Elguera, J., Urrutia-Fucugauchi, J., & Zamorano-Orozco, J. J. (2000). Paleomagnetic data from the Trans-Mexican Volcanic Belt: implications for tectonics and volcanic stratigraphy. *Earth, Planets and Space*, 52(7), 467–478. <https://doi.org/10.1186/BF03351651>
- Baez-González, A. D., Acosta-Díaz, E., Padilla-Ramírez, J. S., Almeйда-León, I. H., & Zavala-García, F. (2019). Conservation status of eleven wild bean (*Phaseolus* spp. Fabaceae) species in northeastern Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(2), 417–429. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i2.1475>
- Cerda-Hurtado, I. M., Mayek-Pérez, N., Hernández-Delgado, S., Muruaga-Martínez, J. S., Reyes-Lara, M. A., Reyes-Valdés, M. H., & González-Prieto, J. M. (2018). Climatic adaptation and ecological descriptors of wild beans from Mexico. *Ecology and Evolution*, 8(13), 6492–6504. <https://doi.org/10.1002/ece3.4106>
- Chacón S., M. I., Pickersgill, B., Debouck, D. G., & Arias, J. S. (2007). Phylogeographic analysis of the chloroplast DNA variation in wild common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in the Americas. *Plant Systematics and Evolution*, 266(3–4), 175–195. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0536-z>
- Cota-Sánchez, J. H., Remarchuk, K., & Ubayasena, K. (2006). Ready-to-use DNA extracted with a CTAB method adapted for herbarium specimens and mucilaginous plant tissue. *Plant Molecular Biology Reporter*, 24(2), 161–167. <https://doi.org/10.1007/BF02914055>
- Debouck, D. G. (2021). *Phaseolus* beans (Leguminosae, Phaseoleae): a checklist and notes on their taxonomy and ecology. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 15(1), 73–111. <https://doi.org/10.17348/jbrit.v15.i1.1052>

- Delgado-Salinas, A., Bibler, R., & Lavin, M. (2006). Phylogeny of the Genus *Phaseolus*; (Leguminosae): A Recent Diversification in an Ancient Landscape. *Systematic Botany*, 31(4), 779–791. <https://doi.org/10.1600/036364406779695960>
- Delgado-Salinas, A., Turley, T., Richman, A., & Lavin, M. (1999). Phylogenetic Analysis of the Cultivated and Wild Species of *Phaseolus* (Fabaceae). *Systematic Botany*, 24(3), 438. <https://doi.org/10.2307/2419699>
- Dohle, S., Berny Mier y Teran, J. C., Egan, A., Kisha, T., & Khoury, C. K. (2019). Wild Beans (*Phaseolus* L.) of North America. In *North American Crop Wild Relatives, Volume 2* (pp. 99–127). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-97121-6_4
- Drummond A J, Ashton B, Buxton S, Cheung M, Cooper A, Duran C, Field M, Heled J, Kearse M, Markowitz S, Moir R, Stones-Havas S, Sturrock S, Thierer T, & Wilson A. (2011). *Geneious* (5.4). University of Auckland.
- Edgar, R. C. (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Felsenstein J. (1993). *Phylogeny Inference Package (PHYLIP)* (3.5). University of Washington.
- Freytag, G. F., & Debouck, D. G. (2002). *Taxonomy, distribution, and ecology of the genus Phaseolus (Leguminosae-Papilionoideae) in North America, Mexico and Central America*. BRIT. <https://hdl.handle.net/10568/54291>
- Gouy, M., Guindon, S., & Gascuel, O. (2010). SeaView Version 4: A Multiplatform Graphical User Interface for Sequence Alignment and Phylogenetic Tree Building. *Molecular Biology and Evolution*, 27(2), 221–224. <https://doi.org/10.1093/molbev/msp259>
- Guindon, S., & Gascuel, O. (2003). A Simple, Fast, and Accurate Algorithm to Estimate Large Phylogenies by Maximum Likelihood. *Systematic Biology*, 52(5), 696–704. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>
- Guo, X., Castillo-Ramírez, S., González, V., Bustos, P., Luis Fernández-Vázquez, J., Santamaría, R., Arellano, J., Cevallos, M. A., & Dávila, G. (2007). Rapid evolutionary change of common bean (*Phaseolus vulgaris* L) plastome, and the genomic diversification of legume chloroplasts. *BMC Genomics*, 8(1), 228. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-228>
- Hernández-López, V. M., Vargas-Vázquez, Ma. L. P., Muruaga-Martínez, J. S., Hernández-Delgado, S., & Mayek-Pérez, N. (2013). Origen, domesticación y diversificación del frijol común. avances y perspectivas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 36(2), 95. <https://doi.org/10.35196/rfm.2013.2.95>
- Kupczok, A., Schmidt, H. A., & von Haeseler, A. (2010). Accuracy of phylogeny reconstruction methods combining overlapping gene data sets. *Algorithms for Molecular Biology*, 5(1), 37. <https://doi.org/10.1186/1748-7188-5-37>
- Lavin, M., Herendeen, P. S., & Wojciechowski, M. F. (2005). Evolutionary Rates Analysis of Leguminosae Implicates a Rapid Diversification of Lineages during the Tertiary. *Systematic Biology*, 54(4), 575–594. <https://doi.org/10.1080/10635150590947131>
- Lépiz-Ildefonso, R., López-Alcocer, J. J., Sánchez-González, J. J., Santacruz-Ruvalcaba, F., Nuño-Romero, R., & Rodríguez-Guzmán, E. (2010). Características morfológicas de formas cultivadas, silvestres e intermedias de frijol común de hábito trepador. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33(1), 21. <https://doi.org/10.35196/rfm.2010.1.21>
- López Soto J L, Ruiz-Corral J A, Sánchez-González J J, & Lépiz-Ildefonso R. (2005). Adaptación climática de 25 especies de frijol silvestre (*Phaseolus* spp.) en la República Mexicana. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28, 221–230.
- Meza-Vázquez, K. E., Lépiz-Ildefonso, R., López-Alcocer, J. de J., & Morales-Rivera, M. M. (2015). Caracterización morfológica y fenológica de especies silvestres de frijol (*Phaseolus*). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(1), 17. <https://doi.org/10.35196/rfm.2015.1.17>
- Posada, D. (2008). jModelTest: Phylogenetic Model Averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25(7), 1253–1256. <https://doi.org/10.1093/molbev/msn083>

Recibido:
9/julio/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- Ramírez-Villegas, J., Khoury, C., Jarvis, A., Debouck, D. G., & Guarino, L. (2010). A Gap Analysis Methodology for Collecting Crop Genebanks: A Case Study with Phaseolus Beans. *PLoS ONE*, 5(10), e13497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013497>
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Salcedo J C, Lépiz R, Castañeda N A, Ocampo C, & Debouck D G. (2009). Additional observations about *Phaseolus rotundatus* (Fabaceae), an endemic bean species from western Mexico. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 3, 751–762.
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74(12), 5463–5467. <https://doi.org/10.1073/pnas.74.12.5463>
- Schwarz, G. (1978). Estimating the Dimension of a Model. *The Annals of Statistics*, 6(2). <https://doi.org/10.1214/aos/1176344136>
- Servin L E, & Márquez-Ortiz Y. (2007). A new phylogenetic analysis of *Phaseolus* species: patterns of diversification and biogeography. *Phaseomics*, 11.
- Smýkal, P., Coyne, C. J., Ambrose, M. J., Maxted, N., Schaefer, H., Blair, M. W., Berger, J., Greene, S. L., Nelson, M. N., Besharat, N., Vymyslický, T., Toker, C., Saxena, R. K., Rookiwal, M., Pandey, M. K., Hu, J., Li, Y. H., Wang, L. X., Guo, Y., ... Varshney, R. K. (2015). Legume Crops Phylogeny and Genetic Diversity for Science and Breeding. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(1–3), 43–104. <https://doi.org/10.1080/07352689.2014.897904>
- Tangphatsornruang, S., Sangsrakru, D., Chanprasert, J., Uthapaisanwong, P., Yoocha, T., Jomchai, N., & Tragoonrung, S. (2010). The Chloroplast Genome Sequence of Mungbean (*Vigna radiata*) Determined by High-throughput Pyrosequencing: Structural Organization and Phylogenetic Relationships. *DNA Research*, 17(1), 11–22. <https://doi.org/10.1093/dnares/dsp025>

LAS INGRESIONES E ISLAS DE LOS BOSQUES ESPINOSOS DEL CALDENAL DENTRO DE LOS PASTIZALES AUSTRAL PAMPEANOS

THE CALDENAL THORNY FORESTS INGRESSIONS AND ISLANDS INSIDE THE AUSTRAL PAMPEAN GRASSLANDS

Guerrero, E.L.

LAS INGRESIONES E ISLAS DE LOS BOSQUES ESPINOSOS DEL CALDENAL DENTRO DE LOS PASTIZALES AUSTRAL PAMPEANOS.

THE CALDENAL THORNY FORESTS INGRESSIONS AND ISLANDS INSIDE THE AUSTRAL PAMPEAN GRASSLANDS.



LAS INGRESIONES E ISLAS DE LOS BOSQUES ESPINOSOS DEL CALDENAL DENTRO DE LOS PASTIZALES AUSTRAL PAMPEANOS

THE CALDENAL THORNY FORESTS INGRESSIONS AND ISLANDS INSIDE THE AUSTRAL PAMPEAN GRASSLANDS

Guerrero, E.L.

LAS INGRESIONES E ISLAS DE LOS BOSQUES ESPINOSOS DEL CALDENAL DENTRO DE LOS PASTIZALES AUSTRAL PAMPEANOS.

THE CALDENAL THORNY FORESTS INGRESSIONS AND ISLANDS INSIDE THE AUSTRAL PAMPEAN GRASSLANDS.


Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 53-67 Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.4

E.L. Guerrero / eguerrero@fnym.unlp.edu.ar

División Plantas Vasculares, Museo de La Plata,

Facultad de Ciencias Naturales y Museo (Universidad Nacional de La Plata).

Paseo del Bosque s/n, La Plata (1900). CONICET.

RESUMEN: El sector sur del Espinal está conformado por bosques de *Prosopis caldenia*, una especie endémica de este sector que se conoce comúnmente como Caldén. Los bosques de esta especie, o Caldenales, contactan al este con los pastizales Pampeanos, pero el límite entre estas dos unidades varía según los mapas de distintos autores. Se estudió el sector sur de este límite confuso, en donde pequeños parches de vegetación leñosa se intercalan en una matriz de pastizales. Se evaluó si esos parches inmersos en las Pampas deberían ser mapeados como parte del Caldenal. Con ese objetivo se recopiló la bibliografía correspondiente, se examinaron materiales de herbario, bases de datos, cartografía y se realizaron viajes de campo. Se estudió la vegetación de un sitio localizado en Sierra de la Ventana en detalle. Los parches de vegetación espinosa del suroeste de Buenos Aires están conformados por un subconjunto de las plantas que componen los bosques y matorrales del Caldenal. Por lo tanto, se plantea que estas asociaciones deberían ser clasificadas dentro del Caldenal. La importancia de identificar, clasificar y mapear estas islas de vegetación supera el interés académico o de investigación y puede ser útil para la legislación argentina para la conservación de la biodiversidad.

Palabras clave: Caldenal; Pampa; Sierra de la Ventana; fitogeografía; área de endemismo; conservación de la biodiversidad.

ABSTRACT: The southern sector of Espinal is made up of *Prosopis caldenia* forests, an endemic species of this sector that is commonly known as Caldén. The forests of this species, or Caldenales, contact the Pampean grasslands to the east, but the boundary between these two units varies according to the maps of different authors. The southern sector of this confusing boundary was studied, where small patches of woody vegetation are interspersed in a grassland matrix. It was evaluated whether those patches immersed in the Pampas should be mapped as part of the Caldenal. With that aim, the corresponding bibliography was compiled, herbarium materials, databases, cartography were examined, and field trips were made. The vegetation in a site placed in Sierra de la Ventana was studied in detail. The thorny vegetation patches of the southwest of Buenos Aires are made up of a subset of the Caldenal forests and scrublands plants. Therefore, it is proposed that these associations should be classified within the Caldenal. The importance of identifying, classifying, and mapping these vegetation islands surpasses the academic or research interest and may be useful to the Argentinean biodiversity conservation national laws.

Key words: Caldenal; Pampa; Sierra de la Ventana; phytogeography; area of endemism; biodiversity conservation.

INTRODUCCIÓN

El Espinal es conjunto de bosques bajos y espinosos que rodean a los pastizales de las “pampas” de Argentina (Cabrera, 1971, 1976; Matteuchi, 2012). Se extiende desde el sur de Rio Grande do Sul en Brasil hasta el sur de Buenos Aires en Argentina en forma de arco rodeando los pastizales de la provincia biogeográfica Pampeana (Frenguelli, 1941; Cabrera y Willink, 1973). Se define por poseer un estrato arbóreo bajo, de entre tres a quince metros de altura, de leguminosas espinosas, aunque debido a su amplia extensión y el gradiente climático asociado, su composición es muy heterogénea. A pesar de su fisonomía contrastante con respecto a la vegetación circundante, no hay especies endémicas cuyas distribuciones geográficas abarquen la totalidad de la ecorregión, por lo tanto, no es reconocible como área de endemismo (Guerrero, 2018). En los esquemas biogeográficos más recientes, el Espinal se considera un distrito de la provincia Pampeana (Arana *et al.*, 2021).

El sector sur del Espinal ha sido una de las últimas partes de la República Argentina en ser explorada por naturalistas. Los bosques de esta parte del Espinal tienen como dominante a *Prosopis caldenia*. A este árbol se lo conoce como Caldén y al bosque compuesto por la especie se lo llama Caldenal. Los bosques de Caldén abarcan parte de las provincias políticas de San Luis, La Pampa, Córdoba y Buenos Aires (Fig. 1), y desde el punto de vista fitogeográfico se encuentran entre el desierto del Monte y los pastizales Pampeanos (Cabrera, 1971). La mayor parte del territorio del Caldenal fue gobernada hasta finales del siglo XIX por etnias nativas hasta el avance súbito de los colonos al finalizar la “campana del desierto”, una operación militar que tuvo como finalidad expulsar a los pueblos nativos de los territorios que pretendía administrar la entonces joven nación argentina. Las exploraciones geográficas, geológicas, botánicas y zoológicas se sucedieron rápidamente luego de esos sucesos (e.g., Rovereto, 1914; Pereyra, 1937; Monticelli, 1938; Frenguelli y Cabrera, 1939). A pesar de que Argentina posee mapas fitogeográficos desde fines del siglo XIX (Lorentz, 1876; Holmberg, 1898; Küchler, 1981), el desconocimiento de la región central del país era tal que el Caldenal no fue delimitado como unidad fitogeográfica hasta 1941 (Frenguelli, 1941) y el árbol dominante de estos bosques (*Prosopis caldenia*) había sido descrito botánicamente solo dos años antes (Burkart, 1939).

El caldenal se puede definir, de acuerdo con los listados brindados por Frenguelli (1941), Parodi (1945), Cano (1969) y Cabrera (1971), como un bosque abierto o cerrado en el que domina el caldén acompañado de otros árboles y arbustos como *jodina rhombifolia* subsp. *rhombifolia*, *Ximenia americana*, *Prosopis flexuosa*, *P. alpataco*, *P. humilis*, *Prosopidastrum angusticarpum*, *Geoffroea decorticans*, *Caesalpinia gilliesii*, *Senna aphylla*, *Schinus spp.*, *Larrea spp.*, *Cereus aethiops*, *Condalia microphylla*, *Atamisquea emarginata*, *Lycium chilense*, *Chuquiraga erinacea*, *Discaria americana*, *Ephedra triandra*, *E. ochreatea*. El estrato herbáceo, las abras y los pastizales que se extienden entre parches de bosques está compuesto por las especies de gramíneas *Elionurus viridulus*, *Setaria fiebrigii*, *Trichachne penicilligera*, *Trichloris pluriflora*, *T. crinita*, *Bothriochloa springfieldii*, *Sporobolus cryptandrus*, *Poa ligularis*, *P. resinulosa*, *Aristida subulata*, *A. pallens*, *Melica bonariensis*, *M. macra*, *Piptochaetium napostaense*, *P. haeckellii*, *P. lejopodum*, *P. stipoides*, *Jarava ichu*, *Amelichloa ambigua*, *Nassella curamalalensis*, *N. longiglumis*, *N. tenuissima*, *N. tenuis*, *N. pampeana*, *N. filiculmis*, *N. neesiana*, etc. Junto a especies de otras familias como *Hysterionica jasionoides*, *Thelesperma megapotamica*, *Baccharis ulicina*, *B. crispa*, *B. gilliesii*, *Sphaeralcea crispa*, *S. australis*, *Astragalus distinsens*, *Moninna dictyocarpa*, *Junellia hoockeriana*, *Nierembergia aristata*, etc. En zonas con médanos eólicos estables dominan las flechillas *Piptochaetium napostaense*, *Nassella tenuis* y *N. longiglumis*, y donde los médanos se encuentran activos se encuentran *Panicum urvilleanum*, *Sporobolus rigens* y el olivillo *Hyalis argentea* (Cabrera, 1971).



Fig. 1. Ubicación del Caldenal (en marrón; basado en Parodi, 1940; Guñazú, 1943; Morello, 1958; León y Anderson, 1983; Olson *et al.*, 2001; Morello *et al.*, 2012) y de la Sierra de la Ventana (verde).

El límite sur entre el caldenal y los pastizales Pampeanos es muy complejo y dio lugar a que los mapas de este sector sean contrastantes (Fig. 2). Básicamente se pueden diferenciar autores que consideran que el Caldenal alcanza las Sierras de la Ventana, o sistema serrano de Ventania, a los 62° de longitud aproximadamente (*e.g.*, Frenguelli, 1941; Ringuelet, 1955;1961; Rivas Martínez *et al.*, 2011; Fig. 2a-b) y otros que consideran que el límite entre las Pampas y el Caldenal debería mapearse entre Bahía Blanca y la desembocadura del Río Colorado (*e.g.*, Parodi, 1947; Cabrera, 1953; Cabrera & Willink, 1973; Morrone, 2000; Arana *et al.*, 2021; Fig. 2c-d).

La primera delimitación del Caldenal (Frenguelli, 1941) incluía en esta unidad tanto a los bosques puros de *Prosopis caldenia* como a los pastizales aledaños que poseían arbustales con especies leñosas provenientes de estos bosques y algunos caldenes aislados. Según el mapa de Joaquín Frenguelli (1941), esta unidad se extendía por el sureste hasta las Sierras de la Ventana. Lorenzo Parodi (1940) admite la existencia de bosques y matorrales que califica como

“avanzadas del bosque xerófilo de la Pampa Central” hasta las Sierras de Ventania (Parodi, 1940), pero, posteriormente indica que el límite del caldenal debía trasladarse mucho más al sur, hasta la desembocadura del Río Colorado en el Atlántico (Parodi, 1945; 1947). Con posterioridad, el gran botánico Ángel Lulio Cabrera, puso el límite sureste del Caldénal en Bahía Blanca, entre las líneas de los autores anteriores, incluyendo a los parches de arbustales de las cercanías de Ventania en la provincia Pampeana (Cabrera, 1951; 1953). Esta última opinión fue la más aceptada por los autores posteriores (*e.g.*, Morrone, 2000; Olson, 2001; Brown & Pacheco, 2006).

Actualmente se considera que los bosques del caldenal constituyen una parte del distrito del Espinal de la provincia Pampeana en el esquema biogeográfico con enfoque evolutivo (Morrone, 2000; 2014; 2017; Arana *et al.*, 2018; Arana *et al.*, 2021); o un distrito de la provincia del Espinal en la regionalización fitogeográfica (*e.g.*, Cabrera, 1953; 1971; Cabrera & Willink, 1973; Oyarzabal *et al.*, 2018); o un complejo ecosistémico de la ecorregión Espinal (Matteucchi, 2012). Por su parte, los zoogeógrafos utilizan mayormente el esquema de Cabrera & Willink (1976), pero hay esquemas alternativos como el de Raúl Ringuélet (1955; 1961), que considera que las unidades fitogeográficas del centro de Argentina constituyen un solo dominio que abarca el desierto del Monte, las sierras de Córdoba y San Luis (provincia biogeográfica Comechingones, Martínez *et al.*, 2016), el Caldénal y las Sierras de la Ventana.

Las Sierras de la Ventana son uno de los puntos más orientales en donde se pueden encontrar asociaciones de plantas del Espinal austral (Castellanos, 1938; Cabrera, 1940). Estas elevaciones rocosas rompen la monotonía de la planicie Pampeana constituida por rocas friables (loess). Esta característica convierte a la región de Ventania en una verdadera isla en donde se pueden hallar ambientes únicos que han servido de refugio para los numerosos ejemplos que posee de especies con distribuciones disyuntas, relictos biogeográficos y taxones endémicos frente a los cambios ambientales (Ringuélet, 1955; Rapoport, 1968; Frangi & Bottino, 1995; Crisci *et al.*, 2001). En los esquemas biogeográficos actuales, Ventania está incluida en el distrito Austral de la provincia Pampeana (Arana *et al.*, 2021).

En este trabajo se discute si los parches de bosques aislados en el sur de la provincia Pampeana deben ser incluidos en el Caldénal. Para ello se confeccionó un mapa de sitios de ocurrencia de matorrales o bosquecillos con especies del Caldénal, y se analizó la composición botánica de los bosques y matorrales aislados en las Sierras de la Ventana.

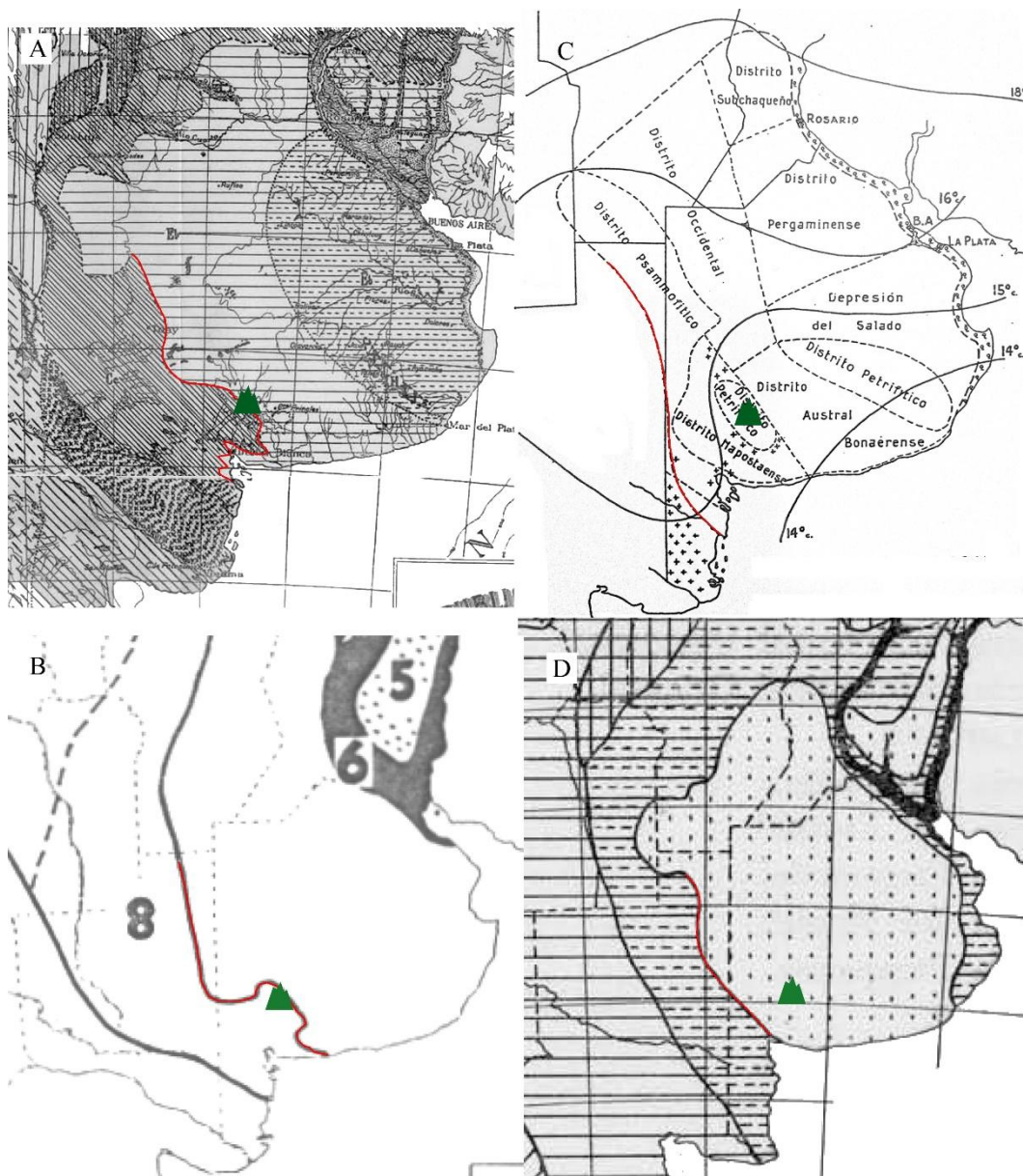


Fig. 2. Límite sur entre el Caldenal y los pastizales Pampeanos (línea roja) según distintos autores: a, Frenguelli (1941); b, Ringuélet (1961); c, Parodi (1947); d, Cabrera (1953). En verde, las Sierras de la Ventana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se confeccionó un mapa de puntos en los que se tiene constancia de la presencia de asociaciones vegetales similares al Caldenal. Para ello se utilizó tanto la bibliografía como la colección del Herbario del Museo de La Plata (LP) y la base de datos del Herbario Darwinion (SI). También se visitaron algunas localidades como Laguna Guaminí ($36^{\circ}58'0.07''S$ $62^{\circ}23'23.77''O$) y Laguna Cochicó ($36^{\circ}56'10.75''S$ $62^{\circ}19'50.41''O$) en el partido de Guaminí, y Cueva de los Leones, cerca de Bahía Blanca ($38^{\circ}38'23.68''S$ $62^{\circ}17'24.84''O$).

Uno de los sitios más orientales con respecto del núcleo del bosque de Caldén en el que se encontró una asociación de plantas relativamente diversa y similar a la del Caldén es Sierra de la Ventana. Por esta razón se realizó un inventario de las plantas vasculares leñosas y cactáceas presentes en un bosque xerófilo cercano al pueblo de Sierra de la Ventana ($38^{\circ} 7'5.29''S$ $61^{\circ}47'33.95''O$). Los grupos de árboles y arbustos se extienden entre el Cerro Amor (también llamado Cerro Ceferino) y la ladera oeste del Cerro Pillahuincó, en un área de unos 0.23 km^2 , en las barrancas de un cauce efímero que desemboca en el Río Sauce Grande. La superficie mencionada, dada su escasa extensión, se recorrió en su totalidad.

Los relevamientos se realizaron durante tres visitas, el 5 de octubre de 2009, 28 de noviembre de 2010 y 25 de julio de 2013. Se hizo énfasis en las fanerófitas leñosas y cactáceas, anotando adicionalmente las hierbas, pero como el muestreo no se sistematizó a lo largo de las estaciones del año, el listado de herbáceas es seguramente incompleto.

En la discusión se seguirá el criterio de regionalización biogeográfica histórico-evolutivo (Morrone, 2000; 2014; 2017; Arana *et al.*, 2017; Arana *et al.*, 2021), aclarando oportunamente cuando se refiera a otros esquemas como el de ecorregiones. Por lo tanto, se mencionará a los bosques de caldenes como parte del distrito del Espinal, de la provincia Pampeana.

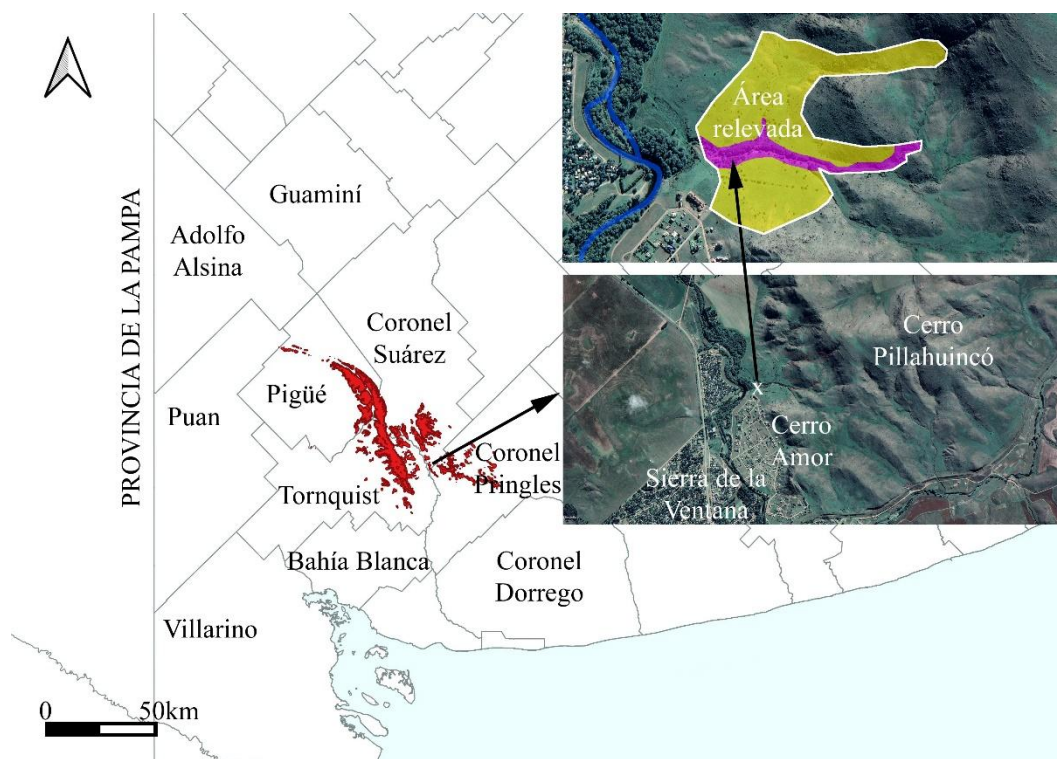


Fig. 3. Ubicación del sitio estudiado y partidos de la provincia de Buenos Aires mencionados en el texto. Recuadro del área relevada: en rosa el bosque de barranca de un afluente efímero del Arroyo Sauce Grande; en amarillo los matorrales y grupos de árboles aislados; en celeste el Arroyo Sauce Grande.

RESULTADOS

Los parches de Espinal en el suroeste de la provincia de Buenos Aires

En la bibliografía se mencionan asociaciones de plantas similares a las del Caldén en puntos aislados del suroeste de Buenos Aires (Ver material suplementario: Tabla y archivo .kmz con la

ubicación de estos puntos). En esta zona se observan bosques aislados de *Prosopis caldenia*, caldenes aislados, y bosques bajos-matorrales espinosos de terrenos quebrados y rocosos (lomadas con tosca o barrancas de arroyos y lagunas) que presentan una composición florística similar a algunas partes del Caldenal.

También se pudo comprobar la existencia de bosques y matorrales espinosos con composición florística similar a algunas partes del caldenal entre Bahía Blanca y Sierra de la Ventana y en algunos puntos más al norte (Fig. 4). Basado en estos datos se confeccionó el mapa de la figura 5 en el que se muestran las asociaciones conocidas de plantas xerófilas afines al Caldenal.

Uno de estos sitios, Cueva de los Leones, se pudo estudiar con mayor detenimiento para realizar un listado de las especies de plantas vasculares. En una ancha cárcava que apunta hacia el Arroyo Sauce chico se desarrolla el bosque bajo y los matorrales, rodeados de barrancos esculpados en el perfil de loess y tosca calcárea del plio-pleistoceno. Allí se encontraron *Schinus* sp. y *Geoffroea decorticans* conformando un estrato arbóreo bajo y enmarañado con arbustos de *Prosopidastrum angusticarpum*, *Lycium chilense*, *Senna aphylla*, *Berberis ruscifolia*, *Ephedra triandra*, *Azorella prolifera*, *Condalia microphylla*, *Monnina dictyocarpa*, *Acantholippia seriphioides*, y las cactáceas *Cereus aethiops*, *Cereus* sp., *Opuntia* sp. También se hallaron hierbas como *Sphaeralcea australis*, *Blumenbachia insignis*, *Medicago lupulina*, *Carduus acanthoides*, *Melica bonariensis*, *Bromus* sp. y *Sporobolus* sp. y la trepadora *Clematis montevidensis*. En esta localidad se citan, además, a *Nassella sanluisensis* y *Erioneuron pilosum* var. *mendocinum*, dos plantas frecuentes en el Monte y el Caldenal (Gil *et al.*, 2012), y a *Blechnum auriculatum*, una planta de la subregión Chaqueña (Long, 2018).

En otros sitios un poco más al norte en el partido de Guaminí, como la Laguna Guaminí, *Geoffroea decorticans* domina el bosque, y en la cercana Laguna Cochicó el estrato arbóreo está compuesto por *Geoffroea decorticans*, *Caesalpinia gilliesii* y *Prosopis flexuosa*.

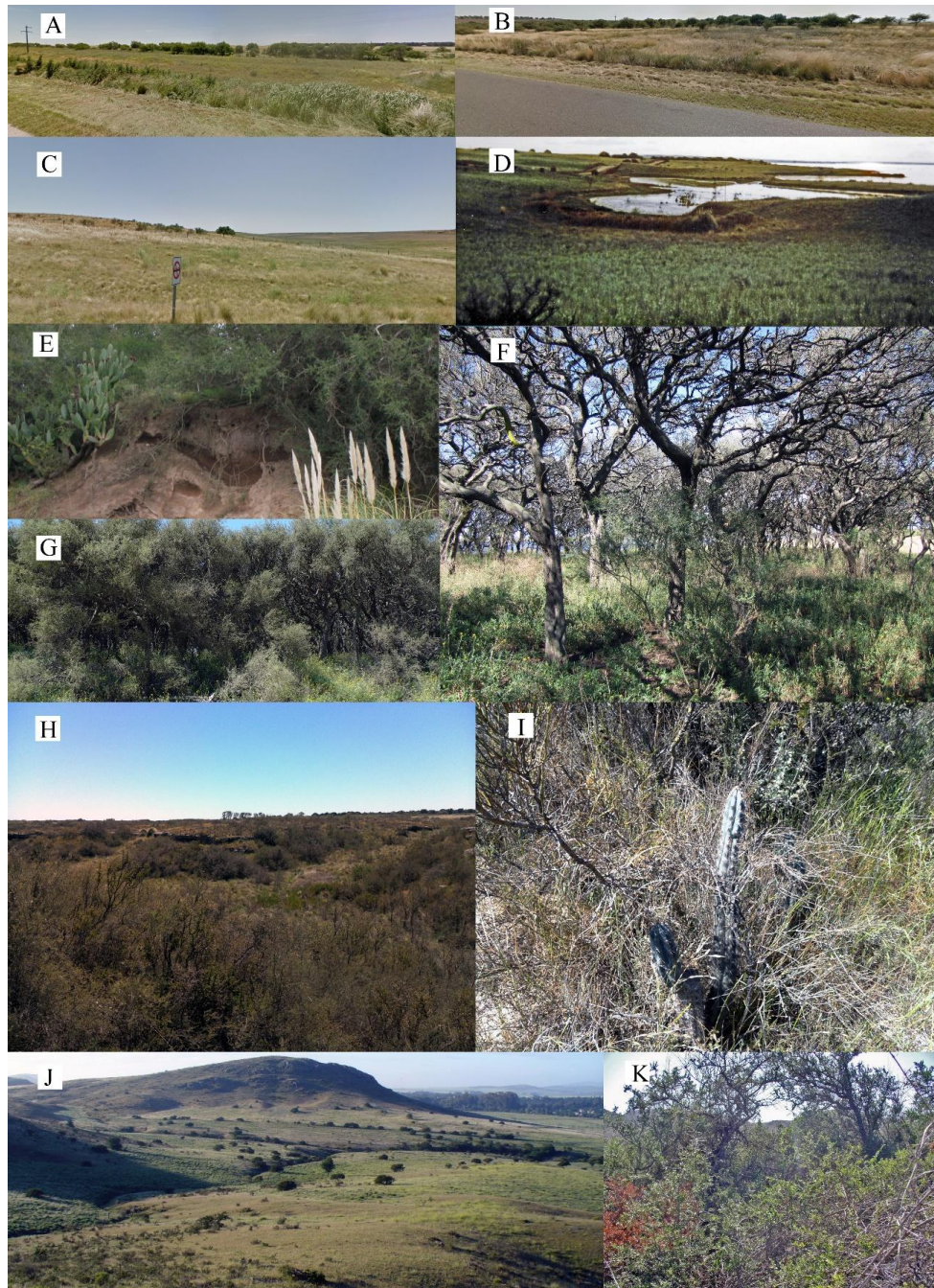


Fig. 4. Bosques y matorrales espinosos entre Bahía Blanca y Sierra de la Ventana con composición florística similar a algunas partes del caldenal. A, caldenal en Ruta 76, cerca de Avestruz, partido de Adolfo Alsina. B, caldenal en Ruta 60, al sur de la Laguna Epecuén, partido de Adolfo Alsina. C, matorral en Ruta 72, cerca de Paso de las Piedras, partido de Tornquist. D, caldenal en Laguna Chasicó, partido de Villarino. E, matorral en barrancos del Arroyo San Juan, cerca del Parque Provincial E. Tornquist, partido de Tornquist. F, bosque de *Geoffroea decorticans* en Laguna Guaminí, partido de Guaminí. G, bosque con *Geoffroea decorticans*, *Caesalpinia gilliesii* y *Prosopis flexuosa* en Laguna Cochicó, partido de Guaminí. H, bosque bajo y matorral en Cueva de los Leones, partido de Bahía Blanca. I, detalle de la localidad anterior. J, Bosque tipo parque de la ladera norte del Cerro Amor y bosque de barranca de un afluente efímero del Arroyo Sauce Grande en Sierra de la Ventana, partido de Coronel Suárez. K, detalle del bosque en la localidad anterior. Imágenes: A, B y C, Google Street View; D, H, I, J y K, Elián L. Guerrero; E, Daniel E. Guerrero; F y G, Federico L. Agnolin.

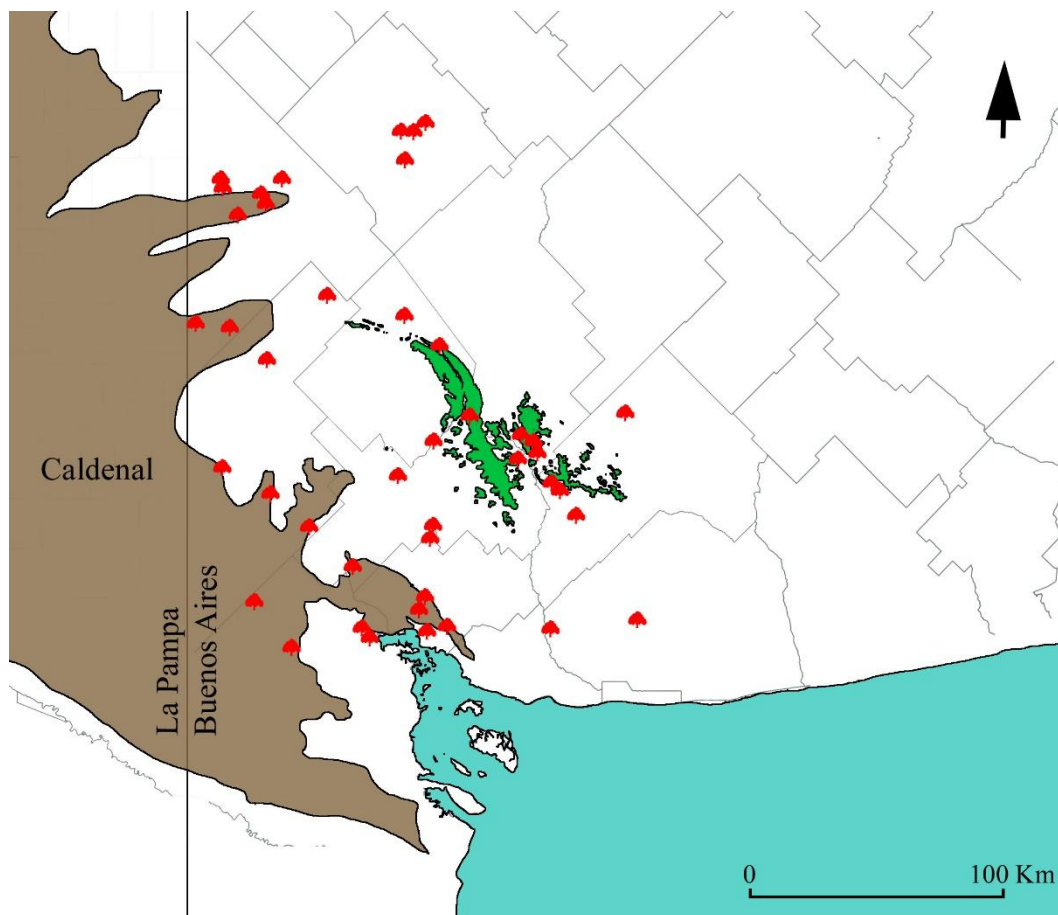


Fig. 5. Límite sur entre el Caldenal y los pastizales Pampeanos. Marrón: Caldenal. Árboles rojos: zonas con isletas de árboles y arbustos del Caldenal aislados. Verde: Sierras de la Ventana.

El Espinal en Sierra de la Ventana

Bosque de barranca de un afluente efímero del Arroyo Sauce Grande, al norte del Cerro Amor, Sierra de la Ventana (ex. = especies exóticas). Fig. 4J; Fig. 6A, 6C, 6D y 6F.

Se presentan árboles bajos de *Schinus johnstonii*, *Schinus longifolius*, *Caesalpinia gilliesii* y *Prunus mahaleb* (ex.), arbustos de *Berberis ruscifolia*, *Condalia microphylla*, *Lycium tenuispinosum*, *Prosopidastrum angusticarpum*, *Discaria americana*, *Austroeupatorium buniifolium*, y las cactáceas *Cereus aethiops* y *Opuntia pampeana*. Acompañan hierbas como *Paspalum quadrifarium*, *Nasella* sp., *Piptochaetium* sp., *Poa* sp., *Melica* sp., *Hordeum* sp., *Setaria* sp., *Briza* sp., *Glandularia peruviana*, *G. platensis*, *Solanum* sp., *Lathyrus* sp., *Sida rhombifolia*, *Eryngium* sp., *Zexmenia buphtalmiflora*, *Carduus acanthoides* (ex.), *Centaurea calcitrapa* (ex.), *Sonchus oleraceus* (ex.), las trepadoras *Passiflora coerulea*, *Clematis montevidensis*, y la epífita *Tillandsia retorta*.

a) Matorrales y grupos de árboles aislados entre el cerro Amor y el Cerro Pillahuincó. Fig. 4K; Fig. 6B y 6E.

El pastizal alrededor del bosque de barranca descrito presenta árboles y arbustos aislados, confiriéndole una fisonomía tipo parque. En los parches de árboles y arbustos se encuentran *Schinus johnstonii*, *Schinus longifolius*, *Prunus mahaleb* (ex.), *Caesalpinia gilliesii*, *Lycium chilense*, *Prosopidastrum angusticarpum*, *Discaria americana*, *Azorella prolifera* y *Austroeupatorium buniifolium*, y las cactáceas *Cereus aethiops*, *Cereus* sp., *Opuntia pampeana*,

Opuntia ventanensis, *Wigginsia sessiliflora* y *Notocactus submammulosus*. El estrato herbáceo no difiere del que se presenta en la estepa circundante; se destacan por su constancia *Blumenbachia insignis*, *Petunia axillaris*, *Rhynchosia senna*, *Nasella filiculmis*, *Amelichloa caudata*, *Jarava juncooides*, *Pappophorum vaginatum*, *Zexmenia buphtalmiflora* y *Dichondra sericea*.

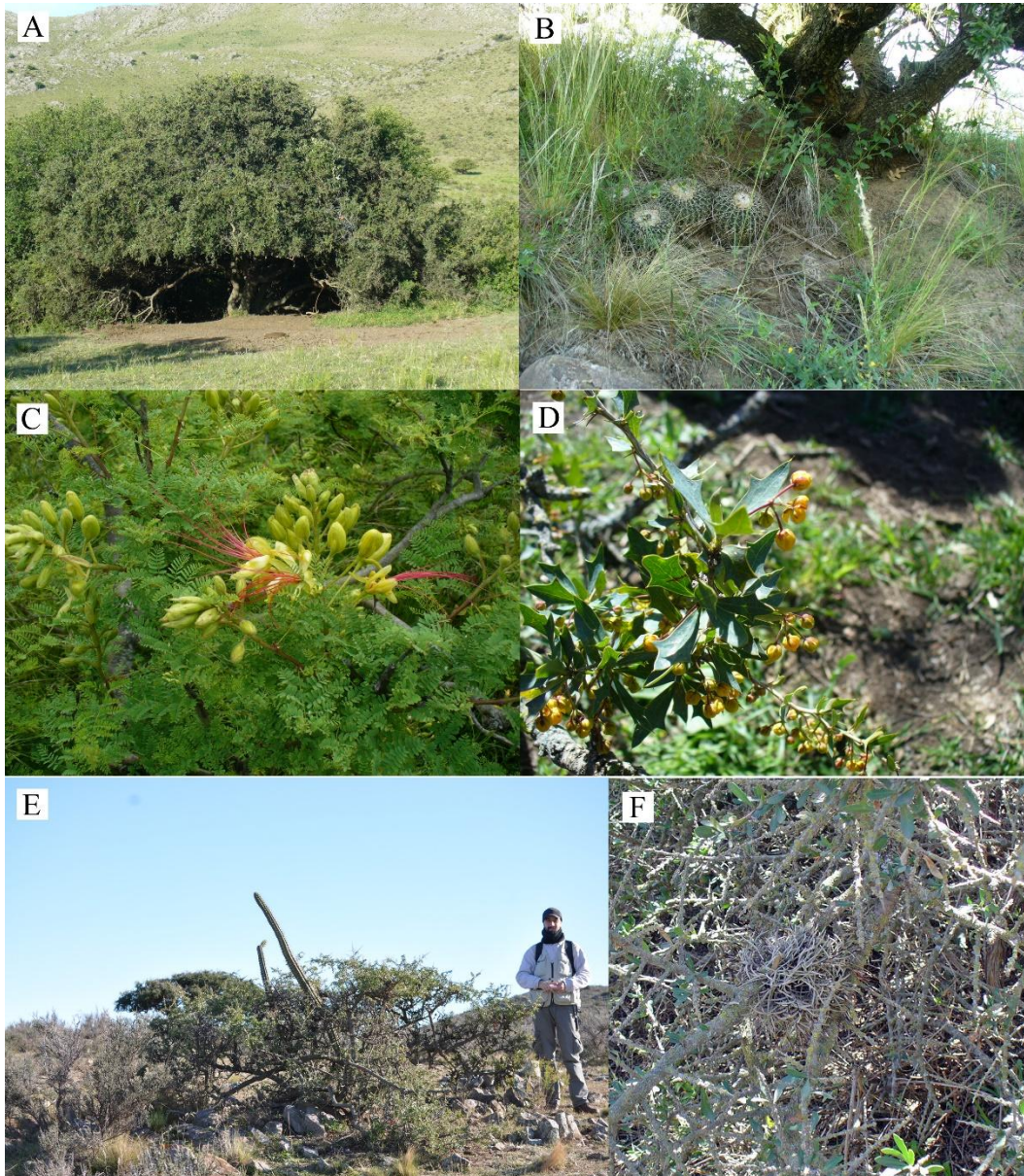


Fig. 6. Parches de bosques y matorrales espinosos en Sierra de la Ventana: A, bosque de barranca; B, hierbas (*e.g.*, *Rhynchosia senna*, *Solanum* sp., *Pappophorum vaginatum*) y cactáceas (*Wigginsia sessiliflora*) debajo de los árboles aislados (*Schinus longifolius*) en la ladera de un cerro; C, *Caesalpinia gilliesii*; D, *Berberis ruscifolia*; E, matorral compuesto por *Schinus johnstonii*, *Lycium tenuispinosum*, *Discaria americana* y *Cereus aethiops* (aspecto invernal); F, *Tillandsia retorta*, epífita sobre *Schinus johnstonii*.

Fotografías: A, B, C, D, F, Elián L. Guerrero; E, Pamela Carrión.

DISCUSIÓN

Los primeros exploradores que notaron la presencia de especies leñosas atípicas para las planicies Pampeanas en el suroeste de Buenos Aires fueron Doering y Lorentz (1916). El primero en examinar y describir ese tipo de vegetación fue Alberto Castellanos (1938), quien cita para los alrededores del Cerro Colorado (suroeste de las Sierras de Ventania): *Geoffroea decorticans*, *Schinus johnstonii*, *Condalia microphylla*, *Berberis ruscifolia*, *Lycium* sp. y *Clematis montevidensis*. Luego Parodi (1940) menciona para la Isla del Monte, en Guaminí las siguientes especies: *Prosopis caldenia*, *Geoffroea decorticans*, *Jodina rhombifolia*, *Condalia microphylla*, *Schinus johnstonii*, *Cereus* sp., *Ephedra tweediana*, *Clematis campestris*, *Araujia sericifera*, *Cardiospermum* sp., *Berberis ruscifolia* y *Caesalpinia gilliesii*.

Frangi y Bottino (1995) tratan con detalle la presencia de asociaciones del Espinal en Sierra de la Ventana y alrededores, identificando bosques de *Geoffroea decorticans* cerca del Parque Provincial Ernesto Tornquist, y pastizales con árboles aislados de *Schinus longifolius* (cerca del sitio estudiado en este trabajo) y matorrales diversos unos cinco kilómetros al norte del sitio estudiado en este trabajo. Long (2018) cita para los matorrales de las lomadas entre Tornquist y Coronel Dorrego: *Bougainvillea spinosa*, *Mirabilis ovata*, *Aloysia gratissima*, *Geoffroea decorticans*, *Prosopis flexuosa*, *Azorella prolifera*. También menciona matorrales de *Prosopidastrum angusticarpum* sobre elevaciones cercanas a las localidades de Puan, Saldungaray y Coronel Dorrego en substratos con tosca calcárea, y cita por primera vez a *Vachellia caven* en esta zona de la provincia de Buenos Aires (Long, 2018).

Los sitios mapeados en la figura 5 se presentan usualmente en terrenos quebrados, con subsuelo rocoso o arenoso, y rodeados de una matriz de pastizal que presenta especies de amplia distribución en la provincia biogeográfica Pampeana. Por lo tanto, se pueden considerar islas del Espinal dentro del pastizal. Las especies de estos parches de espinal son usualmente indeseadas por los productores de la región, y no se tiene constancia de que hayan sido plantadas (e.g., los parches no tienen un diseño regular, casi ninguna de las especies halladas es producida en viveros y las pocas que se consiguen como *Caesalpinia gilliesii* y *Geoffroea decorticans* comenzaron a ser difundidas desde hace solo unas décadas como respuesta a la moda reciente de cultivar nativas). Por otro lado, se debe tener en cuenta que el caldén puede ser dispersado por el ganado (León y Anderson, 1983).

Los parches de bosque y matorral espinoso en Sierra de la Ventana son ligeramente diferentes del resto, ya que a las típicas especies del espinal se le suman elementos característicos de las sierras como *Opuntia ventanensis* (endémica de las Sierras de Ventania), *Wigginsia sessiliflora* (hallada en la provincia Comechingones, las Sierras de Ventania, Tandilia y Uruguay) y *Zexmenia buphtalmiflora* (hallada en la provincia Comechingones y las Sierras de Ventania); todas las demás especies están presentes en el Caldenal o en la transición entre la provincia del Monte y el Caldenal.

Las especies citadas en la bibliografía preexistente y las listadas en este trabajo son características de los bosques secos y matorrales del centro de Argentina (del Caldenal y/o del Monte, y unas pocas de la Patagonia), pero no del resto de la provincia Pampeana: *Prosopis caldenia*, *P. flexuosa*, *Prosopidastrum angusticarpum*, *Senna aphylla*, *Monnina dictyocarpa*, *Schinus johnstonii*, *Sphaeralcea australis*, *Bougainvillea spinosa*, *Mirabilis ovata*, *Condalia microphylla*, *Acantholippia seriphioides*, *Lycium tenuispinosum*, *Azorella prolifera*, *Jarava juncoides*, *Nassella sanluisensis*, *Erioneuron pilosum* var. *mendocinum*, *Melica bonariensis*, *Tillandsia retorta* y *Ephedra triandra*. Estas especies, excepto por *Azorella prolifera*, constituyen un subconjunto de las especies presentes en el sur del Caldenal.

Algunas de las plantas encontradas en las Sierras de Ventania y en Cueva de los Leones, como *Prosopidastrum angusticarpum*, *Sphaeralcea australis* y *Melica bonariensis*, tienen un área de distribución bastante similar entre sí, coincidente en gran parte con la de *Prosopis caldenia*.

Otras especies no halladas al realizar este trabajo, pero que también poseen un área de distribución equivalente son *Baccharis triangularis* y *Sphaeralcea crispa*. El área de endemismo que definen estas especies podría ser la base para delimitar al Caldenal. De tal modo, a una escala mayor a la estudiada en este trabajo, el Caldenal puede ser propuesto como un distrito independiente, ya no como parte del distrito del Espinal. Será necesario buscar si existen otros componentes con distribución geográfica similar a la de las especies mencionadas para tomar una decisión.

La pregunta que debe hacerse es si el Caldenal se definiría exclusivamente por su árbol dominante como se hace actualmente, o si el Caldenal puede ser definido como área de endemismo por la distribución coincidente de varias especies. En el primer caso, solo los bosques puros de Caldén pueden ser cartografiados como Caldenal; en el otro caso, se deberían mapear tanto los bosques como las áreas de estepa con parches de matorral y bosques aislados en los que se encuentren las especies endémicas que definen a la unidad. Las áreas llanas o ligeramente onduladas del área de estudio están ocupadas por una estepa en la que *Piptochaetium napostaense*, *Jarava ichu* y *Amelichloa ambigua* son dominantes (Parodi, 1941) y las ondulaciones medianosas de esta zona contienen las mismas especies que los médanos que se encuentran más hacia el oeste, en el Caldenal (*Piptochaetium napostaense*, *Nassella tenuis*, *N. longiglumis*, *Panicum urvilleanum*, *Sporobolus rigens*, *Hyalis argentea*; Frenguelli y Cabrera, 1939). Ninguna de estas especies puede ser catalogada como “Pampeana”, ya que se distribuyen por las zonas secas de Argentina y países limítrofes, por lo que los límites del mapa de Joaquín Frenguelli (1941) expuesto al inicio de este trabajo parecen plausibles. Otras posibles soluciones a este problema serían considerar a esta zona como un área de transición biogeográfica (Ferro y Morrone, 2014), ya que también hay registros de especies de plantas Pampeanas como *Lathyrus subulatus*, *Bipinnula penicillata*, *Piptochaetium haeckelii* y *Melica rigida* en pastizales entre la zona de bosques de Caldén y las Sierras de la Ventana (Obs. pers.). Por ahora, lo más prudente es cartografiar en detalle a los parches de bosques y matorrales como islas del - ¿distrito? - Caldenal dentro de la zona de pastizales que pertenecería al distrito Austral de la provincia Pampeana.

CONCLUSIONES

Los bosques bajos y matorrales aislados en el suroeste de Buenos Aires no difieren de los que se pueden encontrar en el Caldenal o en su transición con el Monte. Esta vegetación alcanza hacia el este en forma saltuaria las encadenadas de Guaminí, el Sistema Serrano de Ventania, los ríos que nacen en estas serranías y drenan hacia el sur, y la costa atlántica hasta Coronel Dorrego. Sus especies se distribuyen en el oeste, centro y sur de Argentina, siendo muy pocas las de distribución en el este del país.

Algunas especies de los bosques y matorrales aislados en el suroeste de Buenos Aires poseen un área de distribución que abarca solo los bosques puros de Caldén y los parches de vegetación estudiados. Por lo tanto, se postula que estas islas y extensiones de matorrales y bosques, aunque de difícil cartografía, deberían ser incluidas en la unidad del caldenal, ya que constituyen no solo una parte de unidad fisonómica conspicua, sino que además constituyen un área de endemismo. El Caldenal, por lo tanto, podría ser clasificado como distrito, y ya no como una parte del distrito del Espinal en los esquemas biogeográficos históricos-evolutivos.

El mapeo de estas unidades es complejo y precisa un mayor conocimiento de campo y una exploración intensiva de sitios de difícil acceso ubicados en campos de administración privada. Cartografiar estas islas e intrusiones del caldenal sobre los pastizales tiene aplicaciones que van más allá de lo académico. Por ejemplo, trae aparejado la necesidad de aplicar cambios a nivel legislativo, por ejemplo, sobre la “Ley de Bosques” (Ley 26331 de Presupuestos Mínimos de Protección Ambiental de los Bosques Nativos) que promueve la conservación de bosques nativos de Argentina, pero cuyos mapas no abarcaron los partidos de Coronel Suárez, Coronel Pringles ni Coronel Dorrego en la provincia de Buenos Aires.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco enormemente a Pamela Carrión, Felipe Suazo Lara, Luis G. Pagano, Daniel Muntz, Rubén Lucero, Rocío Iribarren, Mauricio Cerroni, Federico Brisson Egli, por su ayuda en el trabajo de campo. Gracias a Daniel Guerrero, Federico Agnolin y Diego di Pietro por las fotografías. A Jorge Frangi por compartir sus observaciones e ideas sobre el espinal en Sierra de la Ventana, a Luis Pagano por la información sobre los bosques del partido de Adolfo Alsina, y a Liliana Katinas, Jorge V. Crisci y María José Apodaca por las discusiones biogeográficas y su ayuda con la bibliografía. Agradezco a los editores de Polibotánica y a los revisores por sus valiosas críticas.

LITERATURA CITADA

- Arana, M. D., Martínez, G. A., Oggero, A. J., Natale, E. S. y Morrone, J. J. (2017). Map and shapefile of the biogeographic provinces of Argentina. *Zootaxa*, 4341(3): 420-422.
- Arana, M. D., Natale, E., Ferretti, N., Romano, G., Oggero, A., Martínez, G., Posadas, P., Morrone, J. J. (2021). *Esquema biogeográfico de la República Argentina*. Opera lilloana 56, Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina.
- Brown, A. D., y Pacheco, S. (2006). Propuesta de actualización del mapa ecorregional de la Argentina. En Brown, A. D., Ortiz, U. M., M. Acerbi y J. Corcuera (eds.): *La situación ambiental Argentina 2005*. Pp. 28-31. Fundación Vida Silvestre, Buenos Aires.
- Burkart, A. (1939). El nombre científico del caldén de La Pampa (*Prosopis caldenia*, nov. spec.). *Darwiniana*, 3(2), 111-115.
- Burkart, A. (1976). A monograph of the genus *Prosopis* (Leguminosae subfam. Mimosoideae). *Journal of the Arnold Arboretum*, 57, 450-525.
- Cabrera, A. L. (1940). Notas sobre la vegetación del Parque Provincial de la Sierra de la Ventana. *Ministerio de Obras Públicas de la Provincia de Buenos Aires, Dirección de Agricultura, Ganadería e Industrias*, 8, 3-16.
- Cabrera, A. L. (1953). Esquema fitogeográfico de la República Argentina. *Revista Museo de La Plata, nueva serie, Sección Botánica*, 8, 87-168.
- Cabrera, A. L. (1971). Fitogeografía de la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 14, 1-42.
- Cabrera, A. L. y Willink, A. (1973). Biogeografía de América Latina. Secretaría General de la Organización de los Estados Americanos, Serie de Biología, Monografía 13. Washington, DC.
- Castellanos, A. (1938). Las facies de "El Monte" en la Sierra de la Ventana. *Lilloa*, 2, 5-11.
- Crisci, J. V., Freire, S., Sancho, G. y Katinas, L. (2001). Historical biogeography of the Asteraceae from Tandilia and Ventania mountain ranges (Buenos Aires, Argentina). *Caldasia*, 23, 21-41.
- Doering, A. y Lorentz, P. G. (1916). Recuerdos de la Expedición al Río Negro (1879). *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias de Córdoba*, 21, 301-386.
- Ferro, I., y Morrone, J. J. (2014). Biogeographical transition zones: a search for conceptual synthesis. *Biological Journal of the Linnean Society*, 113(1), 1-12.
- Frangi, J. L. y Bottino, O. J. (1995). Comunidades vegetales de la Sierra de la Ventana, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 71(1), 93-133.
- Frenguelli, J. (1941). Rasgos principales de fitogeografía argentina. *Revista del Museo de La Plata*, 3(13), 65-181.
- Frenguelli J. y Cabrera, A.L. (1939). Viaje a la gobernación de La Pampa. *Physis*, 15, 70-91.
- Gil, M. E., Andrada, A. C. y Pellegrini, C. N. (2012). Nuevas citas para la flora de la región de Bahía Blanca (provincia de Buenos Aires, Argentina). *Bonplandia*, 21(2): 135-137.
- Guiñazú, J. R. (1943). Zonas de vegetación de la provincia de San Luis. Edición del autor.

Recibido:
14/junio/2021

Aceptado:
4/enero/2022

- Holmberg, E. L. (1898). La Flora de la República Argentina. En: Comisión Directiva de Censo, República Argentina (ed.): *Segundo censo de la República Argentina, mayo 10 de 1895*, 1, 385-474.
- Küchler, A. W. (1981). The Argentinian vegetation on maps. *Phytocoenologia*, 9(4), 465-472.
- León, R. C. y Anderson, D. L. (1983). El límite occidental del pastizal pampeano. *Tuexenia*, 3, 67-83.
- Long, M. A. (2018). *Especies comunes y raras en la flora de las sierras australes bonaerenses: causas históricas, ecológicas y ambientales*. Tesis doctoral, Universidad Nacional del Sur.
- Lorentz, P. G. (1876). Cuadro de la vegetación de la República Argentina. En Napp, R. (ed.): *La República Argentina*. Sociedad Anónima de Tipografía, Litografía y Fundición de Tipos, Buenos Aires.
- Matteucci, S. D. (2012). Ecorregión Espinal. En: Morello, J., Matteucci, S. D., Rodríguez, A. F. y Silva, M. (eds.): *Ecorregiones y complejos ecosistémicos argentinos*. Pp. 349-390. Editorial Orientación Grafica Argentina, Buenos Aires.
- Mercuri, F. T. (2017). *Evaluación turística para la localización de un sendero interpretativo en la costa sudoeste de la Laguna Epecuén*. Tesina de licenciatura en turismo de la Universidad Nacional del Sur, Departamento de Geografía y Turismo.
- Monticelli, J. V. (1938). Anotaciones fitogeográficas de La Pampa central. *Lilloa*, 3, 251-382
- Morello, J. H. (1958). La provincia fitogeográfica del Monte. *Opera Lilloana*, 2, 5-115.
- Morrone, J. J. (2000). What is the Chacoan subregion? *Neotropica*, 46, 51-68.
- Morrone, J. J. (2014). Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa*, 3782(1), 1-110.
- Morrone, J. J. (2017). *Neotropical Biogeography: Regionalization and Evolution*. CRC Press, Florida.
- Olson, D. M., Dinerstein, E., Wikramanayake, E. D., Burgess, N. D., Powell, G. V., Underwood, E. C., ... y Loucks, C. J. (2001). Terrestrial ecoregions of the world: A new map of life on earth: A new global map of terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. *BioScience*, 51(11), 933-938.
- Oyarzabal, M., Clavijo, J. R., Oakley, L. J., Biganzoli, F., Tognetti, P. M., Barberis, I. M., Maturó, H. M., Aragón, M. R., Campanello, P. I., Prado, D. E. y Oesterheld, M. (2018). Unidades de vegetación de la Argentina. *Ecología Austral*, 28(1), 40-63.
- Parodi, L. R. (1940). Los bosques naturales de la provincia de Buenos Aires. *Anales de la Academia Nacional de Ciencias Exactas Físicas y Naturales de Buenos Aires*, 7, 79-90.
- Parodi, L. R. (1941). Viaje a la región de Bahía Blanca. *Revista del Museo de La Plata*, 6, 69-78.
- Parodi, L. R. (1947). La estepa Pampeana. En Hauman, L., Burkart, A., Parodi, L. R. y Cabrera, A. L. (eds.): *La vegetación de la Argentina*. Geografía de la República Argentina, Tomo VIII. Pp., 143-207. Sociedad Argentina de Estudios Geográficos, Buenos Aires.
- Pereyra, J.A. (1937). Aves de La Pampa. *Memorias del Jardín Zoológico*, 7, 198-321.
- Rapoport, E. H. (1968). Algunos problemas biogeográficos del nuevo mundo con especial referencia a la región neotropical. En Rapoport, E. y Deboutteville, C. D. (eds.): *Biologie de l'Amérique australe*. Éditions du Centre national de la recherche scientifique, CNRS, 4, 53-110.
- Ringuelet, R. A. (1955). Panorama zoogeográfico de la provincia de Buenos Aires. *Notas del Museo de La Plata*, 18, 1-15.
- Ringuelet, R. A. (1961). Rasgos fundamentales de la Zoogeografía de la Argentina. *Physis*, 22, 151-170.
- Rovereto, G. (1914). Studi di Geomorfología Argentina. IV. La Pampa. *Bolletino della Società Geologica Italiana*, 33, 75-129.
- Zuloaga, F. O., Belgrano, M. J. y Zanotti, C. A. (2019). Actualización del Catálogo de las Plantas Vasculares del Cono Sur. *Darwiniana, nueva serie*, 7(2), 208-278.

DIVERSIDAD DE ESPECIES DE PLANTAS ARVENSES EN TRES MONOCULTIVOS DEL BAJÍO, MÉXICO

DIVERSITY OF WEEDS SPECIES IN THREE MONOCULTURES FROM BAJIO, MEXICO

Guzmán-Mendoza, R.; V. Hernández-Hernández; M. D. Salas-Araiza y H. G. Núñez-Palenius.

DIVERSIDAD DE ESPECIES DE PLANTAS ARVENSES EN TRES MONOCULTIVOS DEL BAJÍO, MÉXICO.

DIVERSITY OF WEEDS SPECIES IN THREE MONOCULTURES FROM BAJIO, MEXICO.



DIVERSIDAD DE ESPECIES DE PLANTAS ARVENSES EN TRES MONOCULTIVOS DEL BAJÍO, MÉXICO

DIVERSITY OF WEEDS SPECIES IN THREE MONOCULTURES FROM BAJIO, MEXICO

Guzmán-Mendoza, R.;
V. Hernández-Hernández;
M. D. Salas-Araiza
y H. G. Núñez-Palenius

DIVERSIDAD DE ESPECIES
DE PLANTAS ARVENSES
EN TRES MONOCULTIVOS
DEL BAJÍO, MÉXICO

DIVERSITY OF WEEDS
SPECIES IN THREE
MONOCULTURES FROM
BAJIO, MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 69-85. Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.5

R. Guzmán-Mendoza / rgzmz@yahoo.com.mx

*Departamento de Agronomía, División Ciencias la Vida, Universidad de Guanajuato,
Km 9 carretera Irapuato-Silao, CP 36821. Irapuato, Gto. México.*

V. Hernández-Hernández

*Tecnológico Nacional de México campus Irapuato, carretera Irapuato-Silao
km 12.5, Irapuato 36821, Irapuato, Guanajuato, México.*

M. D. Salas-Araiza

H. G. Núñez-Palenius

*Departamento de Agronomía, División Ciencias la Vida, Universidad de Guanajuato,
Km 9 carretera Irapuato-Silao, CP 36821. Irapuato, Gto. México.*

RESUMEN: Las plantas arvenses son fuertes competidoras en los cultivos, pero también constituyen un componente importante de los agroecosistemas, por lo que es relevante conocer aspectos de su ecología. El objetivo fue comparar la abundancia, riqueza y diversidad de arvenses presentes en monocultivos de maíz (mz), trigo (tg) y sorgo (sg). De noviembre 2018 a mayo 2019 se visitó el campo tres veces por mes, el muestreo se realizó por cuadrantes de 2 m². Las plantas se identificaron a nivel de especie y se organizaron por su estatus migratorio. Se realizaron índices de diversidad, curvas de acumulación de especies, un Análisis de Kruskal Wallis y un Análisis Discriminante para comparar poblaciones de arvenses. Se encontraron 28 especies, la riqueza total fue obtenida para maíz y trigo, pero no para sorgo. El maíz fue el cultivo con mayor cantidad de especies (S= 26) y con la diversidad significativamente mayor de plantas (H= 2.94) y también en cuanto a plantas nativas como exóticas (H = 1.91 y H = 1.94), respectivamente. La abundancia de arvenses fue significativamente mayor en mz. La composición de las poblaciones de arvenses fue distinta entre cultivos, el AD con 83% de la varianza separó tres grupos de acuerdo con el tipo de cultivo, lo que se reflejó en la estructura de las poblaciones arvenses. Las comunidades vegetales son diferentes entre cultivos a pesar de encontrarse en un ambiente espacialmente homogéneo, por lo que factores asociados al cultivo están influyendo en los patrones de diversidad. La riqueza de especies está dentro del rango reportado en otros agroecosistemas, pero la diversidad es mayor a algunos estudios reportados para sistemas de cultivo tradicional e intensivo. La presencia de especies nativas en la diversidad local es un indicador ecológico positivo para los cultivos.

Palabras clave: malezas, agroecología, agrobiodiversidad.

ABSTRACT: Weeds are a strong competitor for crops but, they also are an essential part of the agroecosystems, so it is better to know their ecology. The aim was to compare the abundance, richness and, diversity of weeds from monocultures of corn (mz), wheat (tg) and sorghum (sg). From November 2018 to May 2019 the crops were visited three times a month, the sampling was made by quadrants of 2 m². All plants were identified at the species level and organized by their immigration status. Diversity index, accumulation curves were calculated, also a Kruskal Wallis test and Discriminant analysis were made to compare between weeds populations. 28 species were found, the total richness was obtained for mz and tg but it did not for sg. The corn

was the cropping with more species ($S=26$) and, a significantly high diversity ($H=2.94$), it also was observed in native and exotic weed ($H=1.91$ y $H=1.94$, respectively). The weed abundance was significantly high in mz. The composition of weed populations was different between crops, the AD with 83% of variance explained separated three groups according to the type of crop, which was reflected in the structure of the weed populations. Plant communities are different between crops despite being in a spatially homogeneous environment. Hence, factors associated with the crops are influencing the diversity patterns observed. Species richness is inside of range of other agroecosystems but, diversity is higher than some studies reported for traditional and intensive farming systems. The present of native species in local diversity is a positive ecological indicator for crops.

Keywords: weeds, agroecology, agrobiodiversity.

INTRODUCCIÓN

Existen diferentes formas para definir a las plantas arvenses según el ámbito de estudio; en agronomía, estas plantas son competidoras que afectan negativamente a los cultivos (Blanco & Leyva, 2010), para la agroecología y la etnobotánica, este grupo vegetal puede incrementar la heterogeneidad del paisaje y proporcionar una gran variedad de beneficios, tales como refugio para insectos benéficos (Sans, 2007), salud, alimentación y rasgos de identidad cultural (Albino-García, Cervantes, López, Ríos-Casanova & Riva, 2011; Blancas, Casas, Pérez-Salicrup, Caballero & Vega, 2013). La alta diversidad promovida por las plantas arvenses contribuye con sitios de refugio (Letourneau *et al.*, 2011) y microhabitats (Munro, Fisher, Wood & Lindenmayer, 2009), que disparan distintas interacciones ecológicas que son vitales para los agroecosistemas, tales como la polinización, almacenaje de carbono, reciclaje de nutrientes, control de microclimas y procesos hidrológicos, así como la regulación de organismos dañinos contra los cultivos (Bengtsson, Ahnström & Weibull, 2005).

Se ha observado que en sistemas de cultivo tradicional hay una mayor diversidad de arvenses que en sistemas de cultivos intensivos (Perfecto, Mas, Dietsch & Vandermeer, 2003; Fernández & Marasas, 2015), como consecuencia en la agricultura intensiva hay pocos servicios ambientales lo que encarece las estrategias de control contra plagas y malezas (como también se denomina a las especies arvenses), por tal razón es importante conocer los rasgos ecológicos que promueven la diversidad taxonómica y funcional de los agroecosistemas. En México hay más de 3,000 especies de plantas dentro de la categoría arvense, que corresponde al 12% de toda la flora vascular (Martínez-De la Cruz *et al.*, 2015), muchas de estas plantas tienen registro de utilidad práctica dentro de la salud, alimento y forraje, además de que inciden en los procesos culturales de los agroecosistemas campesinos-indígenas.

El Bajío Guanajuatense es una región agrícola importante para México principalmente por la variedad de cultivos que se producen tales como granos básicos (maíz, trigo, cebada, sorgo), hortalizas como lechuga, brócoli, espárrago y frutillas como la fresa. En el caso particular de los granos cubren el 70% de la superficie agrícola del Estado concebidos bajo un sistema altamente productivo, cuyos productos son destinados a los mercados nacionales e internacionales para alimento, forraje y propósitos industriales (Smale, Bellon, & Aguirre, 2001), lo que implica un alto consumo de insumos agroindustriales, en particular el 66.6% de los ingredientes activos de los herbicidas utilizados corresponde a la categoría de altamente peligrosos (Pérez-Ortega, Navarro-Garza, Flores-Sánchez, Ortega-García, & Tristán-Martínez, 2017).

En Guanajuato como en otras zonas agrícolas económicamente importantes, las plantas arvenses son consideradas como un obstáculo importante para la producción de cultivos ya sea por su capacidad de competencia o porque albergan plagas y enfermedades, razón suficiente para que las aplicaciones con herbicidas sean el principal medio de control con resultados moderados. Lo anterior ha derivado que la agricultura del Bajío como en muchas otras partes del mundo enfrente el grave reto de la pérdida de biodiversidad, que no sólo implica la

desaparición de especies sino también de características ecológicas funcionales para los agroecosistemas, lo que conforma un conjunto de rasgos útiles para diseñar estrategias de manejo, control y aprovechamiento en un esquema agroecológico. Por lo que el objetivo del trabajo fue registrar, evaluar y comparar la diversidad de plantas arvenses presentes en tres monocultivos tomando en cuenta el estatus migratorio de las especies. Esto con el fin de proporcionar información que sume evidencia al desarrollo de nuevos modelos conceptuales en torno al control, manejo y aprovechamiento de la riqueza vegetal arvensa asociada a los agroecosistemas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitio de estudio

El trabajo se realizó en tres tipos de monocultivos de maíz (mz), trigo (tg) y sorgo (sg), ubicados en la comunidad de El Copal, Irapuato Guanajuato en las coordenadas 20° 44' 39.2" N y 101° 19' 39.4" W y a una altitud de 1,760 msnm. Las parcelas fueron localizadas entre sí a los 10 y 20 m de distancia, en un clima cálido semi húmedo dentro de una zona con irrigación de 28.5 ha, con una siembra regular de granos básicos como sorgo, trigo y maíz, y aplicación de agroquímicos como fungicidas, insecticidas, nematicidas y herbicidas, muchos altamente peligrosos tales como atrazina (2-cloro-4-6-1,3,5-triazina), glifosato (N-fosfonometilglicina, C₃ H₈ NO₅ P, CAS 1071-83-6), paraquat (Dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo), acetoclor (2 cloro N etoximetil -6'-etilacetato-toluidina) entre otros, aplicados por lo menos desde hace una década. El suelo es Xerosol con materia orgánica, el clima es cálido semi húmedo con lluvias en verano, con una temperatura promedio de 17.4 °C y una precipitación anual 680 mm (INEGI, 2011; García, 2004).

Muestreo de arvenses

Los muestreos se realizaron en cinco parcelas de mz y tg que comprendieron un total de 55,472 m² y 128,358m² respectivamente, y dos parcelas de sg con un total de 6,390 m². A partir del conocimiento del tamaño de las parcelas se contabilizó el número máximo de cuadrantes de 2x2 m y fueron trazados y numerados consecutivamente sobre una imagen aérea 1:100. La numeración de los cuadrantes fue organizada en Excel y la selección ocurrió a partir de las 100 aleatorizaciones, en mz (n = 42), tg (n = 35) y sg (n = 11). A partir de noviembre 2018 a mayo 2019 comprendiendo un ciclo como en otros estudios (Sánchez-Blanco & Guevara-Féfer, 2013; Loss, 2014; Albino-García, Cervantes, López, Ríos-Casanova & Riva, 2011), se realizaron tres visitas mensuales para medir la abundancia, riqueza y diversidad de plantas de cada uno de los cultivos. La selección del periodo de muestreo responde a que las plantas arvenses son más abundantes y representan un problema para los productores, quienes prefieren eliminar que conocer la identidad de las especies presentes en las parcelas, entonces el periodo seleccionado permite en este sentido obtener la mayor información posible sobre el tipo de especies que se pueden presentar en las parcelas. El esfuerzo de muestreo incluyó un total de 3,528 m² en mz, 2,940 m² en tg y 924 m² en sg. Las plantas en floración o fructificación fueron recolectadas para su identificación a especie usando las claves taxonómicas de Calderón de Rzedowski & Rzedowski (2004, 2005) y Espinosa & Sarukhán, (1997). Además, las especies se categorizaron en exóticas o nativas, según su estatus migratorio de acuerdo con la página de la CONABIO Malezas de México. Todas las plantas identificadas fueron depositadas en el Herbario de la División Ciencias de la Vida, Departamento de Agronomía Campus Irapuato, Universidad de Guanajuato,

Análisis estadístico

Los datos obtenidos por cultivo fueron usados para calcular riqueza, abundancia y diversidad de especies. Con esta información se calcularon las curvas máximas potenciales de riqueza de especies con los modelos Chao 1 y 2, ambos ocupados convencionalmente para evaluar inventarios biológicos con respecto al esfuerzo de muestreo (Jiménez-Valverde & Hortal, 2003); de acuerdo con López-Gómez & Williams-Linera (2006), estos modelos presentan

ventajas para comparar comunidades vegetales en contraste con modelos paramétricos de análisis de riqueza de especies, para la realización de este análisis se ocupó el programa EstimateS 7.0 (Colwell, 2004).

Se calcularon los índices de diversidad Shannon y Simpson, el primero fue para contrastar estadísticamente los valores observados por cultivo mediante la prueba t de Hutcheson (Zar, 1999), el segundo índice permitió calcular el índice de dominancia ($1/\lambda$) (Ludwing & Reynolds, 1988) y el índice de igualdad de Pielou's (J'), estos análisis se llevaron a cabo con el programa PAST (Hammer, Harper & Ryan, 2001).

Con el fin de minimizar la variabilidad entre los cultivos, los datos de abundancia fueron transformados a $\sqrt{n+0.5}$ (Zar, 1999), y se realizó un análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis, en caso de encontrar diferencias significativas se aplicó una prueba de rangos con el programa Infostat (Di Rienzo, y otros, 2011).

Los datos de abundancia del estatus migratorio de cada especie fueron usados para calcular las curvas de rango-abundancia de Whittaker con el programa Biodiversity pro version 2 (McAleece, 1997). Las curvas fueron graficadas usando el logaritmo de la proporción de cada especie (n/N), y los datos ordenados de la mayor a menor abundancia. Los datos de abundancia también fueron transformados a $\sqrt{n+0.5}$ y comparados con la prueba U Mann-Whitney.

Con el fin de reconocer posibles diferencias entre las comunidades de arvenses en los cultivos se llevó a cabo un Análisis Discriminante (AD) con el programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2011).

RESULTADOS

Abundancia y diversidad de plantas arvenses

Se registraron 15 familias y 28 especies de plantas arvenses, de acuerdo con las curvas de máximo potencial de especies se obtuvo la mayor parte de la representatividad de la comunidad vegetal (Fig. 1). Las familias más representativas fueron: Asteraceae (S= 10), Brassicaceae (S= 4) y Solanaceae (S= 2) (Tabla 1). Del número total de especies 60.7 % fueron nativas (S= 17) y 39.2 % exóticas (S= 11) pertenecientes a 11 y 6 familias respectivamente, siendo Asteraceae la de mayor cantidad de especies nativas (S= 4), mientras que las especies exóticas fueron comúnmente encontradas en Asteraceae y Brassicaceae (Tabla 2). En este estudio cinco especies fueron muy abundantes, cuatro de ellas nativas: *Parthenium hysterophorus* L. (Asteraceae), *Portulaca oleracea* L. (Portulacaceae), *Amaranthus hybridus* L. (Amaranthaceae) y *Tithonia tubaeformis* (Jacq.) Cass. (Asteraceae). *Brassica nigra* (L.) W.D.J. Koch (Brassicaceae) fue la especie exótica más abundante (Tabla 1).

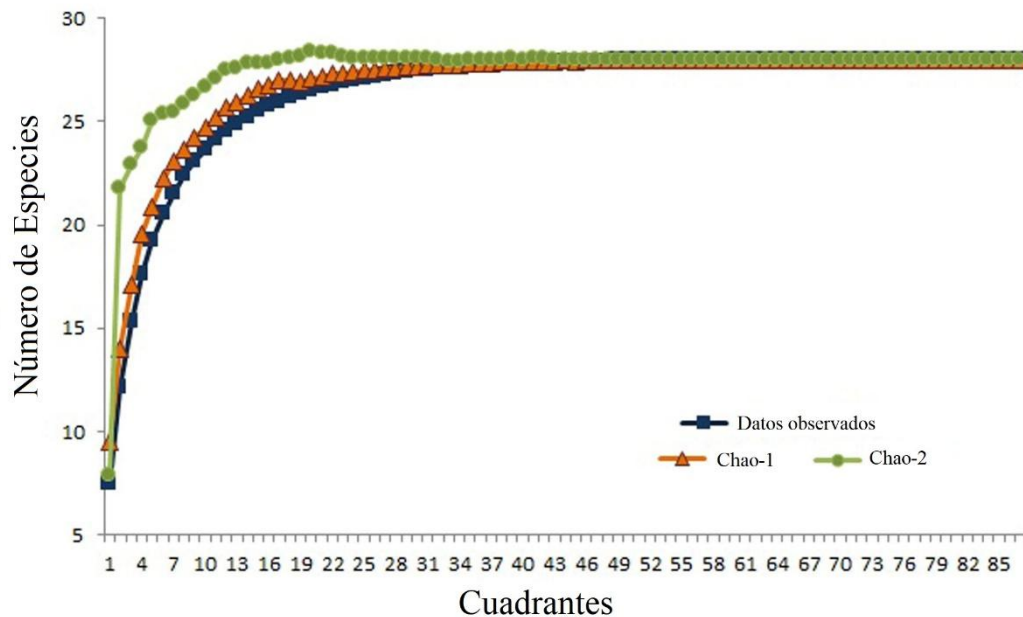


Fig. 1. Curvas de acumulación máxima de especies con los modelos de Chao 1 y Chao 2 para las especies observadas en el estudio.

Tabla 1. Listado de presencia-ausencia y cantidad total de especies arvenses en maíz (mz), trigo (tg) y sorgo (sg); ab= abundancia (media \pm EE); Em = estatus migratorio (N = nativa, E = exótica).

Familia/Especie	mz	tg	sg	ab	Em
Aizoaceae					
<i>Trianthema portulacastrum</i> L.	X	X	-	44 (0.5 \pm 0.1)	N
Amaranthaceae					
<i>Amaranthus hybridus</i> L.	X	X	X	120 (1.3 \pm 0.1)	N
Asteraceae					
<i>Bidens pilosa</i> L.	X	-	-	23 (0.2 \pm 0.2)	N
<i>Flaveria trinervia</i> (Spreng.) C. Mohr	X	-	-	8 (0.09 \pm 0.1)	N
<i>Galinsoga parviflora</i> Cav.	X	-	X	24 (0.2 \pm 0.1)	N
<i>Helminthotheca echioides</i> (L.) Holub	-	X	-	27 (0.3 \pm 0.1)	E
<i>Lactuca serriola</i> L.	X	-	-	6 (0.06 \pm 0.1)	E
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	X	X	X	231 (2.6 \pm 0.2)	N
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	X	X	X	71 (0.8 \pm 0.1)	E
<i>Taraxacum officinale</i> F.H. Wigg.	X	-	X	46 (0.5 \pm 0.1)	E
<i>Tithonia tubaeformis</i> (Jacq.) Cass.	X	X	-	108 (1.2 \pm 0.2)	N
<i>Zinnia haageana</i> Regel	X	X	X	99 (1.1 \pm 0.1)	N
Brassicaceae					
<i>Brassica nigra</i> (L.) W.D.J. Koch	X	X	X	105 (1.1 \pm 0.1)	E
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik.	X	-	X	40 (0.4 \pm 0.1)	E
<i>Lepidium virginicum</i> L.	X	-	-	21 (0.2 \pm 0.1)	N
<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	-	X	-	17 (0.1 \pm 0.1)	E
Convolvulaceae					
<i>Convolvulus arvensis</i> L.	X	X	X	35 (0.3 \pm 0.1)	E
Euphorbiaceae					
<i>Ricinus communis</i> L.	X	-	-	11 (0.1 \pm 0.1)	E
Lamiaceae					
<i>Salvia tiliifolia</i> Vahl	X	-	-	40 (0.4 \pm 0.1)	N

Familia/Especie	mz	tg	sg	ab	Em
Malvaceae					
<i>Anoda cristata</i> (L.) Schltld.	X	X	-	48 (0.5 ±0.1)	N
Onagraceae					
<i>Oenothera rosea</i> L'Hér. ex Aiton	X	-	-	14 (0.1 ±0.1)	N
Orobanchaceae					
<i>Castilleja arvensis</i> Schltld. & Cham.	X	-	-	51 (0.5 ±0.1)	N
Papaveraceae					
<i>Argemone ochroleuca</i> Sweet	X	-	X	11 (0.1 ±0.1)	N
Polygonaceae					
<i>Rumex longifolius</i> DC.	X	X	X	44 (0.5 ±0.1)	E
Portulacaceae					
<i>Portulaca oleracea</i> L.	X	X	X	136 (1.5 ±0.1)	N
Primulaceae					
<i>Lysimachia arvensis</i> subsp. <i>Arvensis</i>	X	-	-	61 (0.6 ±0.2)	E
Solanaceae					
<i>Calibrachoa parviflora</i> (Juss.) W.G. D'Arcy	X	X	X	89 (1.0 ±0.1)	N
<i>Physalis nicandroides</i> Schltld.	X	-	-	7 (0.07 ±0.1)	N

Tabla 2. Cantidad de especies arvenses nativas y exóticas por familia taxonómica.

Familias	Arvenses Nativas	Arvenses Exóticas
Aizoaceae	1	-
Amaranthaceae	1	-
Asteraceae	6	4
Brassicaceae	1	3
Convolvulaceae	-	1
Euphorbiaceae	-	1
Lamiaceae	1	-
Malvaceae	1	-
Onagraceae	1	-
Orobanchaceae	1	-
Papaveraceae	1	-
Polygonaceae	-	1
Portulacaceae	1	-
Primulaceae	-	1
Solanaceae	2	-

El resultado de la prueba de Mann-Whitney encontró diferencias significativas en la abundancia entre plantas nativas y exóticas ($U= 361$, $p= 0.02$), siendo las primeras más abundantes (Mediana \pm Desviación Intercuartil = 36.9 ± 21.6) con respecto a las arvenses exóticas (12.6 ± 15.5). También hubo diferencias significativas en el índice de diversidad de Shannon ($t_{0.5(2)1137.8} = 7.28$, $p < 0.0001$) entre nativas ($H' = 2.44$) y exóticas ($H' = 2.18$). Sin embargo, la igualdad fue menor para las especies de arvenses nativas ($J' = 0.72$) que en las exóticas ($J' = 0.82$). La alta abundancia de *P. hysterothorus* puede ser la respuesta a este resultado (Fig. 2).

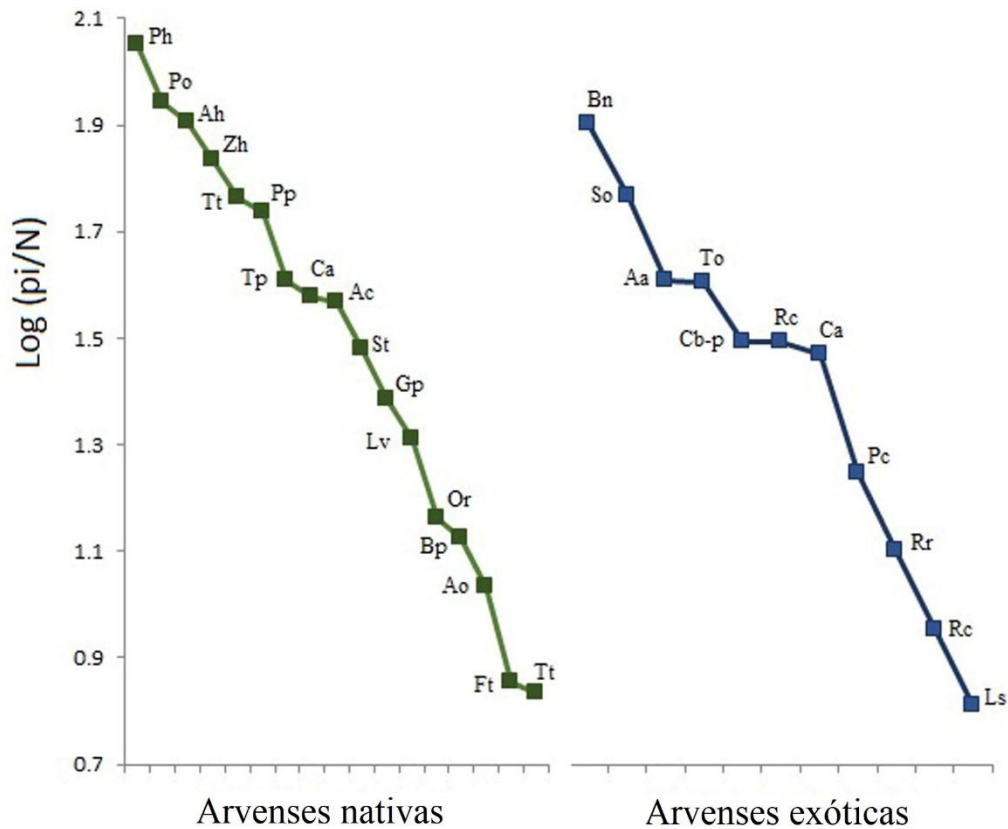


Fig. 2. Curvas de Rango-Abundancia ordenadas de mayor a menor abundancia. Las letras representan el nombre científico de las especies enlistadas en la tabla 1.

Riqueza y diversidad de plantas arvenses por cultivo

Se encontró la mayor riqueza de especies en mz ($S=26$), mientras que tg y sg tuvieron 14 y 13 especies respectivamente. Las curvas de acumulación máxima de especies indican que se obtuvo la mayor cantidad de especies en mz y tg. Pero en sg no se logró llegar a la asíntota en la curva, lo que sugiere incrementar el esfuerzo de muestreo (Fig. 3).

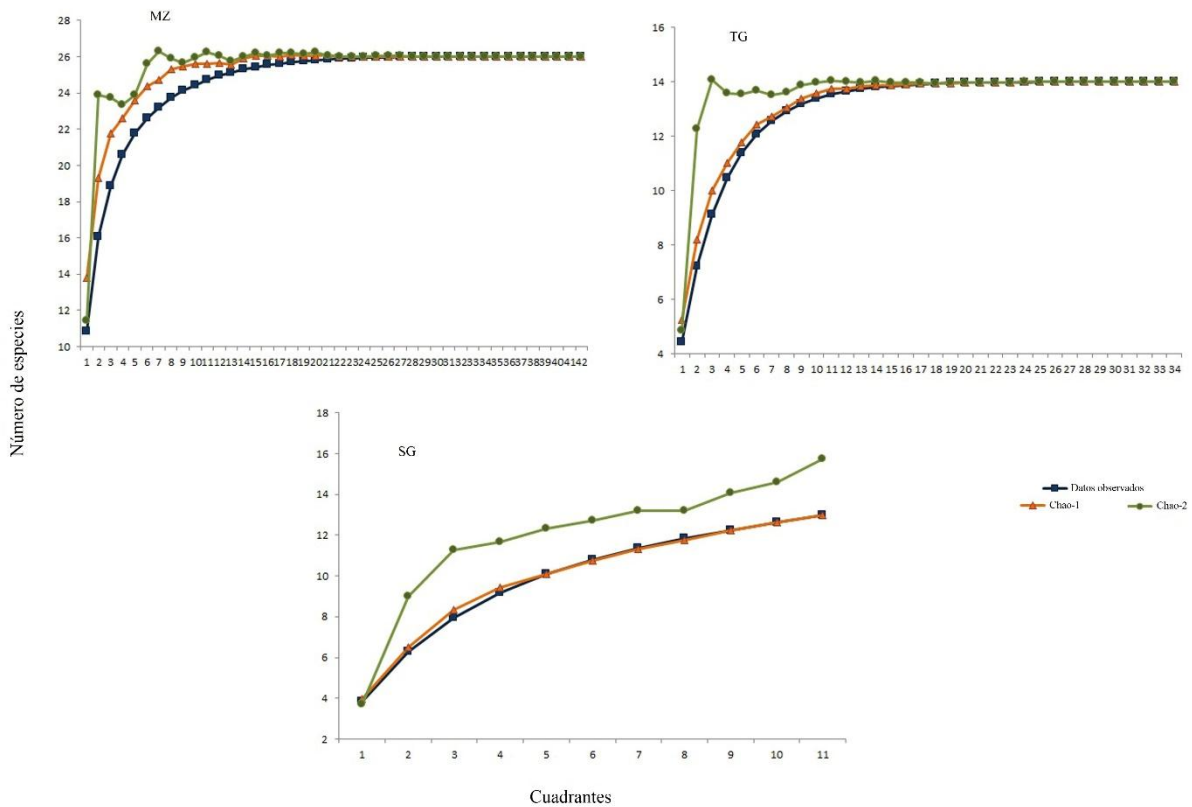


Fig. 3. Riqueza máxima potencial de especies por Chao 1 y 2 para mz, tg y sg.

De acuerdo con el resultado de t-Hutcheson, mz tuvo la mayor diversidad de plantas arvenses (mz-tg: $t_{0.05(2)845.2} = 12.48$, $p < 0.0001$; mz-sg: $t_{0.05(2)139.07} = 9.66$, $p < 0.0001$) y sg el valor más bajo de diversidad (tg-sg: $t_{0.05(2)150.7} = 3.96$, $p < 0.001$). El valor de la dominancia fue bajo en mz y más grande en sg, en contraste el valor de igualdad fue alto en mz y bajo en sg (Tabla 3).

La mayor proporción de riqueza de especies nativas y exóticas se encontró en mz (60.7 %, $S = 17$ y 32.1 %, $S = 9$ respectivamente), mientras que tg and sg tuvieron proporciones similares: 28.5 % ($S = 8$) para nativas, 21.4 % ($S = 6$) para exóticas y 25 % ($S = 7$) y 21.4 % ($S = 6$), respectivamente. Mz tuvo la mayor diversidad de arvenses nativas (mz-tg: $t_{0.05(2)453.9} = 12.87$, $p < 0.0001$; mz-sg: $t_{0.05(2)282.35} = 16.72$, $p < 0.0001$) y sg presentó la menor diversidad (sg-tg: $t_{0.05(2)282.35} = 4.58$, $p < 0.0001$). Con respecto a la diversidad de arvenses exóticas, la comparación encontró a mz como el más diverso (mz-tg: $t_{0.05(2)325.46} = 5.30$, $p < 0.0001$; mz-sg: $t_{0.05(2)32.17} = 3.26$, $p = 0.002$), mientras que tg y sg no tuvieron diferencias significativas en su diversidad. La dominancia de plantas arvenses exóticas fue mayor que en especies nativas, en este caso la igualdad fue muy similar entre cultivos (Tabla 3).

Tabla 3. Dominancia ($1/\lambda$), igualdad (J') y diversidad (H') arvenses en: mz= maíz, tg= trigo, sg= sorgo); N = especies nativas, E = especies exóticas.

	mz	tg	sg	mzN	tgN	sgN	mzE	tgE	sgE
$1/\lambda$	0.067	0.093	0.14	0.10	0.16	0.21	0.15	0.21	0.28
J'	0.90	0.94	0.84	0.88	0.92	0.92	0.88	0.92	0.81
H'	2.94	2.48	2.16	2.51	1.91	1.65	1.94	1.65	1.45

Composición de las poblaciones de plantas arvenses

Se registró un total de 1537 plantas, el 69.1% se encontraron en maíz, 23.3% en trigo y 7.6% en sorgo. Los resultados de Kruskal-Wallis mostraron diferencias significativas en la mediana de plantas obtenidas por cultivo ($\chi^2_{(0.05)2}=26.27$, $p<0.0001$). Maíz tuvo la mayor abundancia de arvenses ($n= 1063$, mediana = 0.90, Desviación Intercuartil = ± 0.03). La prueba de rangos no mostró diferencias entre tg ($n= 356$, 0.36 ± 0.05) y sg ($n= 118$, 0.38 ± 0.10).

La mayor abundancia tanto de nativas como de exóticas fue registrada en mz (72.4% y 61.5% respectivamente); después tg (nativa = 19.2% exótica = 32.1%) y finalmente sg (nativa = 8.2% exótica = 6.2%). El resultado de la comparación mostró una diferencia estadística en cuanto a la abundancia de arvenses nativas ($\chi^2_{(0.05)2}=24.27$, $p<0.0001$), la prueba de rangos sugirió una clara separación de mz y los otros cultivos (30.2 ± 24.0), y no detectó diferencia entre tg y sg (16.7 ± 14.5 y 7.5 ± 5.4 , respectivamente). Tomando en cuenta a las arvenses exóticas, las diferencias fueron constantes en los datos ($\chi^2_{(0.05)2}=7.34$, $p<0.0218$), de nuevo mz tuvo la mayor abundancia (29.6 ± 30.5) y sg la más baja (2.1 ± 4.3).

Las especies no fueron igualmente abundantes entre los cultivos, por ejemplo *P. hysterophorus* ($n=178$, prom.= 4.2 E.E.= ± 0.27), *P. oleracea* ($n= 81$, 1.9 ± 0.17) y *A. hybridus* ($n= 70$, 1.6 ± 0.19) fueron las arvenses nativas más abundantes en mz, mientras que las arvenses exóticas más abundantes en este mismo cultivo fueron: *Lysimachia arvensis* subsp. *arvensis* ($n= 61$, 1.4 ± 0.31), *B. nigra* ($n= 51$, 1.2 ± 0.18) y *Sonchus oleraceus* L. ($n= 51$, 1.2 ± 0.17). En tg las arvenses nativas más abundantes fueron: *T. tubaeformis* ($n= 49$, 1.4 ± 0.41), *P. oleracea* ($n= 40$, 1.1 ± 0.23) y *A. hybridus* ($n= 37$, 1.0 ± 0.24), y las exóticas: *B. nigra* ($n= 51$, 1.5 ± 0.17), *Convolvulus arvensis* L. ($n= 29$, 0.8 ± 0.2) y *Helminthotheca echioides* L. ($n= 27$, 0.7 ± 0.27). En sg, la arvense nativa *P. hysterophorus* fue la más abundante ($n = 34$, 3.0 ± 0.56), y dos arvenses exóticas: *Rumex crispus* L. ($n= 11$, 1.0 ± 0.61) y *S. oleraceus* ($n= 10$, 0.9 ± 0.38).

El resultado del AD indicó diferencias entre las comunidades de arvenses, con el 83.5% de la varianza explicada el primer eje separó a los tres cultivos. Los centroides para este eje mostraron un valor positivo para mz (2.38) y negativo para tg (-2.74) y sg (-1.41), lo que indica una clara diferencia en la composición de especies de arvenses entre los cultivos. De acuerdo con las variables estandarizadas en las funciones discriminantes, cuatro arvenses fueron importantes en el primer eje canónico, tres de éstas fueron arvenses nativas: *Bidens pilosa* L., *Salvia tiliifolia* Vahl. y *C. arvensis*, así como una arvense exótica: *Taraxacum officinale* F.H. Wigg. El error medio aparente de la ordenación fue de 6.1% (Fig. 4).

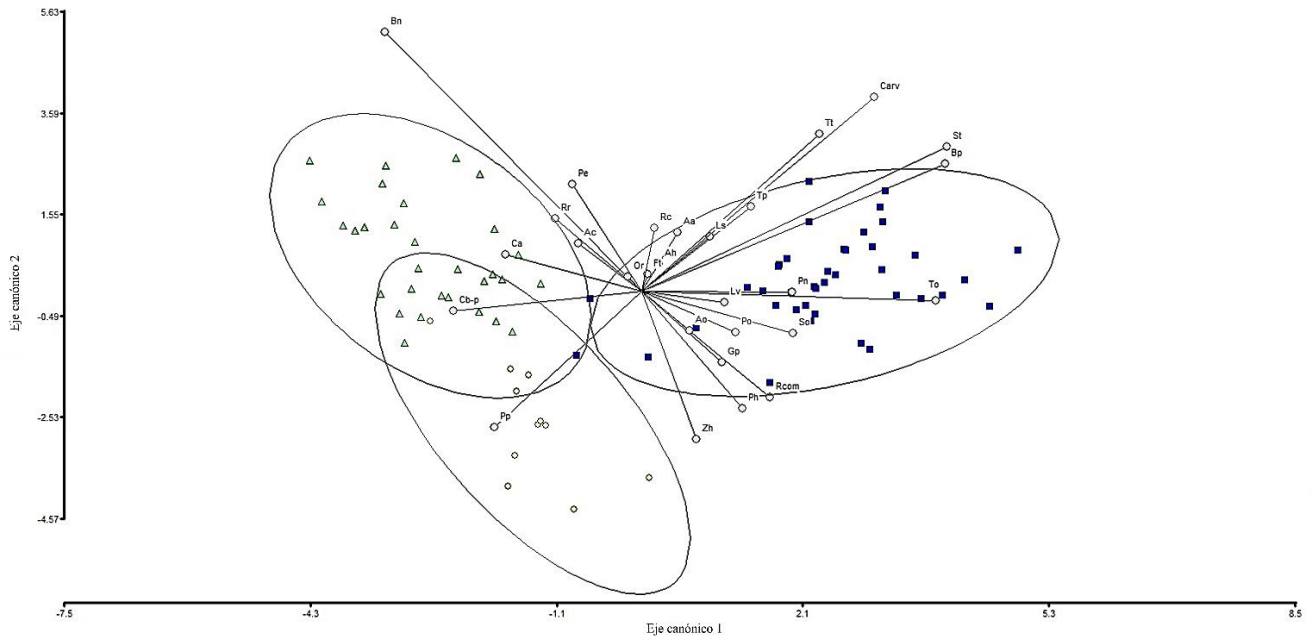


Fig. 4. Bi plot del Análisis de Discriminante (AD). El primer eje canónico explicó el 83.59 % de la varianza y el segundo el 16.41 %. Cuadros = mz, círculos = sg y triángulos = tg. Datos transformados a $\sqrt{n+0.5}$.

DISCUSIÓN

A pesar de la proximidad entre cultivos la abundancia, la riqueza y la diversidad de plantas arvenses fue diferente. Esto resalta la importancia de la heterogeneidad que es promovida por factores relacionados con el manejo tales como el tipo de cultivo, rotaciones y labores culturales, entre otros (Roschewitz, Gabriel, Tschardtke, & Thies, 2005; Blanco & Leyva, 2010). Estos factores no sólo afectan la presencia y la abundancia de plantas arvenses, sino que también influyen en la composición de las comunidades, la igualdad y la diversidad (Mhlanga *et al.*, 2015). Nowak *et al.* (2015) mencionan que las prácticas agrícolas están íntimamente relacionadas con la composición de especies arvenses. Esto puede ser observado en las curvas de Rango Abundancia y en el resultado del AD, en ambos resultados se muestra una composición distinta de las comunidades de arvenses. Además, el valor de la dominancia fue mayor en sg, intermedio en tg y bajo en mz, lo que se refleja a su vez en los valores de igualdad, en este caso fueron similares entre tg y mz, pero bajo en sg. El valor bajo de la igualdad observada en sg, se asoció con un índice bajo de diversidad.

Sobresale el resultado de la diversidad observada en mz, en este cultivo se encontraron la mayor riqueza, abundancia y diversidad de arvenses en comparación con tg y sg. Incluso los valores de la riqueza de especies de arvenses de mz, comparados con otros reportes, sugieren niveles similares o al menos dentro del rango de la riqueza de especies observada en otros agroecosistemas. Por ejemplo, la riqueza a nivel de parcelas en campos de maíz del Lago de Cuitzeo, Michoacán, osciló entre 16 y 17 especies durante un periodo de muestreo de dos meses: octubre y noviembre (Sánchez-Blanco & Guevara-Féfer, 2013); Silva-Aparicio y otros (2003) reportaron 28 especies de arvenses en campos de maíz de temporal en muestreos realizados de mayo a septiembre. En contraste, en cultivos tradicionales como el sistema milpa (Albino-García, Cervantes, López, Ríos-Casanova & Riva, 2011), monitoreando durante 12 meses encontraron 40 especies de plantas arvenses en un área semi-árida de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla y Rivera-Ramírez *et al.* (2021) reportaron 42 especies en muestreos que

ocurrieron de junio a noviembre. Con respecto a estos últimos casos, donde la agricultura tradicional a través de los policultivos y manejos culturales promueve una mayor riqueza de especies, es notable que el uso de herbicidas en la agricultura intensiva, como el objeto del presente estudio, ha ejercido su función deletérea sobre la riqueza de plantas arvenses.

No obstante, se observa un patrón interesante en el valor del índice de diversidad obtenido en el cultivo mz ($H' = 2.94$), pues fue mayor al promedio de los registros de Albino-García, Cervantes, López, Ríos-Casanova & Riva (2011) en 11 campos de maíz en sistema milpa ($H' = 1.4$); lo mismo ocurre cuando se compara el resultado de mz con el trabajo de Rivera-Ramírez *et al.* (2021) llevado a cabo en dos parcelas de sistema milpa y en dos de cultivos de maíz tecnificado, aquí la diversidad promedio de todo el estudio fue de $H' = 2.0$. Para tg también se obtuvo una diversidad mayor ($H' = 2.48$) a la encontrada en otros estudios donde se han manejado distintos tipos de labranza para el control de arvenses en trigo; por ejemplo, Woźniak (2018) encontró diversidades de $H' = 0.81$ a 1.07 , sólo para sg el valor de diversidad fue menor a otros reportes de arvenses en sorgo (Giancotti *et al.*, 2017). Inclusive la diversidad arvense promedio de todo el trabajo presentado aquí ($H' = 2.52$), es mayor a los valores promedio de estudios hechos en otras partes del mundo; Godoy *et al.* (1995) encontraron una diversidad de $H' = 2.46$ en parcelas de maíz intercalado con frijol en un estudio de monitoreo de tres años en el Valle del Yeguaré, Honduras; Légère *et al.* (2005), en un estudio de tres años bajo condiciones experimentales de labranza de un cultivo de Cebada en Quebec, Canadá, encontraron una diversidad de $H' = 2.0$; en China se monitoreó la diversidad de arvenses ($H' = 0.44$) en cultivos sujetos a condiciones distintas de fertilización (Yin, Cai & Zhong, 2006); y en localidades del norte de España en parcelas manejadas orgánicamente la diversidad fue de $H' = 2.0$ (Armengot, José-María, Chamorro & Sans, 2013).

La comparación de los resultados de este estudio con aquellos provenientes de sistemas de cultivo con menor uso de insumos agroquímicos hace posible diferir de la idea que el control químico contra plantas arvenses es capaz de disminuir la diversidad vegetal (Légère, Stevenson & Benoit, 2005), de hecho el uso de herbicidas en los cultivos aquí estudiados puede ser poco efectivo para el control de las arvenses, pues la diversidad es alta en comparación con reportes donde se ha evaluado el efecto de los herbicidas sobre la diversidad, Mayerová *et al.* (2018) encontraron valores de diversidad de $H' = 1.61$ - 1.90 , donde se evaluó la eficiencia de diferentes herbicidas selectivos. Todo lo anterior sugiere que no necesariamente los sistemas de cultivo tradicional como las milpas o aquellos manejados con un enfoque orgánico, son capaces de albergar una alta diversidad de plantas arvenses. Entonces, además del manejo como la labranza, la fertilización, el tipo de cultivo y la aplicación de herbicidas, otros factores como los centros de origen de las especies cultivadas y la posición biogeográfica, pueden estar involucrados en la diversidad de la vegetación arvense. Fried *et al.* (2019) encontraron una influencia importante de la estacionalidad y de las variaciones a nivel regional (suelo, pH, entre otros), sobre la determinación de la composición de las comunidades de plantas arvenses.

En los cultivos estudiados la alta proporción de arvenses nativas, su abundancia, riqueza de especies y su diversidad, parecen indicar que aún son un componente importante del ambiente. Es notable en mz la baja cantidad de arvenses exóticas, la baja cantidad de especies muestra que la diversidad local es importante para la producción (Fernández & Marasas, 2015). Además, se ha sugerido que altos niveles de diversidad y de riqueza de especies hacen a los ecosistemas naturales más resilientes contra especies invasoras; esto puede estar ocurriendo en ecosistemas antropizados como las tierras de cultivo, donde han sido reconocidos distintos servicios ofrecidos por la diversidad al agroecosistema (Thrupp, 2000; Storkey & Neve, 2018). La notable proporción de especies nativas en la flora arvense de los cultivos estudiados incrementa la importancia ecológica de este grupo de plantas para los cultivos en principio, a través de la polinización (Hernández-Villa, Vibrans, Uscanga-Mortera & Aguirre-Jaimes, 2020), por lo que los beneficios potenciales que esta diversidad proporciona a la agricultura intensiva pueden ser aún mayores.

La composición de arvenses en los monocultivos fue diferente, esto indica que las especies pueden responder a condiciones microclimáticas modificadas por el manejo de los cultivos. Esta respuesta es importante en las plantas arvenses, porque se ven afectadas a escala local del paisaje y por pequeños cambios espaciales en la heterogeneidad ambiental (Gaba, Chauvel, Dessaint, Bretagnoelle, & Petit, 2010), dichos factores hacen que la composición de comunidades de plantas sea diferente, con la presencia de distintas especies y su abundancia. En este sentido algunas especies fueron específicas a un cultivo en particular, por ejemplo *C. arvensis* y *Calibrachoa parviflora* (Juss.) W.G. D'Arcy tuvieron afinidad en tg y sg respectivamente. *Convolvulus arvensis* es reconocida como una planta competidora con el cultivo de trigo y capaz de modificar su estructura morfológica y reproductiva dependiendo del estrés ambiental (Gianoli, 2004); mientras que *C. parviflora* aunque no hay información sobre su papel como maleza en cultivos, Sierra-Muñoz; Siqueiros-Delgado *et al.* (2015) la describen como una planta de vegetación secundaria y sensible al fuego. Otras especies interesantes fueron *Flaveria trinervata* (Spreng.) C. Mohr reportada en varios tipos de ambientes naturales (González, Giménez de, García & Aguirre-Rivera, 2007); *T. officinale* como bioindicador de alta fertilidad (Carlesi & Bàrberi, 2017) o *Physalis nicandroides* Schltld., como una especie con potencial de ser un cultivo alternativo (Singh *et al.*, 2014), todas estas especies se establecieron en mz.

Aunque las plantas arvenses no son deseables para los productores, hay evidencia sobre la importancia de la biodiversidad de este grupo vegetal y de los beneficios que proporcionan estas plantas a los agroecosistemas (Storkey & Neve, 2018). Fernández *et al.* (2001) encontraron que *P. hysterothorus* es un hospedero recurrente para himenópteros, coleópteros y dípteros, que incluyen polinizadores, depredadores y parasitoides, también se ha encontrado que esta especie puede mejorar las propiedades químicas del suelo al incrementar el contenido de materia orgánica (Etana, Kelbessa, & Soromessa, 2015). *Brassica nigra* es otra arvense interesante pues tiene una influencia notable sobre las preferencias de ovoposición de insectos plaga y sobre la abundancia de parasitoides (Kaasik *et al.*, 2014). Desde el punto de vista cultural, se pueden encontrar otros aspectos positivos de esta arvense en medicina, nutrición y forraje. En África, *A. hybridus* está siendo considerada un cultivo prometedor debido a su resistencia a la sequía, a las plagas y a las enfermedades y sobre todo por su gran valor nutricional y de forraje (Achigan-Dako, Sogbohossou & Maundu, 2014).

A pesar del uso de herbicidas mz es un cultivo interesante porque promueve la presencia de muchas especies de plantas arvenses, incrementando así su biodiversidad y permitiendo a su vez el mantenimiento de interacciones ecológicas muchas de ellas importantes para la producción. Considerando que las plantas arvenses también tienen una importancia ecológica, económica y cultural, la diversidad de estas plantas en cultivos de maíz puede tener implicaciones no solamente ecológicas, sino también culturales, por lo que los estudios sobre manejo, control y funcionalidad ecológica de plantas arvenses deben propiciarse a través aproximaciones transdisciplinarias como la agroecología a que den información completa a los gestores de manejo y planes de desarrollo rural.

CONCLUSIONES

Los cultivos estudiados poseen una riqueza de 28 plantas arvenses con una diversidad de $H' = 2.94$ para mz y $H' = 2.52$ promedio general de todo el estudio, que puede ser considerada alta cuando se compara con valores encontrados en otros estudios en agroecosistemas en diferentes partes del mundo. La alta proporción de especies nativas (60.7%) con respecto a las exóticas sugiere que la diversidad arvense aún es un elemento importante asociado a la producción agrícola de la zona a pesar del control con herbicidas al que han estado sujetas las plantas arvenses. Dado que muchas de estas plantas representan recursos naturales que ofrecen beneficios a los agroecosistemas y que su abundancia y diversidad responde a múltiples factores, su estudio debe fundamentarse en una visión que integre distintas disciplinas

científicas en un marco de desarrollo agroecológico, que permitan perspectivas multi y transdisciplinarias, que ayuden a disminuir la dependencia en el uso de herbicidas en sistemas de agricultura intensiva como la del Bajío Guanajuatense.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato, por el apoyo brindado para la realización de la investigación y a la Biól. Alicia Saucedo Barajas por su apoyo en campo.

LITERATURA CITADA

- Achigan-Dako, E. G., Sogbohossou, O. D., & Maundu, P. (2014). Current knowledge on *Amaranthus* spp.: research avenues for improved nutritional value and yield in leafy amaranthus in sub-Saharan Africa. *Euphytica*, 197, 303-317. doi:<https://doi.org/10.1007/s10681-019-2468-4>.
- Albino-García, C., Cervantes, H., López, M., Ríos-Casanova, L., & Riva, R. (2011). Patrones de diversidad y aspectos etnobotánicos de las plantas arvenses del valle de Tehuacán-Cuicatlán: el caso de san Rafael, municipio de Coxcatlán, Puebla. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82, 1005-1019.
- Armengot, L., José-María, L., Chamorro, L., & Sans, F. X. (2013). Weed harrowing in organically grown cereal crops avoids yield losses without reducing weed diversity. *Agronomy for Sustainable Development*, 33, 405-411. doi:DOI 10.1007/s13593-012-0107-8.
- Bengtsson, J., Ahnström, J., & Weibull, A. (2005). The effects of organic agriculture on biodiversity and abundance: a meta-analysis. *Journal of Applied Ecology*, 42, 261-269. doi:10.1111/j.1365-2664.2005.01005.x
- Blancas, J., Casas, A., Pérez-Salicrup, D., Caballero, J., & Vega, E. (2013). Ecological and socio-cultural factors influencing plant management in Nahuatl communities of the Tehuacán valley, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9, 39. doi:10.1186/1746-4269-9-39.
- Blanco, Y., & Leyva, Á. (2010). Abundancia y diversidad de especies de arvenses en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.) precedido de un barbecho transitorio después de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Cultivos Tropicales*, 12-16.
- Calderón de Rzedowski, G. & Rzedowski, J. (2004). Manual de malezas de la región de Salvatierra, Guanajuato. *Flora del bajío y de regiones adyacentes*, 1-320.
- Calderón de Rzedowski, G., & Rzedowski, J. (2005). *Flora del valle de México*. Pátzcuaro, Michoacán, México: Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Carlesi, S., & Bàrberi, P. (16 de 01 de 2017). *www.fertilcrop.net*. Recuperado el 16 de 01 de 2019, de *www.fertilcrop.net*: <https://orgprints.org/id/eprint/31696/1/Carlesi-Barberi-2017-bioindicators-TechnicalNote-FertilCrop.pdf>.
- Colwell, R. (15 de Octubre de 2004). *EstimateS: statistical estimation of species richness and shared species for samples, Version 7*. Obtenido de <http://viceroy.eeb.uconn.edu/estimates>.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., González, L., Tablada, M., & Robledo, C. (2011). *InfoStat versión 2011*. Argentina: Grupo InfoStat, FCA.
- Espinosa, G., & Sarukhán, J. (1997). *Manual de malezas del valle de México*. México: Fondo de cultural Económica.
- Etana, A., Kelbessa, E., & Soromessa, T. (2015). Impact of *Parthenium hysterophorus* L. (Asteraceae) on soil chemical properties and its distribution in a reserve area: a case study in Awash National Park (ANP), Ethiopia. *Journal of Soil Science and Environmental Management*, 6(5), 116-124. doi:<https://doi.org/DOI 10.5897/JSSEM12.015>.

- Fernández, T. J., Garcés, G. G., Portuondo, F. E., Valdés, T. P., & Expósito, E. I. (2001). Insectos asociados con flores de malezas del Jardín Botánico de Santiago de Cuba, con énfasis en Hymenoptera. *Revista de Biología Tropical*, 49(3-4), 1013-1026.
- Fernández, V., & Marasas, M. (2015). Análisis comparativo del componente vegetal de la biodiversidad en sistemas de producción hortícola familias del Cordón Hortícola de la Plata (CHLP), Provincia de Buenos Aires, Argentina. Su importancia para la transición agroecológica. *Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata*, 14(3), 15-29.
- Fried, G., Cordeau, S., Metay, A., & Kazakou, E. (2019). Relative importance of environmental factors and farming practices in shaping weed communities structure and composition in French vineyards. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 275, 1-13. doi:<https://doi.org/10.1016/j.agee.2019.01.006>.
- Gaba, S., Chauvel, B., Dessaint, F., Bretagnoelle, V., & Petit, S. (2010). Weed species richness in winter wheat increases with landscape heterogeneity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 138, 318-323. doi:<https://doi.org/10.1016/j.agee.2010.06.005>.
- García, E. (2004). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Giancotti, P. F., Moro, M. S., Nepomuceno, M. P., Martins, P. R., Barroso, A. A., & Alves, P. L. (2017). Weed community interference and phytosociological studies in a sweet sorghum crop. *Planta Daninha*(35), e017154150. doi:DOI 10.1590/S0100-83582017350100051.
- Gianoli, E. (2004). Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Sciences*, 165 (5), 825-832. doi:<https://doi.org/10.1086/422050>.
- Godoy, G., Vega, J., & Pitty, A. (1995). El tipo de labranza afecta la flora y la distribución vertical del banco de semillas de malezas. *Ceiba*, 36 (2), 217-229.
- González, C. O., Giménez de, A. J., García, P. J., & Aguirre-Rivera, J. r. (2007). Flórula vascular de la Sierra de Catorce y territorios adyacentes, San Luis Potosí, México. *Acta Botánica Mexicana*, 78, 1-38.
- Hammer, O., Harper, D., & Ryan, P. (11 de febrero de 2001). *PAST: Paleontological Statistic Software Package for Education and Data Analysis*. *Palaeontologia Electronica* 4 (1). Obtenido de http://palaeo-electronica.org/2001_1/pas/issue1_01.htm.
- Hernández-Villa, V., Vibrans, H., Uscanga-Mortera, E., & Aguirre-Jaimes, A. (2020). Floral visitors and pollinator dependence are related to floral display size and plant height in native weeds of central Mexico. *Flora*, 262, 151505. doi:<https://doi.org/10.1016/j.flora.2019.151505>.
- INEGI. (Noviembre de 2011). http://www.antares.inegi.org.mx/analisis/red_hidro/SIATL/#.
- Jiménez-Valverde, A., & Hortal, J. (2003). Las curvas de acumulación de especies y la necesidad de evaluar la calidad de los inventarios biológicos. *Revista Ibérica de Aracnología*, 8(31), 151-161.
- Kaasik, R., Kovács, G., Kaart, T., Metspalu, L., Williams, I. H., & Veromann, E. (2014). *Meligethes aeneus* oviposition preferences, larval parasitism rate and species composition of parasitoids on *Brassica nigra*, *Raphanus sativus* and *Eruca sativa* compared with on *Brassica napus*. *Biological Control*, 69, 65-71. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.11.002>.
- Légère, A., Stevenson, F. C., & Benoit, D. L. (2005). Diversity and assembly of weed communities: contrasting responses across cropping systems. *Weed Research*, 45, 303-315. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-3180.2005.00459.x>.
- Letourneau, D., Armbrrecht, I., Salguero, R., Montoya, L., Jiménez, C., Daza, M., Reyes, T. (2011). Does plant diversity benefit agroecosystems? A synthetic review. *Ecological Application*, 9-21.
- López-Gómez, A., & Williams-Linera, G. (2006). Evaluación de métodos no paramétricos para la estimación de riqueza de especies de plantas leñosas en cafetales. *Boletín de la sociedad Botánica de México*, 78, 7-15. doi:10.17129/botsoci.1717.

- Loss, J. D. (2014). Plant diversity in a changing agricultural landscape mosaic in Southern Transylvania (Romania). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 350-357. doi:10.1016/j.agee.2014.10.013.
- Ludwig, J., & Reynolds, J. (1988). *Statistical ecology: A primer on methods and computing*. New Jersey: Wiley and Sons, Hoboken.
- Martínez-De la Cruz, I., Vibrans, H., Lozada-Pérez, L., Romero-Manzanares, A., Aguilera-Gómez, L., & Rivas-Manzano, I. (2015). Plantas ruderales del área urbana de Malinalco, Estado de México, México. *Botanical Sciences*, 93(4), 907-929. doi:10.17129/botsci.213.
- Mayerová, M., Mikulka, J., & Soukup, J. (2018). Effects of selective herbicide treatment on weed community in cereal crop rotation. *Plant, Soil and Environment*, 64(9), 413-420. doi:https://doi.org/10.17221/289/2018-PSE.
- McAleece, N. (1997). *Biodiversity Professional beta. Versión 2.0*. The Natural History Museum and The Scottish Association for Marine Science.
- Mhlanga, B., Cheesman, S., Maasdorp, B., Muoni, T., Mabasa, S., Mangosho, E., & Thierfelder, C. (2015). Weed community responses to rotations with cover crops in maize-based conservation agriculture systems of Zimbabwe. *Crop Protection*, 69, 1-8. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2014.11.010.
- Munro, N., Fisher, J., Wood, J., & Lindenmayer, D. (2009). Revegetation in agricultural areas the development of structural complexity and floristic diversity. *Ecological Applications*, 19(5), 1197-1210. doi:10.1890/08-0939.1.
- Nowak, A., Nowak, S., Nobis, M., & Nobis, A. (2015). Crop type and altitude are the main drivers of species composition of arable weed vegetation in Tajikistan. *Weed Research*, 55, 525-536. doi: https://doi.org/10.1111/wre.12165.
- Pérez-Ortega, M., Navarro-Garza, H., Flores-Sánchez, D., Ortega-García, N., & Tristán-Martínez, E. (2017). Plaguicidas altamente peligrosos utilizados en el Bajío de Guanajuato. En G. Benjarano, *Los plaguicidas altamente peligrosos en México. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México, A.C. (RAPAM)* (págs. 221-245). Texcoco, México.
- Perfecto, I., Mas, A., Dietsch, T., & Vandermeer, J. (2003). Conservation of biodiversity in coffee agroecosystems: a tri-taxa comparison in southern Mexico. *Biodiversity Conservation*, 12, 1239-1253.
- Rivera-Ramírez, I., Ríos-De la Cruz, A., Bravo-Avilé, D., Bernal-Ramírez, L. A., Velázquez-Cárdenas, Y., de Santiago-Gómez, J. R., Rendón-Aguilar, B. (2021). Riqueza, abundancia y composición de arvenses en parcelas sujetas a diferentes prácticas agrícolas en la Alcaldía de Cuajimalpa, Ciudad de México. *Revista Etnobiología*, 19(1), 129-155 .
- Roschewitz, I., Gabriel, D., Tschardt, T., & Thies, C. (2005). The effects of landscape complexity on arable weed species diversity in organic and conventional farming. *Journal of Applied Ecology*, 42, 873-882. doi:https://doi.org/10.1111/j.1365-2664.2005.01072.x.
- Sánchez-Blanco, J., & Guevara-Féfer, F. (2013). Plantas arvenses asociadas a cultivos de maíz de temporal en suelos salinos de la ribera del lago de Cuitzeo, Michoacán, México. *Acta Botánica Mexicana*, 105, 107-129.
- Sans, F. (2007). La diversidad de los agroecosistemas. *Ecosistemas*, 44-49.
- Sierra-Muñoz, J. C., Siqueiros-Delgado, M. E., Flores-Ancira, E., Moreno-Rico, O., & Arredondo-Figueroa, J. L. (2015). Riqueza y distribución de la Familia Solanaceae en el Estado de Aguascalientes, México. *Botanical Sciences*, 93(1), 97-117. doi:https://doi.org/10.17129/botsci.63.
- Silva-Aparicio, M., Castro-Ramírez, A. E., León-Cortés, J. L., & Ishiki-Ishihara, M. (2003). Entomofauna asociada a maíz de temporal con diferentes manejos de malezas en Chiapas, México. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*(70), 65-73.

Recibido:
19/julio/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- Singh, D., Ahmed, N., Lal, S., Mirza, A., Sharma, O., & Pal, A. (2014). Variation in growth, production and quality attributes of *Physalis* species under temperate ecosystem. *Fruit*, 69(1), 31-40. doi:10.1051/fruits/2013099.
- Smale, M., Bellon, M., & Aguirre, G. (2001). Maize, diversity, variety attributes and farmers choices in Southeastern Guanajuato, Mexico. *Economic Development and cultural change*, 50(1), 201-205. doi:10.1086/340010.
- Storkey, J., & Neve, P. (2018). What good is weed diversity? *Weed Research*, 58, 239-243. doi:https://doi.org/10.1111/wre.12310.
- Thrupp, L. A. (2000). Linking agricultural biodiversity and food security: the valuable role of sustainable agriculture. *International Affairs*, 76(2), 265-281.
- Woźniak, A. (2018). Effect of tillage system on the structure of weed infestation of winter wheat. *Spanish journal of agricultural research*, 16(4), 14. doi:https://doi.org/10.5424/sjar/2018164-12531.
- Yin, L., Cai, Z., & Zhong, W. (2006). Changes in weed community diversity of maize crops due to long-term fertilization. *Crop Protection*, 25, 910-914. doi:https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.11.013.
- Zar, J. (1999). *Biostatistical analysis*. New Jersey: Prentice Hall.

**GENETIC DIVERSITY AND GENETIC
STRUCTURE OF *Capsicum annuum* L.,
FROM WILD, BACKYARD AND
CULTIVATED POPULATIONS IN A
HETEROGENEOUS ENVIRONMENT IN
OAXACA, MEXICO**

**DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA
GENÉTICA DE *Capsicum annuum* L., DE
POBLACIONES SILVESTRES, DE
HUERTOS FAMILIARES Y
CULTIVADAS EN UN AMBIENTE
HETEROGÉNEO EN OAXACA, MÉXICO**

Toxqui-Tapia, R.; J.M. Peñaloza-Ramírez; A. Pacheco-Olvera; A.L. Albarran-Lara and K. Oyama.
GENETIC DIVERSITY AND GENETIC STRUCTURE OF *Capsicum annuum* L., FROM
WILD, BACKYARD AND CULTIVATED POPULATIONS IN A HETEROGENEOUS
ENVIRONMENT IN OAXACA, MEXICO.

DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Capsicum annuum* L., DE
POBLACIONES SILVESTRES, DE HUERTOS FAMILIARES Y CULTIVADAS EN UN
AMBIENTE HETEROGÉNEO EN OAXACA, MÉXICO.



GENETIC DIVERSITY AND GENETIC STRUCTURE OF *Capsicum annuum* L., FROM WILD, BACKYARD AND CULTIVATED POPULATIONS IN A HETEROGENEOUS ENVIRONMENT IN OAXACA, MEXICO.

DIVERSIDAD GENÉTICA Y ESTRUCTURA GENÉTICA DE *Capsicum annuum* L., DE POBLACIONES SILVESTRES, DE HUERTOS FAMILIARES Y CULTIVADAS EN UN AMBIENTE HETEROGÉNEO EN OAXACA, MÉXICO.

Toxqui-Tapia, R.;
J.M. Peñaloza-Ramírez;
A. Pacheco-Olvera;
A.L. Albarran-Lara
& K. Oyama.

GENETIC DIVERSITY AND
GENETIC STRUCTURE OF
Capsicum annuum L., FROM
WILD, BACKYARD AND
CULTIVATED
POPULATIONS IN A
HETEROGENEOUS
ENVIRONMENT IN
OAXACA, MEXICO.

DIVERSIDAD GENÉTICA Y
ESTRUCTURA GENÉTICA
DE *Capsicum annuum* L., DE
POBLACIONES
SILVESTRES, DE HUERTOS
FAMILIARES Y
CULTIVADAS EN UN
AMBIENTE
HETEROGÉNEO EN
OAXACA, MÉXICO.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 87-103. Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.6

R. Toxqui-Tapia

*Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia,
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Col. Ex-Hacienda de San José de la
Huerta, 58190, Morelia, México (Phone: +52 (443) 322-27-04).*

J. M. Peñaloza-Ramírez / jmpenalo@uacam.mx

*Centro de Estudios de Desarrolló Sustentable y Aprovechamiento de la vida
Silvestre, CEDESU, Universidad Autónoma de Campeche, UAC. Campus 6, Avenida
Héroe de Nacozari #480, San Francisco de Campeche, México*

A. Pacheco-Olvera

*Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS),
Carr. Culiacán-El Dorado Km 17.5. Tel. y Fax 01 (667) 846-1084.
Apdo. Postal 726. Culiacán Sinaloa, México.*

L. Albarran-Lara

K. Oyama

*Escuela Nacional de Estudios Superiores Unidad Morelia,
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Col. Ex-Hacienda de San José de la
Huerta, 58190, Morelia, México (Phone: +52 (443) 322-27-04).*

RESUMEN: Las especies domesticadas han sido expuestas a presiones selectivas que regulan la estructura genética y divergencia entre poblaciones. Estimamos la diversidad genética, la estructura, la endogamia, el tamaño efectivo de la población, los cuellos de botella poblacionales y la divergencia del nicho ecológico, de poblaciones silvestres, de huertos familiares y cultivadas de *C. annuum*. Analizamos, 13 poblaciones en Oaxaca, México y usando siete marcadores de microsatélites nucleares. Las poblaciones de *C. annuum*, mostraron niveles altos de diversidad genética en poblaciones silvestres, de huertos familiares y cultivadas. Los chiles domesticados, en hábitats agrícolas tradicionales, contienen variedades genéticas únicas y por lo tanto, actúan como reservorios de variación genética y conservan la biodiversidad. Que indica, una fuerte selección, que ocurre en diferentes fenotipos lo que podría generar variedades genéticamente diversos, lo que ha favorecido la adaptación de las poblaciones a su entorno y ambientes. Los valores de la endogamia y el tamaño efectivo de la población son suficientes para permitir el mantenimiento de las poblaciones. Es necesario iniciar programas de selección de variedades de chile, para rescatar algunas características del fruto. La diferenciación genética, es moderada entre poblaciones, encontramos cuatro regiones geográficas que son muy divergentes entre ellas. Sugerimos, que en las poblaciones de chile, una fuerte selección artificial podría generar variedades genéticamente divergentes. Postulamos que la complejidad climática y los gradientes altitudinales en el estado de Oaxaca podrían promover la biodiversidad, la domesticación y la diversificación. Los chiles

Oaxaca son un ejemplo de diversificación de las razas, que incluyen chiles como, 'Tusta', 'Tabaquero', 'Solterito', 'Piquín', 'Nanchita', 'Costeño' and 'Chile de Agua'.

Palabras clave: *C. annuum*, proceso de domesticación, diversidad genética, cuellos de botella poblacionales, tamaño efectivo de la población.

ABSTRACT: Domesticated species have been exposed to artificial pressures that regulate the genetic structure and divergence between populations. We estimated the genetic diversity, structure, inbreeding, effective population size, population bottlenecks and the ecological niche divergence, of wild, homegarden and cultivated populations of *C. annuum*. We analyzed, 13 populations across Oaxaca, Mexico and using seven nuclear microsatellite markers. *C. annuum*, shown high levels of genetic diversity in wild, homegarden and cultivated populations. Domesticated chiles in traditional agricultural habitats harbor unique gene pools and thus act as genetic variation reservoirs and to preserve its biodiversity. That indicates, a strong selection occurred at different phenotypes, could generating genetically diverse materials that have favored population adaptation to locations and environments. The values of inbreeding and the effective population size were sufficient to allow the maintenance of the populations. It is necessary to initiate programs to select chile varieties, to rescue some traits in the fruit. Genetic differentiation, was moderated among populations, we detected four geographic regions that are highly divergent between them. We suggest that in chile populations, a strong artificial selection could generate genetically divergent materials. We postulate, that climatic complexity and altitudinal gradients in Oaxaca, could promoting biodiversity, domestication and diversification. The Chiles from Oaxaca, are an example to the diversification of landraces that include chiles such as, 'Tusta', 'Tabaquero', 'Solterito', 'Piquín', 'Nanchita', 'Costeño' and 'Chile de Agua'.

Key words: *C. annuum*, domestication process, genetic diversity, population bottlenecks, effective population size.

INTRODUCTION

Domesticated species have been exposed during their evolution to artificial selection that determine the genetic structure, phenotypic patterns and divergence among cultivated and wild populations (Charlesworth *et al.*, 1997; Pickersgill, 2007). Also, artificial selection operates in the domestication processes and has encouraged morphological, physiological, and genetic modifications that could alter mating systems and genetic structure in domesticated organisms (Renaut & Rieseberg, 2015). Some of the consequences of domestication, include loss of genetic diversity, introduction of these genes associated with domestication process, an accumulation of deleterious variants, phenotype convergence and local adaptation to plantations and could represent a profound impact on genomes (Meyer & Purugganan, 2013; Larson *et al.*, 2014).

Particularly, an important crop species in Mexico, the species *C. annuum* L. (Solanaceae) is known as chile and represented one of the most important crop, with a great economic significance (Pickersgill, 2007). The domestication process of *C. annuum* was conducted in Mexico, due to the morphological variation of varieties (López-Espinosa *et al.*, 2018). Chile represents, one of the ancestral crops of Mexico, where domestication process began between 5000-7000-BC, and occurred at the Tehuacán Valley (Meyer & Purugganan, 2013). Most of local varieties, have been cultivated for long periods with an intermediate cultivation and an agricultural management system (González *et al.*, 2011; Guzman *et al.*, 2019). Regarding their economic importance, several studies evaluated the importance of local varieties of chile using morphological, cytogenetic and genetic markers (Contreras-Toledo *et al.*, 2011). These studies shown, that chile is one of the primary crop in America and Mexico and that different species were domesticated in

several provinces independently (Ibiza *et al.*, 2012). Nevertheless, further studies are needed to estimate heterozygosity levels to implement conservation programs for the rational use of the remaining diversity of wild populations (Rodríguez *et al.*, 2007; Guzman *et al.*, 2019).

Oaxaca state, is considered as a region with a high diversity of species (Ortiz-Pérez *et al.*, 2004), as well as many local domesticated species (Contreras-Toledo *et al.*, 2011). Oaxaca possess a high biological and cultural diversity, that coupled with a complex environmental heterogeneity, results in their high biodiversity, represented by more than 12 500 species of flora and fauna; many of which have been utilized by local populations (Contreras-Toledo *et al.*, 2011). An example, of native chilies domesticated at the Oaxaca state, 'Tusta', 'Tabaquero', 'Solterito', 'Piquín', 'Nanchita', 'Costeño' and 'Chile de Agua' (Alonso *et al.*, 2008; Vera-Guzmán *et al.*, 2011). That represented a different degree of domestication, artificial selection and genetic differentiation.

Taking into account the economic importance of this chile resource, is necessary to evaluate their genetic structure to generate procedures for management and conservation. The main objectives of this study are to examine genetic diversity levels of populations of *C. annum* with different levels of human management located in the valleys and mountains in Oaxaca, Mexico. We addressed the following questions: 1) We characterized, the population genetic diversity, differentiation and genetic inbreeding levels, to test if genetic diversity parameters could be affected by the level of disturbance. (2) We evaluated, the possible occurrence of recent bottlenecks events, estimated the effective population size and the niche similarity and divergence. To understand whether populations undergone recent bottleneck processes and to recognize if populations located in different valleys and mountains significantly differentiated from each other.

MATERIALS AND METHODS

Study system

C. annum plants are recognized for their bright coloured, fleshy, podlike fruit. Plants are bushy and low growing 30-38cm tall. The stems are to some extent woody with thin, green leaves 4-10cm long and 1-4cm wide (González *et al.*, 2011). White flowers are produced from leaf axils in summer, but are inconspicuous. The fruit usually remains ornamental for 8 to 12 weeks. This species has been organized into five botanical groups of which only three cherry, cone and cluster peppers are familiar potted plants (Pickersgill, 2007). Botanical classification of *Capsicum* has been difficult, due to the high number of varieties, the deficiency of well-defined traits and the presence of hybridization identified of some species (Ibiza *et al.*, 2012). Chile represented, one of the ancestral and utilized crops of Mexico and domestication occurred at the Tehuacán Valley. Most of the local crops, have been cultivated and consumed for long time with a stable cultivated under an agricultural management system that constitute an important genetic resource (Guzman *et al.*, 2019).

Collecting sites

The study area was designated among two biogeographic regions at the Oaxaca State in Mexico. Young leaves were collected, five from wild populations, five from homegarden and three from domesticated populations at the Oaxaca State (Table 1, Fig. 2). We collected 13 populations distributed in Oaxaca and sampled between 12 - 20 individuals. We sampled from trees separated with at least 1000 m. For sampling, we choose the criteria of geographic location. Genomic DNA was extracted from 100 mg of fresh leaf material using the protocol designed by Lefort & Douglas, (1999). Seven nuclear microsatellite loci, were amplified using the loci previously reported for *C.*

annuum (Minamiyama *et al.*, 2006) and utilizing multiplex polymerase chain reaction approach. PCR techniques were arranged into three different groups. The first group include the primer pairs Agi021, Agi069, Agi098 and Agi111. The second group comprise the primers CAMS163, CAMS460 and CAMS679 (Minamiyama *et al.*, 2006). PCR techniques were performed using the QIAGEN Multiplex PCR kit (QIAGEN) in a 5 μ l volume containing 1X Multiplex PCR Master Mix, 2 μ M of primer, dH₂O, and 20 ng of template DNA. The thermal cycling conditions consisted of 35 cycles of 94°C for 1 min, annealing 51°C for 1 min, extension at 72°C for 2 min and final extension at 72°C for 10 min. Multiplex PCR products were combined with a GeneScan-500 LIZ size standard and performed on an ABI-PRISM 3100 Avant sequencer (Applied Biosystems). Fragments were analyzed and recorded using the Peak Scanner program 1.0 (Applied Biosystems).

Table 1. Locality name, sample size, geographical coordinates, mean number of alleles (A), mean observed heterozygosity (H_O), mean expected heterozygosity (H_E), for 13 populations of *C. annuum* in the Oaxaca, Mexico, separated by wild, homegarden and cultivated populations. Standard errors are included in parenthesis.

Locality	Sample size		Genetic diversity			
	Coordinates		A	H_O	H_E	F_{IS}
Wild populations						
1. El Coyull	11	15.413/ -97.420	3.71 (2.07)	0.700 (0.10)	0.556 (0.08)	-0.208 (0.05)
2. Zaachila1	7	18.619/ -97.548	5.00 (2.78)	0.707 (0.24)	0.671 (0.17)	0.004 (0.07)
3. Proterill	10	18.403/ -97.548	6.14 (2.53)	0.728 (0.11)	0.716 (0.14)	0.035 (0.01)
4. Guleagui	13	18.703/ -97.603	4.28 (3.03)	0.698 (0.12)	0.589 (0.10)	0.128(0.05)
5. MorroM2	11	18.555/ -97.635	4.14 (2.08)	0.589 (0.08)	0.568 (0.07)	0.029(0.07)
Total			4.654	0.684	0.620	-0.0024
Homegarden						
6. Agua de Sol1	11	18.865/ -97.702	4.71 (2.31)	0.771 (0.16)	0.576 (0.10)	-0.290 (0.12)
7. Agua de Sol2	11	18.464/ -97.568	4.42 (2.66)	0.696 (0.08)	0.560 (0.08)	0.279 (0.06)
8. Zaachila2	7	18.409/ -97.429	4.28 (0.98)	0.833 (0.16)	0.658 (0.10)	0.170 (0.09)
9. MorroM3	10	18.358/ -97.480	3.57 (2.07)	0.757 (0.10)	0.532 (0.07)	-0.178 (0.11)
10. El Coyul2	11	18.476/ -97.572	4.57 (1.21)	0.650 (0.10)	0.536 (0.03)	-0.154 (0.01)
Total			4.31	0.741	0.572	-0.0346
Cultivated						
11. Taviche1	10	18.619/ -97.477	4.71 (2.40)	0.620 (0.12)	0.665 (0.07)	0.121 (0.08)
12. Taviche2	11	18.605/ -97.542	5.14 (1.94)	0.767 (0.21)	0.698 (0.10)	-0.032 (0.04)
13. Taviche3	11	18.636/ -97.422	5.57 (1.37)	0.712 (0.14)	0.639 (0.03)	-0.060(0.14)
Total			5.14	0.699	0.667	0.0096

Genetic diversity analysis

For each *C. annuum* populations, the following genetic diversity parameters: number of alleles per locus (A), observed heterozygosity (H_O), expected heterozygosity (H_E) and inbreeding coefficient (F_{IS}), using GENETIX 4.02 software (Belkhir *et al.*, 1996).

Genetic structure and Bayesian admixture analysis

To test genetic structure, we performed a hierarchical test of population structure (AMOVA), employing the stepwise mutation model (SMM) using ARLEQUIN 3.5. program (Excoffier, & Lischer, 2010). We grouped, *C. annuum* populations taking into account the domestication degree: wild, homegarden and cultivated populations that represented a different extent of domestication, artificial selection and genetic differentiation. Statistical significance was tested using 10^4 permutations using ARLEQUIN program. We estimated the gene flow between *C. annuum* populations was

considered by estimating the Bayesian-scaled long-term effective population size (N_e) and migration rate (m) employing the MIGRATE 3.5.1 software (Beerli & Felsenstein, 2001). For the analyses, the starting chain value was set to 20^6 visited and 16 recorded genealogies, following a burn-in period of 50^3 iterations.

The genetic ancestry of each individual plant of *C. annuum* was analyzed with the STRUCTURE 2.3.4 software (Pritchard *et al.*, 2000; Falush *et al.*, 2003; Hubisz *et al.*, 2009). STRUCTURE uses a Bayesian clustering model to determine the proportion of each individual's ancestry originating from different populations (Evanno *et al.*, 2005). The optimal number (K) of groups was determined by varying K from 1 to 10 (e.g. to achieve the effective number of groups) and running the analysis ten times for each K value to find the maximum posterior likelihood [LnP (D)]. Each run was performed using 10^6 Markov chain Monte Carlo (MCMC) repetitions following a burn-in period of 50^4 iterations. We used an admixture model that allows the correlation of allele frequencies without any a priori information. Following the procedure of Evanno *et al.* (2005), we determined the most likely value of K based on the maximum value of ΔK .

We utilized, two different approaches to achieve genetic clustering, with the programs STRUCTURE and ADEGENET, to contrast the differences among genetic groups. We utilized the Discriminant Analysis of Principal Components (DAPC) using the adegenet 2.0 (Jombart *et al.*, 2010) package in R Version 3.5.1. We implemented the 'find.clusters' function to achieve the discriminant analysis of principal component procedure (Jombart *et al.*, 2010). To avoid overfitting, 1000 principal components (e.g. to accomplish the correct number of clusters) were retained, accounting for ~70% of the total variance. This analysis runs successive K-means clustering and the optimal number of K was selected based on the lowest associated Bayesian Information Criteria (BIC) value after examining the rate of decrease in BIC. We tested values of genetic groups $K = 1 - 20$ (e.g. to achieve correctly the number of genetic groups) with 10 replicates of each K . The DAPC function was executed using this clustering, retaining 2 axes of principal components analysis (PCA) sufficient to explain 80% of the total variance of the data (Jombart *et al.*, 2010).

To identify geographic barriers and genetic discontinuity among *C. annuum* populations, we used the Monmonier's maximum difference algorithm with BARRIER v. 2.2 software (Manni *et al.*, 2004). BARRIER creates a map of the sampling localities from their geographical coordinates. Barriers are then represented on the map by identifying the maximum values within the population-pairwise genetic distance matrix. We used a pairwise matrix of average square distances (ASD) estimated for *C. annuum* populations. Resampling random subsets of individuals within populations estimated with the MSA program with 100 bootstrap replicate distances that were used to achieve statistical significance for the predicted barriers.

Testing for niche divergence and conservatism

To determine the ecological niche differentiation between genetic groups *C. annuum* and identify the suitable habitat between genetic groups, we performed niche divergence test, niche overlap, range overlap and niche similarity test using 11 climate variables and using Schoener's D and Hellinger's I niche similarity metrics, implemented in ENMtools 1.4.4 software (Warren *et al.*, 2008) and the package ecospat (Broennimann *et al.*, 2012). These indexes quantify the niche similarity, which ranges from 0 (no overlap in habitat suitability) to 1 (identical niche models in habitat suitability). We applied a threshold in which habitat is considered suitable, using the average of between genetic groups "Minimum training Presence logistic" threshold (=0.20). Niches were considered different if the observed value of niche overlap was less than the niche overlap value from 95 or all 100 of the niche overlap values. Niche breadth was

calculated as proportional similarity between the observed distribution of the environmental variables (Warren *et al.*, 2008).

To analyze and visualize the ENMs of *C. annuum*, we quantified the niche overlapping, niche equivalence (e.g. assess whether the ENMs between genetic groups are different than expected even if they share the same underlying distribution) and niche similarity (e.g. inquires whether one species niche can predict the occurrence of the other), estimated between genetic groups. For each *C. annuum* genetic groups a PCA-Environmental approach derived from multivariate theory implemented in the package ecospat (Broennimann *et al.*, 2012). The procedure involves a principal component analysis (PCA) to associate climatic values with species occurrence densities in the current period (Warren *et al.*, 2008). All analyses were conducted using R program V. 3.2.3 and ecospat package (Broennimann *et al.*, 2012).

Changes in population size

We used the BOTTLENECK 1.2 software (Piry *et al.*, 1999) to detect population bottlenecks, using the domestication degree: wild, homegarden and cultivated populations of *C. annuum*. Recent population bottlenecks that could be defined as a population where the rare alleles are the first to be lost decreasing the mean number of alleles per locus. In contrast, heterozygosity is less affected, producing a transient heterozygosity excess relative to that expected based on the resulting number of alleles (Luikart & Cornuet, 1998). For this test, we used 90% stepwise and 10% multistep mutations and performed 10^4 iterations, employing the Wilcoxon's signed-rank test, the stepwise mutation (SMM), the infinite allele (IAM) and the two-phase mutation (TPM) models. To contrast, the differences among the different mutation models. We estimated the effective population size (N_e) of all locations, using the LDNe software (Waples & Do, 2008). This program implemented the bias-correction technique developed by Waples & Do, (2008) to obtain N_e from a sample of S individuals. We set $P_{crit} = 0.02$ (i.e., alleles with a frequency < 0.02 are excluded), which generally provides a good balance between accuracy and bias. Confidence intervals (CIs) for N_e were calculated with the chi-square approximation implemented in LDNe.

RESULTS

Genetic diversity analysis

Values of genetic diversity parameters for *C. annuum* ranging from high for homegarden locations ($A = 4.28-4.71$, $H_o = 0.699-0.833$) followed by moderate-high for wild locations ($A = 3.71-6.14$, $H_o = 0.589-0.728$) and finally lower values for cultivated locations ($A = 4.71-5.57$, $H_o = 0.620-0.767$) see Table 1. Wright's inbreeding coefficient within populations (F_{IS}) revealed in general, positive values representing a heterozygote "reduction" (Table 1); F_{IS} values were low for wild populations ($F_{IS} = 0.014-0.244$), low in homegarden populations ($F_{IS} = 0.170-0.279$) and cultivated populations ($F_{IS} = 0.032-0.121$) all values are significant see Table 1.

Genetic structure and Bayesian admixture analysis

Results from hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) separated by domestication degree of *C. annuum* (Table 2), Indicated that most of the genetic variation resided within populations (75.95%), while the differentiation among groups only accounted for the remaining variation (22.76%). Followed by variation among populations within groups (1.28%), all levels are significant (Table 2). Genetic exchange results detected with MIGRATE (Table 3, Fig. 2) outlined that in agreement with genetic structuring, we detected less exchange among populations across long distance such the Cluster 2 (green), (i.e. Structure Analysis) have low exchange with respect to all populations. The rest of the populations that belong to Cluster 1 (blue), 3 (yellow) and 4

(red) show clear indications of genetic exchange values ranging from low to moderated values of exchange among the population and despite belonging to wild, homegarden and homegarden populations (Table 3, Fig. 2).

Table 2. Analysis of molecular variance (AMOVA) performed on the nSSR data and using RST. We grouped, the populations taking into account the domestication degree: wild, homegarden and cultivated populations that represented a different extent of domestication and genetic differentiation. Asterisks indicate statistically significant values ($P < 0.01$). Tests were based on 10^4 random permutations.

Source of variation	SS	Variance components	Percentage of variation	Fixation index
R_{ST}				
Among groups	2	0.037	1.28	$\Phi_{CT} = 0.090^{***}$
Among populations within groups	10	0.664	22.76	$\Phi_{SC} = 0.010^{***}$
Within populations	223	2.218	75.95	$\Phi_{ST} = 0.080^{***}$
Total	235.5	2.92104		

Table 3. Levels of genetic exchange estimated with the program MIGRATE. Directional pairwise migration rates among eleven *C. annuum* populations from Oaxaca Mexico. Donating and receiving populations are below and above the diagonal, respectively. Migration rates are given as the value of effective number of migrants per generation (Nm). Bold number indicate statistically significant values ($P < 0.01$).

Nm	MM2S1	GuelS2	Coy1T3	Ag1T4	Tav3C5	Tav2C6	MM3T7	ZacS8	Coy2Si9	Tav1C10	PotrS11	Za2T12	Ag2T13
MM2S1	—	0.145	0.423	1.034	0.065	1.065	3.432	3.055	1.845	0.525	0.460	0.188	0.756
GuelS2	0.705	—	0.398	1.791	1.099	5.860	0.787	1.094	1.589	1.733	1.736	0.099	9.047
Coy1T3	0.225	0.246	—	1.970	0.062	0.185	0.345	0.308	0.303	0.123	1.233	1.585	0.789
Ag1T4	2.195	2.191	1.788	—	1.676	1.806	1.366	1.378	1.254	2.162	2.193	0.448	2.070
Tav3C5	1.519	1.826	1.456	1.819	—	2.952	1.833	1.190	1.846	2.271	2.575	1.592	2.138
Tav2C6	2.247	2.045	1.879	2.879	2.498	—	2.475	2.625	1.978	1.574	2.482	2.062	2.802
MM3T7	2.722	0.741	0.635	0.635	0.635	2.137	—	2.725	2.550	0.212	1.745	2.751	1.587
ZacS8	2.732	0.287	0.431	2.909	2.160	2.915	2.481	—	1.747	1.193	1.341	0.436	1.183
Coy2Si9	3.470	1.194	1.614	2.614	2.475	1.732	2.236	2.128	—	2.833	2.310	1.300	2.200
Tav1C10	2.641	2.931	2.300	1.343	2.950	2.003	2.146	2.952	2.470	—	2.565	2.647	2.891
PotrS11	2.273	2.100	2.591	2.591	2.436	1.903	1.631	2.451	2.578	2.756	—	1.478	2.478
Za2T12	1.777	2.887	2.990	0.888	2.443	2.762	3.546	2.330	3.542	2.665	1.665	—	2.994
Ag2T13	0.872	2.378	2.865	2.865	2.702	2.084	0.996	0.872	2.084	0.996	0.872	2.084	—

Results, from the Bayesian clustering analysis showed that the maximum posterior likelihood [LnP (D)] and the maximum ΔK value showed that $K=4$ is the effective number of genetic groups (Fig. 1, Fig. 2). Also, the DAPC analysis (Fig. 3) shown the same clustering and corroborates the grouping detected with STRUCTURE. Clusters detected by the DAPC in Fig. 2 and 3 show the distribution of ancestry proportions in each collection site. Cluster 1 (blue) is moderately widespread across the Oaxaca basin and includes the Guelaguichi (wild), Potrerillo (wild) and el Coyul (wild) populations. Cluster 2 (green) is mostly restricted to the Oaxaca mountains and includes populations of Taviche2 (cultivated), Taviche3 (cultivated), Taviche1 (cultivated), Agua de Sol2 (homegarden) and Agua de Sol1 (homegarden) which are

consistently structured across the landscape. Cluster 3 (yellow) is restricted to the Oaxaca basin, and includes the populations of El Coyul (homegarden) and Zaachilac2 (homegarden). Cluster 4 (red) has a moderated geographic distribution through the Oaxaca basin and includes the populations of Zaachilac1 (wild), Moro Mazatlan3 (homegarden) and Morro Mazatlan2 (wild) 1. Accordingly with the great structure shown that the clusters are very different from each other, the presence of admixture in the populations was scarcely evident (Fig. 2).

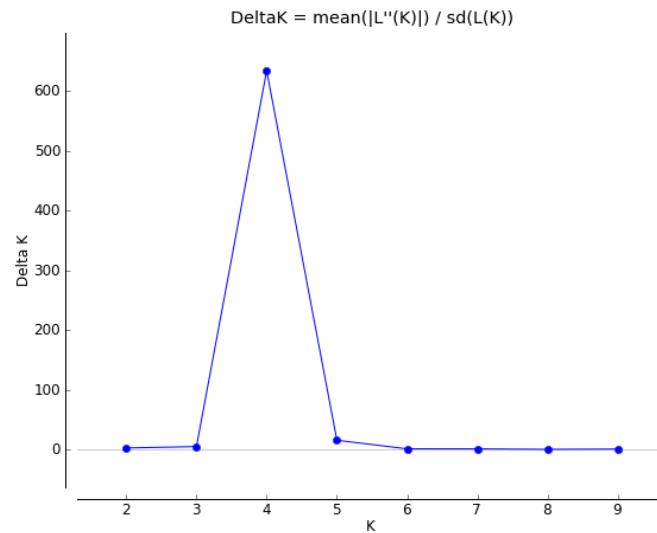


Fig. 1. Values of ΔK plotted against K , the peak indicates the most probable number of genetic groups given the data using Structure Harvester (Earl, 2011).

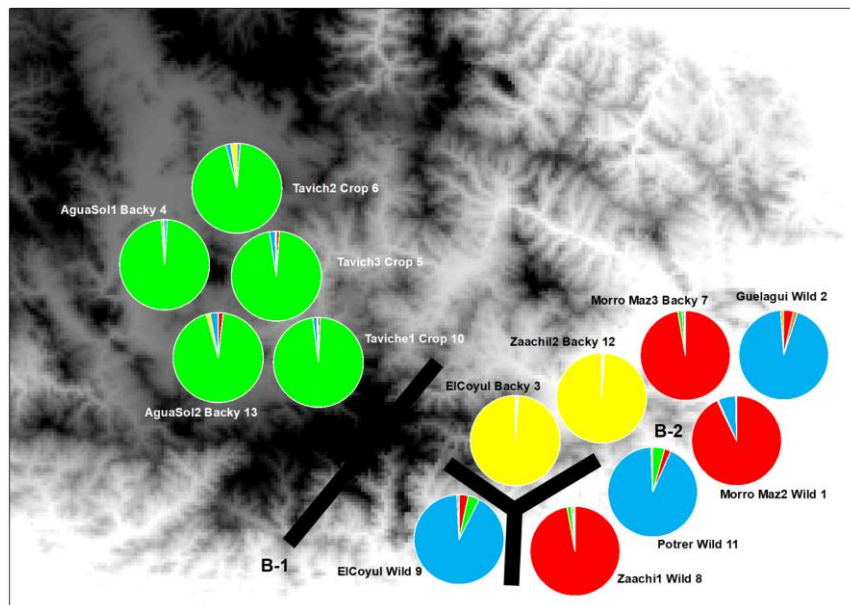


Fig. 2 Each pie chart represents the proportions in each population of the four genetic groups as assigned by the program STRUCTURE. Green, red, yellow and blue Genotype are representing the genetic ancestry groups corresponding to *C. annuum* populations. Genetic discontinuities (bold lines B-1–2) obtained with Monmonier's maximum difference algorithm on genetic distances derived from microsatellite allele frequencies.

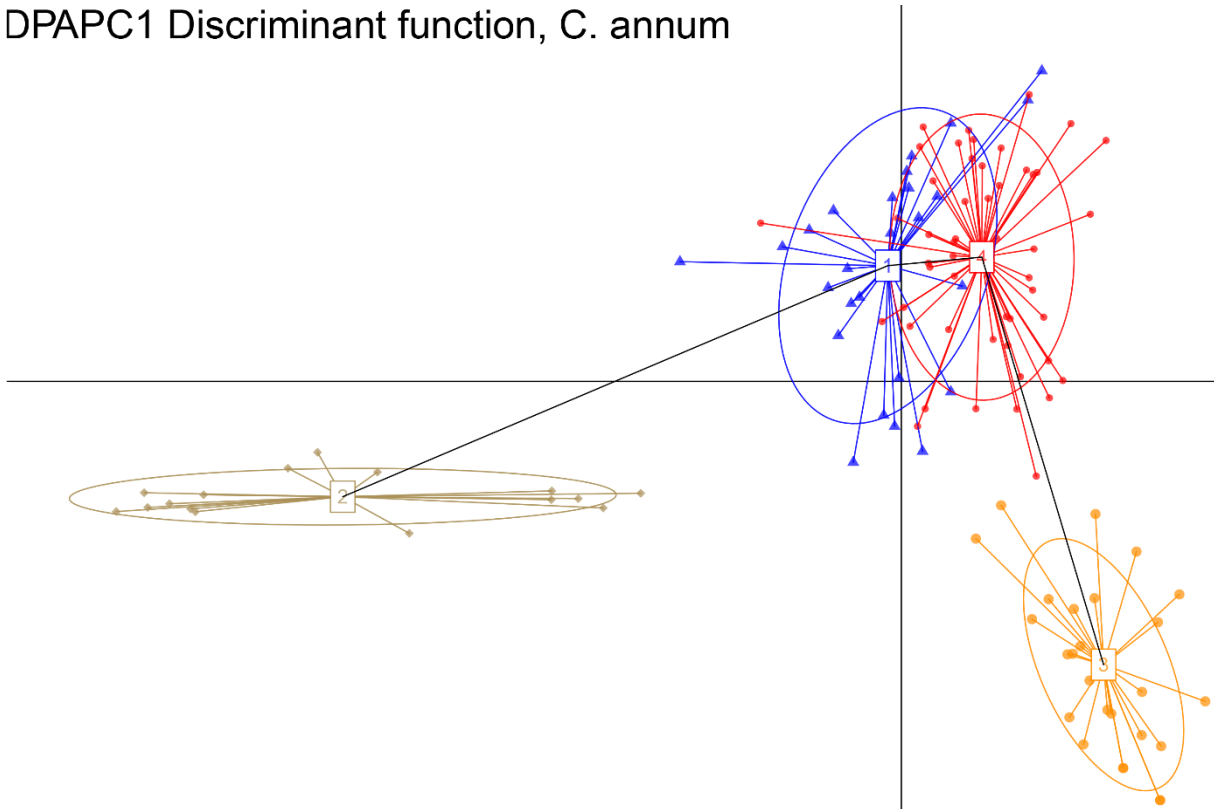
DPAPC1 Discriminant function, *C. annum*

Fig. 3. Discriminant Analysis of Principal Component, ordination based on 13 *C. annum* populations. Inference of population structure as identified through DAPC. The corresponding BIC plot showing the optimal number of clusters ($K = 4$) and the DA eigenvalues for the displayed scatterplot.

The results from genetic and geographic barriers analysis between 13 populations of *C. annum*, revealed two barriers (with over 50% bootstrap support) (Fig. 2). The most significant barrier, with 95% bootstrap support, sets apart the populations of Taviche2 (cultivated), Taciche3 (cultivated), Taviche1 (cultivated), Agua de Sol2 (homegarden) and Agua de Sol1 (homegarden), located in the northwest part of the basin from the rest of the *C. annum* populations. The second barrier, with 89% bootstrap support, is a complex break separating the southwestern part from the central part of the Oaxaca basin. This indicates that, in agreement with the high structure found, some populations have become isolated, such as the populations El Coyul (wild) from el Coyul (homegarden), Zaachila1 (homegarden) and Potrerillo (wild) (Fig. 2).

Testing for niche divergence and conservatism

C. annum genetic groups, had significantly non-equivalent ENMs (Fig. 4). The niche identity test indicated a high degree of climatic niche differences with values ranging from D statistic 0.774 to 0.837 genetic groups. The niche breadth measurements supported the hypothesis that broader niches exist for both *C. annum*: genetic groups 80%; 79%. These results indicate that the *C. annum*: genetic groups occupied different climate zones indicated by the niche between genetic groups (Fig. 4). The overlap index was a low: 0.225 between *C. annum*: genetic groups with low to moderate values of spatial range overlap ($D = 0.261$, $I = 0.544$) and indicated the amount of climate that share among the genetic groups in their distribution (Fig. 4).

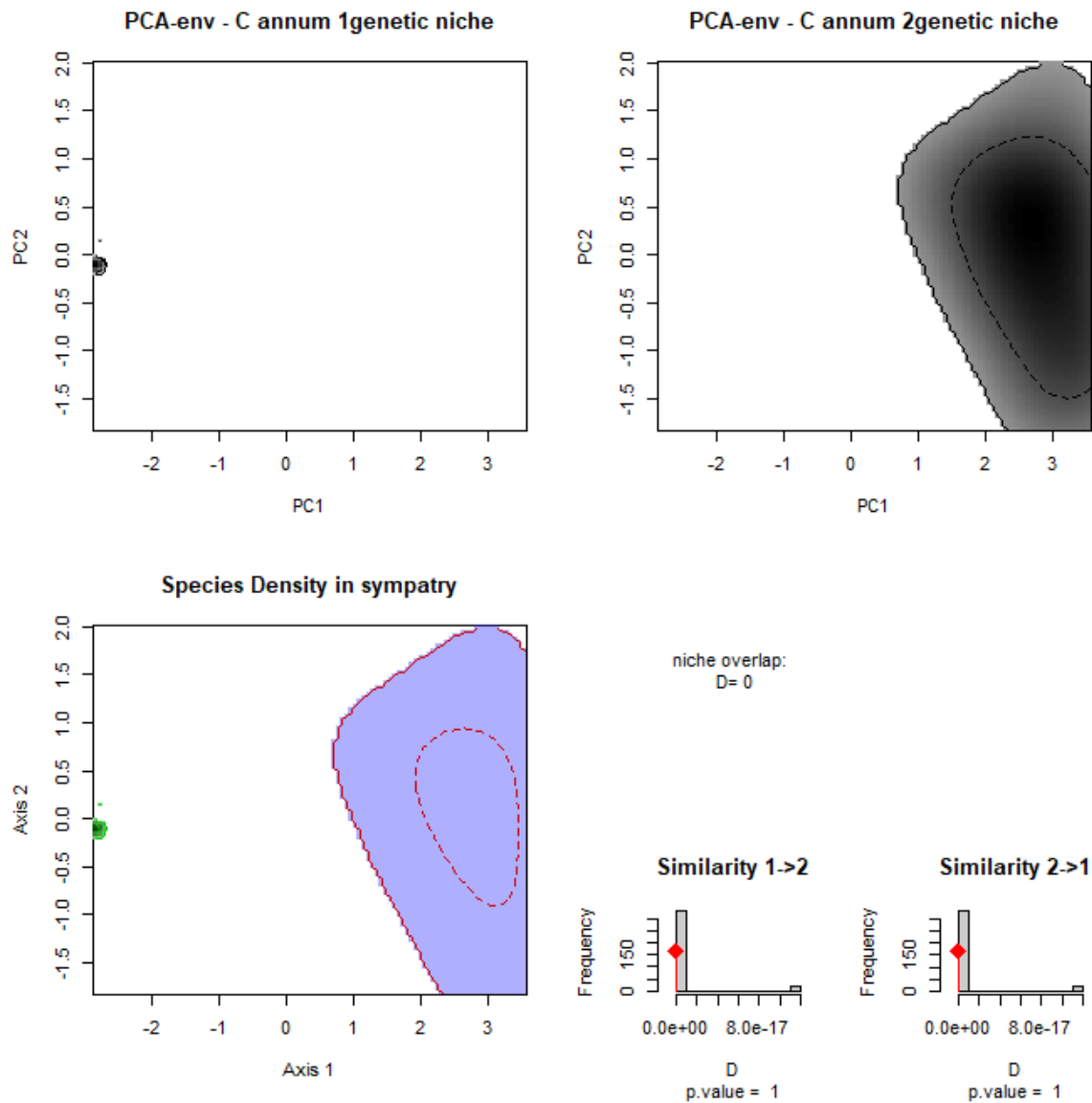


Fig. 4. Niche overlap densities plots using the PCA-Env scripts ecospat (Broennimann *et al* 2012) between environmental ranges of *C. annuum*, for the different genetic groups (i.e. STRUCTURE) darker shading indicates higher density of occurrences of the species; solid contour lines, 100% of available environment; dashed contour lines, 50% of most common background environment. The available environment in the study areas are defined and by green and red lines when comparing the two species at the same time from the sympatric with populations with the same background area. The correlation circle shows the loadings of individual environmental variables to the two PCA axes and the contribution of each variables to the construction of the PCA-Env. Sympatry.

Changes in population size

Results from the analyses to detect evidence of recent bottlenecks (excess heterozygosity) using the infinite allele (IAM), the two-phase (TPM) and the stepwise mutation (SMM) models see Table 4. No significant results were found with the IAM, TPM and SMM models as an indication of no bottlenecks in the wild, homegarden and domesticated populations of *C. annuum*. Results from the test to estimate the effective population size (N_e) for *C. annuum*

populations, grouped according to domestication degree, shown that cultivated populations ($N_e = 96.2$ individuals) had the highest value followed by the wild group populations ($N_e = 33.6$ individuals) and homegarden populations ($N_e = 26.3$ individuals). All N_e estimates had a high Jackknife support and a good confidence interval (CIs) (see Table 4).

Table 4. Bottleneck analysis for *C. annuum* populations in the Oaxaca, Mexico using Wilcoxon rank test under infinite allele, stepwise mutation and two phase model. Parameters for TPM: variance = 10%, proportion of SMM= 90%, estimation based on 104 replications. P, probability. IAM, infinite allele model; TPM, two phase model; SMM, stepwise mutation model. ** Indicate significant deviation from equilibrium as value less than 0.05. The results obtained, for the estimation of the population effective size for the three genetic groups, values obtained with the program LDNe.

Models	Wild	Homegarden	Cultivated
IAM	0.01953	0.00781	0.71094
TPM	0.99219	0.40625	0.98828
SMM	1.00000	0.96094	0.99609
LDNe	33.6	26.3	96.2

DISCUSSION

Domesticated species, have been exposed during their evolution to hundreds of years of human selection in multiple environments and cultural contexts. This leads to phenotypic diversity of fruits and seeds (Charlesworth *et al.*, 1997). Native, homegarden and wild landraces could be affected by numerous factors such as, ecological characteristics, mountainous systems, anthropogenic disturbances and artificial selection (Larson *et al.*, 2014; Renaut & Rieseberg, 2015).

A high genetic variation observed, was observed for *C. annuum* at the homegarden ($H_o = 0.833$), whereas wild ($H_o = 0.728$) and cultivated ($H_o = 0.620$) showed lower values. Oaxaca state represents, a biodiversity hotspot in Mexico (Ferrusquía-Villafranca, 1993; García-Mendoza, 2004) and possess a great number of domesticated species and genetic diversity in regional chiles (Corona-Torres *et al.*, 2000; Latourmerie *et al.*, 2001). A possible explanation of this diversity could be linked to the variability of soils, mountainous systems and the management of native and cultivated plants by farmers (Aguilar-Rincón *et al.*, 2010; Pacheco-Olvera *et al.*, 2012; López-Espinosa *et al.*, 2018). Evaluation of genetic variability among the *Capsicum* genotypes result essential for selection. Assessment of such specific alleles and genotypes should be important, with respect to adaptability of crops, with respect to climate change and biotic and abiotic stresses (Pickersgill, 2007; Zizumbo-Villarreal & Colunga-García, 2010).

Genetic diversity reduction, has been observed in crops and is due to population bottlenecks and artificial selection (Charlesworth *et al.*, 1997). In our *C. annuum* populations, we detected low inbreeding and population size for wild ($F_{IS} = 0.244$, $N_e = 33.6$), homegarden ($F_{IS} = 0.170$, $N_e = 26.3$) and cultivated ($F_{IS} = 0.121$, $N_e = 96.2$) populations. We observed, for *C. annuum* populations, a slightly reduction in inbreeding, effective population size and not significant signals of genetic bottlenecks (Larson *et al.*, 2014; Renaut & Rieseberg, 2015). Domestication syndrome, signified the morphological traits shared by domestic, but not by wild ancestors. That could modified, reproductive traits such as, altered timing of flowering and altered color compounds. This syndrome, could affecting in isolated populations with self-fertilization, where little or no pollen flow is present (Contreras-Toledo *et al.*, 2011).

We suggested for *C. annuum* the future tendency for landraces that will be exposed to the loss of diversity, affecting the ability to respond to climate changes (Meyer & Purugganan, 2013). Also, fire rates and habitat fragmentation has led chile plantations, wild, homegarden and cultivated to be isolated in patches (Ibiza *et al.*, 2012). Depletion of genetic diversity, has been reported to increase susceptibility to infections, caused by fungi, (e.g. *Phytophthora* and *Verticillium*) (González *et al.*, 2011). Crop wild relatives, contain genes to improve and resilience. *Capsicum* plants produced capsaicinoids that reduces the growth of fungal pathogens in wild chile, *Capsicum chacoense* (Rodríguez *et al.*, 2007). Genetically modified crops, are associated with various risks, such as, introduction of genes to susceptible crops, which leads to extinction of wild populations (Hanski & Mononen, 2011). Conservation programs, are necessary directed to select wild chile. Also gene flow, could contribute to rescuing genetic diversity of local varieties, that can counteract inbreeding and disease susceptibility (Corona-Torres *et al.*, 2000).

Genetic structure and Bayesian admixture analysis

Our study found that, genetic structuring of *C. annuum* among wild, homegarden and domesticated chiles, is associated with geographic features in the range of chile at the Oaxaca (Aguilar-Rincón *et al.*, 2010; Pacheco-Olvera *et al.*, 2012).

Oaxaca state represented, a biodiversity, cultural and ecosystems hotspot (Ferrusquía-Villafranca, 1993). Also harbored, a complex heterogeneity of soils, climatic that are delimited on a mountainous ranges coursing in a NNW–SSE direction and separated by valleys with tropical deciduous and xerophytic elements in the central portion (Ortiz-Pérez *et al.*, 2004). These intricated, patterns resulted in a geographical barrier, contributing to isolation and genetic differentiation (García-Mendoza, 2004). We observed a great genetic diversity and differentiation that indicated, that domestication had an effect on the distribution of variation among domesticated chiles. Native chiles from Oaxaca, are an example of diversification of landraces used by humans such as, 'Tusta', 'Tabaquero', 'Solterito', 'Piquín', 'Nanchita', 'Costeño' and 'Chile de Agua' (Vera-Guzmán *et al.*, 2011). Mountainous landscapes in Oaxaca, are constituted by heterogeneous topography and environmental ranges (Hanski & Mononen, 2011). Steep valleys and mountain demarcate the plant population habitats where gene flow is reduced thus, favoring differentiation (Latournerie *et al.*, 2001). Genetic differentiation, could be incremented by drift associated with reduced population size (Pacheco-Olvera *et al.*, 2012). Artificial selection, could be acting on plant populations determining morphological, physiological, reproductive, and genetic changes, leading to phenotypic and genotypic divergence between wild and managed populations (Kwon *et al.*, 2005; Casas *et al.*, 2007). As was observed, for local landraces of chile, which have been consumed the wild and domesticated chile across Oaxaca state (Zizumbo-Villarreal & Colunga-García, 2010).

The Cluster 1 (blue), Cluster 3 (yellow) and Cluster 4 (red) (e.g. Structure analysis) are located on the Pacific coast is associated with the Barrier 2 (Fig. 2). This clear structuring, have been revealed with populations with little gene flow. In the Sierra Madre del Sur, the valley ranges at elevations from 1000 m, but toward south elevations rise to 1800 m and host xerophytic vegetation and acts as a barrier to gene flow among tropical deciduous and temperate forest (Ortiz-Pérez *et al.*, 2004). We suggest, that higher variation in habitat and climatic conditions combined with high elevations and geographic distances could explain genetic divergence (Larson *et al.*, 2014). Populations in the valleys, are geographically isolated from highlands, thus gene flow is reduced and increasing differentiation. We indicated that in *C. annuum* populations, a strong artificial selection could generate genetically diverse materials that has favored population adaptation to locations and environments (Hanski & Mononen, 2011; López-Espinosa *et al.*, 2018). That could generate, diverse and divergent landraces adapted to different agroecological and cultural environments (Kwon *et al.*, 2005; Zizumbo-Villarreal & Colunga-García, 2010). All those phenotypes producing fruit with the most desirable attributes according to local people are cultivated and represented the highest level of artificial selection (Alonso *et al.*, 2008; Casas *et al.*, 2007; Aguilar-Rincón *et al.*, 2010).

CONCLUSIONS

High genetic diversity for *C. annuum* at the Oaxaca state, that denoted a region with a great number of domesticated and richness in Mexico that could encouraging the domestication syndrome. Native chiles from Oaxaca, are an example of diversification of landraces used by human such as, 'Tusta', 'Tabaquero', 'Solterito', 'Piquín', 'Nanchita', 'Costeño' and 'Chile de Agua'. We indicate, that the degree of heterozygosity, allelic richness and private alleles could be used for improving. Evaluation of such genotypes should be important, with respect to adaptability of crops, with respect to climate change.

Low genetic inbreeding, for wild and homegarden and low effective population size for wild and cultivated. It is necessary, programs to rescuing chile varieties. Through In-situ, preserving economically important plants. Through Ex-situ, using Botanical Gardens. Also, gene flow, between communities could contributed to rescuing genetic diversity which can counteract inbreeding effects and disease susceptibility.

Genetic differentiation was moderate, for wild, homegarden and cultivated populations that underlined a clear genetic structuring. We suggest that for *C. annuum* populations, a strong artificial selection, could generated genetically diverse materials that stimulated adaptation to locations and environments. Domestication or selection, had an effect on genetic and phenotypic variation. Oaxacan chile landraces, are in the stage of adaptation to different agroecological and cultural environments. As was observed, for local landraces of chile, which have been consumed, wild and domesticated at the Oaxaca state.

LITERATURE CITED

- Aguilar-Rincón, V., Corona-Torres, H., López-López, L., Latournerie-Moreno, M., Ramírez-Meraz, H., Villalón-Mendoza, M., & Aguilar-Castillo, J. (2010). *Los chiles de México y su Distribución*. INIFAP, IT-Conkal, UANL, UAN, Montecillo, Texcoco, Estado de México., Estado de México., México.: SINAREFI, Colegio de Postgraduados.
- Alonso, R., Moya, C., Cabrera, A., Pilar, P., Quiroga, R., Rosales, M., & Zuart, J. (2008). Evaluación *in situ* de la variabilidad genética de los chiles silvestres (*Capsicum* spp.) en la región frailesca del estado de Chiapas, México. *Cultivos Tropicales*, 49-55. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?>
- Belkhir, K., Borsa, P., Chikhi, L., Raufaste, N., & Bonhomme, F. (1996). *GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations*. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, Université de Montpellier II: CNRS UMR 5171. <http://www.genetix.univ-montp2.fr/genetix/genetix>
- Beerli, P., & Felsenstein, J. (2001). Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 4563–4568. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.081068098>
- Broennimann, O., Fitzpatrick, M., Pearman, P., Petitpierre, B., Pellissier, L., Yoccoz, N., Thuiller, W., Fortin, M. J., Randin, C., Zimmermann, N. E., Graham, C. H., & Guisan, A. (2012). Measuring ecological niche overlap from occurrence and spatial. *Global Ecology and Biogeography*, 481–497. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00698.x>
- Casas, A., Otero-Arnaiz, A., Pérez-Negrón, E., & Valiente-Banuet, A. (2007). *In situ* Management and Domestication of Plants in Mesoamerica. *Annals of Botany*, 1101–1115. doi:<https://doi.org/10.1093/aob/mcm126>
- Charlesworth, B., Nordborg, M., & Charlesworth, B. (1997). The effects of local selection, balanced polymorphism and background selection on equilibrium patterns of genetic diversity in subdivided populations. *Genetics Research*, 155-174. doi:<https://doi.org/10.1017/S0016672397002954>

- Contreras-Tolelo, A., López, S., Santacruz, V., Valadez, M., Aguilar, R., Corona, T., & López, P. (2011). Diversidad genética en México de variedades nativas de Chile 'poblano' mediante microsatélites. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 225 – 232. doi:http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802011000400003 **BIBLIOGRAPHY V 2058**
- Corona-Torres, T., García-Velázquez, A., Castillo-González, F., Montero-Tavera, V., & Azpiroz-Rivero, H. (2000). Caracterización isoenzimática de la diversidad genética de colectas de Chile (*Capsicum annuum* L. y *Capsicum chinense* Jacq.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5-17. doi:<https://doi.org/10.35196/rfm.2018.3.227-236>
- Evanno, G., Regnaut, S., & Goudet, S. (2005). Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology*, 2611–2620. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x>
- Excoffier, L., & Lischer, H. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 564-567. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. (2003). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 1567–1587. doi:<https://doi.org/10.1093/genetics/164.4.1567>
- Ferrusquía-Villafranca, L. (1993). *Biological diversity of Mexico*. Oxford UK: Oxford University Press. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10027450251/>
- García-Mendoza, A. J. (2004). *Integración del conocimiento florístico del estado*. (García-Mendoza, A. Ordoñez, M., & Briones-Salas, M. Edits.) *Biodiversidad de Oaxaca* (pp. 305–325) México, D.F. Instituto de Biología, México: UNAM-Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza, World Wildlife Fund **BIBLIOGRAPHY V 2058**
- González, I., Arias, Y., Quiñones, M., Miranda, I., Rodríguez, Y., & Peteira, B. (2011). Variabilidad molecular de genotipos de pimiento (*Capsicum annuum* L.) del programa de mejoramiento genético para la resistencia a pvy. *Protección Vegetal*, 69-72. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522011000200001&lng=pt&nrm=iso&tlng=es
- Guzman, F. A., Moore, S., de Vicente, M., & Jahn, M. (2019). Microsatellites to enhance characterization, conservation and breeding value of *Capsicum* germplasm. *Genet Resour Crop Evol*, 569-585. doi:<https://doi.org/10.1007/s10722-019-00801-w>
- Hanski, I., & Mononen, T. (2011). Eco-evolutionary dynamics of dispersal in spatially heterogeneous environments. *Ecology Letters*, 1025–1034. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2011.01671.x>
- Hubisz, M., Falush, D., Stephens, M., & Pritchard, J. (2009). Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 1322–1332. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x>
- Ibiza, V. P., Blanca, J., Cañizares, J., & Nuez, F. (2012). Taxonomy and genetic diversity of domesticated *Capsicum* species in the Andean region. *Genetic Resources Crops and Evolution*, 1077–1088. doi:<https://doi.org/10.1007/s10722-011-9744-z>
- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, X. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genomics*, 11-94. doi:<https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>
- Kwon, Y. S., Lee, J., Yi, G., Yi, S., Kim, K., Soh, E., Bae, K. M., Park, E. K., Song, I. H., & Kim, B. (2005). Use of SSR markers to complement tests of distinctiveness, uniformity, and stability (DUS) of pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. *Molecular Cells*, 428–435. doi:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15995361/>
- Larson, G., Piperno, D., Allaby, R., Purugganan, M., Andersson, L., Arrollo-Kalin, M., Barton, L., Vigueira, C. C., Denham, T., Dobney, K., Doust, A. N., Gepts, P., Gilbert, M. T., Gremillion, K. J., Lucas, L., Lukens, L., Marshall, F. B., Olsen, K. M., Pires, J. C., Richerson, P. J., Rubio de Casas, R., Sanjurjo, O. I., Thomas, M. G., & Fuller, M. (2014). Current perspectives and the future of domestication studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 6139-6146. doi:<https://doi.org/10.1086/285580>

- Latournerie-Moreno, L., López-Vázquez, J. S., Castañón-Nájera, G., Mijangos-Cortéz, O., Espadas-Villamil, G., Pérez-Gutiérrez, A., & Ruiz-Sánchez, E. (2015). Evaluación agronómica de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.). *Agroproductividad*, 24-29. <http://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1003/498>
- Lefort, F., & Douglas, G. (1999). An efficient micro-method of DNA isolation from mature leaves of four hardwood tree species *Acer*, *Fraxinus*, *Prunus* and *Quercus*. *Annals of Forest Science*, 259-263. doi:<http://dx.doi.org/10.1051/forest:19990308>
- López-Espinosa, S. T., Latournerie-Moreno, L., Castañón-Nájera, G., Ruiz-Sánchez, G., Gómez-Leyva, J., Andueza-Noh, H., & Mijangos-Cortés, J. (2018). Genetic Diversity of habanero pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) using ISSR. *Rev. Fitotec. Mex*, 227 - 236. doi:<https://doi.org/10.35196/rfm.2018.3.227-236>
- Luikart, G., & Cornuet, J. (1998). Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Biological Conservation*, 228–237. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1998.96388.x>
- Manni, F., Guerard, E., & Heyer, E. (2004). Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by “Monmonier’s algorithm”. *Human Biology*, 173-190. doi:<https://doi.org/10.1353/hub.2004.0034>
- Meyer, R. S., & Purugganan, M. (2013). Evolution of crop species: genetics of domestication and diversification. *Nature Reviews Genetics*, 840-852. doi:<https://doi.org/10.1038/nrg3605>
- Minamiyama, Y., Masato, T., & Masashi, H. (2006). An SSR-based linkage map of *Capsicum annuum*. *Molecular Breeding*, 157–169. doi:<https://doi.org/10.1007/s11032-006-9024-0>
- Ortiz-Pérez, M. A., Hernández-Santana, J., & Figueroa-Mah-Eng, J. (2004). *Reconocimiento fisiográfico y geomorfológico*. (García-Mendoza, A.J., Ordoñez, M. J., & Briones-Salas, M. Eds.) *Biodiversidad de Oaxaca*, Instituto de Biología, UNAM México: Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza World Wildlife Fund, México.
- Pacheco-Olvera, A., Hernández, V., Rocha, R., González, R., & Oyama, K. (2012). Genetic Diversity and Structure of Pepper (*Capsicum annuum* L.) from Northwestern Mexico Analyzed by Microsatellite Markers. *Crop Science*, 231-241. doi:<https://doi.org/10.2135/cropsci2011.06.0319>
- Pickersgill, B. (2007). Domestication of Plants in the Americas: Insights from Mendelian and Molecular Genetics. *Annals of Botany*, 925-940. doi:<https://doi.org/10.1093/aob/mcm193>
- Piry, S., Luikart, G., & Cornuet, J. (1999). BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *J Hered*, 502–503. doi:<https://doi.org/10.1093/jhered/90.4.502>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics*, 1567–1587. doi:<https://doi.org/10.1093/genetics/164.4.1567>
- BIBLIOGRAPHY \ 2058**
- Renaut, S., & Rieseberg, L. (2015). The accumulation of deleterious mutation as a consequence of domestication and improvement in sunflowers and other *Compositae* crops. *Molecular Biology and Evolution*, 2273-2283. doi:<https://doi.org/10.1007/10.1093/molbev/msv106>
- Rodríguez, J., Peña, O., Gil, M., Martínez, C., Manzo, F., & Salazar, L. (2007). Rescate in situ del chile “poblano” en Puebla, México. *Rev. Fitotec. Mex*, 25-32. doi:www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_nlinks&pid=S2007-0934201600050100500021&lng=en
- Vera-Guzmán, A. M., Chávez-Servia, J., Carrillo-Rodríguez, J., & López, M. (2011). Phytochemical evaluation of wild and cultivated pepper (*Capsicum annuum* L. and *C. pubescens* Ruiz & Pav.) from Oaxaca, Mexico. *Chilean J. Agricultural Research*. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392011000400013>

Recibido:
31/marzo/2021

Aceptado:
10/diciembre/2021

- Waples, R. S., & Do, C. (2008). LdNe: a program for estimating effective population size from data on linkage disequilibrium. *Molecular Ecology Resources*, 753-756. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2007.02061.x>
- Warren, D. L., Glor, R., & Turelli, M. (2008). Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, 2868-2883. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00482.x>
- Zizumbo-Villarreal, D., & Colunga-GarcíaMarín, P. (2010). Origin of agriculture and plant domestication in West Mesoamerica. *Genetics Resources and Crops Evolution*, 813-825. doi:<https://doi.org/10.1007/s10722-009-9521-4>

MORFOLOGÍA POLÍNICA DE *Neomillspaughia* S.F. BLAKE Y *Podopterus* BONPL. (POLYGONACEAE, ERIOGONOIDEAE, COCCOLOBEAE)

POLLEN MORPHOLOGY OF *Neomillspaughia* S.F. BLAKE Y *Podopterus* BONPL. (POLYGONACEAE, ERIOGONOIDEAE, COCCOLOBEAE)

Durán Escalante, K. C.; J. J. Ortiz-Díaz; M. M Ferrer y J. Tun-Garrido:

MORFOLOGÍA POLÍNICA DE *Neomillspaughia* S.F. BLAKE Y *Podopterus* BONPL. (POLYGONACEAE, ERIOGONOIDEAE, COCCOLOBEAE).

POLLEN MORPHOLOGY OF *Neomillspaughia* S.F. BLAKE AND *Podopterus* BONPL. (POLYGONACEAE, ERIOGONOIDEAE, COCCOLOBEAE).



**MORFOLOGÍA POLÍNICA DE *Neomillspaughia* S.F. BLAKE Y *Podopterus* BONPL.
(POLYGONACEAE, ERIOGONOIDEAE, COCCOLOBEAE).**

**POLLEN MORPHOLOGY OF *Neomillspaughia* S.F. BLAKE AND *Podopterus* BONPL.
(POLYGONACEAE, ERIOGONOIDEAE, COCCOLOBEAE)**

Durán Escalante, K. C.;
J. J. Ortiz-Díaz;
M. M Ferrer
y J. Tun-Garrido.

MORFOLOGÍA POLÍNICA
DE *Neomillspaughia* S.F.
BLAKE Y *Podopterus* BONPL.
(POLYGONACEAE,
ERIOGONOIDEAE,
COCCOLOBEAE).

POLLEN MORPHOLOGY
OF *Neomillspaughia* S.F.
BLAKE AND *Podopterus*
BONPL. (POLYGONACEAE,
ERIOGONOIDEAE,
COCCOLOBEAE).

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 105-117. Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.7

K. C. Durán Escalante

J. J. Ortiz-Díaz / odiaz@correo.uady.mx

Departamento de Botánica. Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias,
Universidad Autónoma de Yucatán
Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, A.P. 4-116, 97000.

M. M Ferrer

Departamento de Manejo y Conservación de Recursos Naturales Tropicales.
Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad Autónoma de Yucatán,
Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, A.P. 4-116, 97000.

J. Tun-Garrido

Departamento de Botánica. Campus de Ciencias Biológicas y Agropecuarias,
Universidad Autónoma de Yucatán
Km 15.5 carretera Mérida-Xmatkuil, A.P. 4-116, 97000.

RESUMEN: *Neomillspaughia* y *Podopterus* son dos géneros de hábito arbóreo y arbustivo que habitan en las selvas caducifolias de Mesoamérica. Ambos géneros son monofiléticos y han sido clasificados en la tribu Coccolobae. Aunque cada uno cuenta con tres especies, solo *Neomillspaughia emarginata*, *Podopterus cordifolius* y *P. mexicanus* han sido empleadas en estudios filogenéticos moleculares de tal manera que sus relaciones filogenéticas en la tribu aún son inciertas. Estudios palinológicos en Eriogonoideae mencionan que el polen presenta poca variación, sin embargo, entre los géneros de esta subfamilia existe una organización diversa de los colpios, poros y ornamentaciones, lo que confiere a estos elementos de interés taxonómico. Los objetivos de este estudio son caracterizar el polen de *Neomillspaughia* y *Podopterus* y explorar su valor taxonómico dentro de la subfamilia Eriogonoideae. La caracterización del polen se realizó mediante observaciones con microscopía óptica y electrónica de barrido de polen proveniente de ejemplares de herbario. *Neomillspaughia* se caracterizó por presentar granos de prolotos a subprolotos y una ornamentación microrreticulada; solo *N. hondurensis* presentó una estructura vestibular en la apertura. En *Podopterus*, la forma del grano varía de subproloto a proloto esferoidal y la ornamentación de microrreticulada a reticulada. *P. cordifolius* presenta exina reticulada con lúmenes profundos y bien definidos; *P. guatemalensis*, presenta una estructura vestibular en la apertura y *P. mexicanus* exhibe granos tri-tetracolporados, característica observada únicamente en esta especie junto a aperturas circulares. La caracterización palinológica de las seis especies reveló que el número de colpios y los patrones de ornamentación de la exina son similares a los encontrados en otros géneros de la subfamilia Eriogonoideae. La variación registrada en la forma, número de aperturas, así como también en la ornamentación de la exina de los granos de polen permiten la certera identificación de las especies. En este trabajo se incluyen descripciones de los géneros y las especies, así como también microfotografías de microscopio óptico y electrónico de barrido.

Palabras clave: Palinología, taxonomía, géneros leñosos, Mesoamérica.

ABSTRACT: *Neomillspaughia* and *Podopterus* are two woody genera that inhabit deciduous forests of Mesoamerica. Both genera are monophyletic and have been classified in the Coccolobeae tribe. Although each has three species, only *N. emarginata*, *P. mexicanus* and *P. cordifolius* has been used to establish phylogenetic relationships. Palynological studies in Eriogonoideae mention that pollen presents little variation, however, taxonomic value at species level have not been explored, since there is a diverse organization of colpi, pores and ornamentation among them. The objectives of this study are to characterize the pollen of *Neomillspaughia* and *Podopterus* and to explore its taxonomic value within the subfamily Eriogonoideae. The characterization of the pollen was carried out by observations with optical and scanning electron microscopy of pollen from herbarium specimens. *Neomillspaughia* was characterized by the presence of prolate to subprolate grains and microreticulated ornamentation; only *N. hondurensis* presented a vestibular structure at the aperture. In *Podopterus*, the grain shape varies from subprolate to prolate spheroidal and the ornamentation from microreticulated to reticulated. *P. cordifolius* has reticulated exin with deep and well-defined lumens; *P. guatemalensis*, presents a vestibular structure at the apertures and *P. mexicanus* exhibits tri-tetracolporate grains, characteristic observed only in this species together with circular apertures. The palynological characterization of the six species revealed that the number of colpi and the patterns of ornamentation of exine are similar to those found in other genera of the Eriogonoideae subfamily. The variation in the shape, number of apertures, as well as in the ornamentation of the exine of the pollen grains allow the accurate identification of the species. In this study we include descriptions of the genera and species, as well as light and scanning microphotographs.

Keywords: Palynology, taxonomy, woody genera, Mesoamérica.

INTRODUCCIÓN

Neomillspaughia y *Podopterus* son dos géneros de hábito leñoso cuya distribución se restringe a las selvas caducifolias de México y América Central (Brandbyge, 1993; Burke et al., 2010; Hernández-Ledesma et al., 2015). Cada uno de los géneros tiene tres especies descritas que poseen en común tépalos acrescentes en el fruto con alas dorsales. *Neomillspaughia* se diferencia por tener flores en panículas y tépalos exteriores con las alas dorsales sin extenderse a los pedicelos, mientras que en *Podopterus* las flores son fasciculadas y los tépalos exteriores con las alas dorsales decurrentes en el pedicelo (Blake, 1921). El número de tépalos es una característica clave para el reconocimiento de ambos géneros; por un lado, cinco tépalos es un número consistente en *Neomillspauhia* (Blake, 1921; Standley y Steyermark, 1946) mientras que en *Podopterus* suele variar de cinco a seis (Blake, 1921; Burger, 1983; Ortiz-Díaz, 1994; Standley y Steyermark, 1946) pudiendo ocasionalmente, presentarse cuatro. Las relaciones filogenéticas de estos dos géneros son controversiales resolviéndose *Neomillspaughia* como grupo hermano de *Coccoloba* ambos con cinco tépalos y *Podopterus* en una posición más afin a los géneros con seis tépalos como *Gymnopodium*, *Leptogonum*, *Ruprechtia* y *Triplaris* (Burke et al., 2010). No obstante, Burke y Sanchez (2011) incluyen a *Podopterus* dentro de la tribu Coccolobeae junto con *Coccoloba* y *Neomillspaughia*. Aunque las diferencias morfológicas entre *Neomillspaughia* y *Podopterus* son sustanciales, el número de especies empleadas en estudios filogenéticos moleculares se limita a tres, *N. emarginata*, *P. mexicanus* y *P. cordifolius* de tal manera que las relaciones filogenéticas en la subfamilia Eriogonoideae aún son inciertas. Estudios palinológicos en Polygonaceae realizados por diversos autores (Brandbyge, 1990b, 1993; Brandbyge y Øllgaard, 1984; Nowicke y Skvrla, 1977) en la subfamilia Eriogonoideae mencionan que el polen presenta poca variación, sin embargo, existe una organización diversa de los aperturas y ornamentaciones entre los géneros de esta subfamilia (Burke et al., 2010; Mondal, 1997) lo que les confiere interés taxonómico. El polen en la subfamilia es tri-, o menos comúnmente, tetracolporado, la exina varía de punctada y punctado-estriada a reticulada y microreticulada, así como también espinulosa.

Aunque la utilidad taxonómica del polen para explicar las relaciones filogenéticas en Eriogonoideae ha sido limitada (Burke *et al.*, 2010), hay que señalar que su potencial no ha sido explorado en todas las especies de los géneros *Neomillspaughia* y *Podopterus*. Por ejemplo *N. hondurensis* descrita por Ortiz-Díaz *et al.* (2013) no se ha considerado en estudios filogenéticos ni palinológicos previos. La variación en la forma, número de aperturas, así como también en la ornamentación de la exina de los granos de polen podrían sugerir relaciones con otros géneros de Eriogonoideae. Los objetivos de este estudio son caracterizar el polen de *Neomillspaughia* y *Podopterus* y explorar el valor taxonómico del polen en la delimitación de sus especies y sus afinidades con otros géneros de la subfamilia Eriogonoideae.

MATERIALES Y MÉTODOS

Selección de las especies

Para el estudio palinológico se consideraron todas las especies de *Neomillspaughia* y *Podopterus*: *N. emarginata*, *N. hondurensis*, *N. paniculata*, *P. cordifolius*, *P. guatemalensis* y *P. mexicanus*. En total se seleccionaron 16 ejemplares de herbario (Apéndice) procedentes de los herbarios del Museo de Historia Natural de Londres (BM), Universidad Nacional Autónoma de México (MEXU), Jardín Botánico de Missouri (MO) y de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY). Para las especies *N. emarginata* y *N. paniculata* se analizaron 4 ejemplares de cada uno y de *N. hondurensis*, tres pliegos de herbario. Para las especies de *P. mexicanus* y *P. cordifolius* dos, y para *P. guatemalensis*, uno.

Técnica de acetólisis

El polen se acetolizó de acuerdo con la técnica de acetólisis (Erdtman, 1952) siguiendo las adecuaciones de Alfaro-Bates *et al.* (2010). Los granos de polen obtenidos se colocaron en gelatina glicerizada (Sawyer, 1988) haciendo las preparaciones permanentes, mismas que después de su descripción se depositaron en la colección palinológica de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY-PAL).

Medición y descripción de los granos de polen

Para el registro de las mediciones se tomaron en cuenta 30 granos de polen de cada especie de *Neomillspaughia* y 14 granos de polen para cada especie de *Podopterus*. Esto se justifica debido a la disponibilidad de ejemplares de herbario y a que algunos ejemplares presentaron pocos granos de polen. Aun así, el esfuerzo de observación y medición cumple con el número estándar en las descripciones palinológicas de 10-15 granos por especie como en las presentadas por Hong *et al.* (2005), Yasmin *et al.* (2009, 2015) o Yurtseva *et al.* (2014). Las observaciones, mediciones y fotografías se tomaron en las vistas polar y ecuatorial empleando un microscopio óptico Zeiss Primo Star y cámara Infinity3 a 1000 aumentos. Las mediciones se tomaron en las microfotografías digitales previa calibración en el programa ImageJ ver. 1.44p (Schneider *et al.*, 2012). El promedio y desviación estándar de los datos se expresan en μm . En vista ecuatorial, la medición del eje polar (P) y el eje ecuatorial (E) permite obtener la relación (P/E) y así determinar la forma del grano de polen en vista ecuatorial. En vista polar, se midió la distancia entre los colpos (dc) y el diámetro (d) y con estos valores se obtiene el índice de área polar (dc/d). Para la observación detallada de la ornamentación de la exina se empleó el microscopio electrónico de barrido (MEB) JEOL JSM-6360LV. Para ello, los granos acetolizados fueron deshidratados en un tren de alcohol de 30%, 50% y 70%, montados sobre cinta de carbón bifaz y recubiertos con oro. El microscopio electrónico de barrido fue operado a 20kV. La terminología utilizada para la descripción palinológica de las especies incluye la de Erdtman (1952), Sáenz Laín (2004) y Punt *et al.* (2007).

RESULTADOS

Neomillspaughia S. F. Blake, Bull. Torrey Bot. Club 48(3): 84–85. 1921.

Granos radiosimétricos isopolares, prolato a subprolotos dada la relación eje polar/ecuatorial de 1.32 a 1.36; tricolporados. Tectum perforado y microrreticulado, con exina de 0.64-1.07 μm de grosor. Endoaperturas lalongadas; colpos con margen o vestíbulo. Índice de área polar pequeña.

Neomillspaughia emarginata (H. Gross) S. F. Blake, Bull. Torrey Bot. Club 48(3): 85. 1921 (Láminas I, II y III A).

Granos tricolporados, prolotos de $12.97 \pm 0.85 \mu\text{m} \times 9.76 \pm 1.49 \mu\text{m}$. Relación P/E= 1.36. Exina de $0.90 \pm 0.17 \mu\text{m}$ de grosor, sexina de $0.53 \mu\text{m}$ de espesor y nexina de $0.37 \mu\text{m}$. Tectum microrreticulado. Colpos de $4.30 \pm 0.80 \times 1.27 \pm 0.34 \mu\text{m}$ con margen. Endoaperturas lalongadas de $4.85 \pm 0.98 \mu\text{m}$ de largo $\times 1.32 \pm 0.43 \mu\text{m}$ de ancho. Granos de tamaño pequeño según el índice de área polar= 0.24.

Neomillspaughia hondurensis J.J. Ortíz & Arnelas, Phytotaxa 144(2): 57–60, f. 1C–D. 2013. (Láminas I, II y III B)

Granos tricolporados, subprolotos de $15.34 \pm 1.45 \mu\text{m} \times 11.76 \pm 1.64 \mu\text{m}$. Relación P/E= 1.32. Exina de $0.90 \pm 0.15 \mu\text{m}$ de grosor, sexina de $0.51 \mu\text{m}$ de espesor y nexina de $0.39 \mu\text{m}$. Tectum microrreticulado. Colpos de $5.62 \pm 1.92 \mu\text{m} \times 1.20 \pm 0.27 \mu\text{m}$ con vestíbulo. Endoaperturas lalongadas de $7.60 \pm 2.47 \mu\text{m}$ de largo $\times 1.59 \pm 0.34 \mu\text{m}$ de ancho. Granos de tamaño pequeño según el índice de área polar= 0.19.

Neomillspaughia paniculata (Donn. Sm.) S. F. Blake, Bull. Torrey Bot. Club 48(3): 85. 1921. (Láminas I, II y III: C).

Granos tricolporados, prolotos de $9.81 \pm 2.87 \mu\text{m} \times 7.41 \pm 2.25 \mu\text{m}$. Relación P/E= 1.34. Exina de $0.84 \pm 0.20 \mu\text{m}$ de grosor, sexina de $0.48 \mu\text{m}$ de espesor y nexina de $0.36 \mu\text{m}$. Tectum microrreticulado. Colpos de $3.45 \pm 0.66 \mu\text{m} \times 1.12 \pm 0.21 \mu\text{m}$ con margen. Endoaperturas lalongadas de $5.26 \pm 1.57 \mu\text{m}$ de largo $\times 1.25 \pm 0.24 \mu\text{m}$ de ancho. Granos de tamaño pequeño según el índice de área polar= 0.21.

Podopterus Pl. Aequinoct. 2: 89. 1809[1812].

Granos radiosimétricos isopolares, subprolotos a prolato esferoidales dada la relación eje polar/ecuatorial de 1.11 a 1.30; tricolporados (rara vez, tetracolporados y en proporción variable). Tectum perforado y microrreticulado en su mayoría, con exina de 0.95-1.41 μm de grosor. Endoaperturas lalongadas o circulares; colpos con margen o vestíbulo. Índice de área polar pequeña a mediana.

Podopterus cordifolius Rose & Standl. Proc. Biol. Soc. Washington 33: 66. 1920. (Láminas I, II y III D)

Granos tricolporados, prolato esferoidales de $12.34 \pm 1.11 \mu\text{m} \times 11.15 \pm 1.16 \mu\text{m}$. Relación P/E= 1.11. Exina de $1.19 \pm 0.22 \mu\text{m}$ de grosor, sexina de $0.73 \mu\text{m}$ de espesor y nexina de $0.46 \mu\text{m}$. Tectum reticulado con lúmenes más profundos y definido que en el resto de las especies. Colpos de $4.79 \pm 0.92 \mu\text{m} \times 1.52 \pm 0.44 \mu\text{m}$ con margen. Endoaperturas lalongadas de $6.61 \pm 0.93 \mu\text{m}$ de largo $\times 1.18 \pm 0.43 \mu\text{m}$ de ancho. Granos de tamaño pequeño según el índice de área polar= 0.22.

Podopterus guatemalensis S. F. Blake, Bull. Torrey Bot. Club 48(3): 87. 1921. (Láminas I, II y III E).

Granos tricolporados, subprolotos de $15.97 \pm 1.29 \mu\text{m} \times 12.30 \pm 0.58 \mu\text{m}$. Relación P/E= 1.30. Exina de $1.08 \pm 0.01 \mu\text{m}$ de grosor, sexina de $0.59 \mu\text{m}$ de espesor y nexina de $0.50 \mu\text{m}$. Tectum microrreticulado. Colpos de $6.12 \pm 1.43 \mu\text{m} \times 2.37 \pm 0.51 \mu\text{m}$ con vestíbulo. Endoaperturas lalongadas de $7.54 \pm 1.83 \mu\text{m}$ de largo $\times 1.69 \pm 0.19 \mu\text{m}$ de ancho. Granos de tamaño pequeño según el índice de área polar= 0.24.

Podopterus mexicanus Bonpl. Pl. Aequinoct. 2: 89–91, t. 107. 1809[1812]. (Láminas I, II y III F).

Granos tricolporados o tetracolporados, subprolotos de $17.13 \pm 1.23 \mu\text{m} \times 13.82 \pm 1.62 \mu\text{m}$. Relación P/E=1.25. Exina de $1.12 \pm 0.17 \mu\text{m}$ de grosor, sexina de $0.64 \mu\text{m}$ de espesor y nexina de $0.48 \mu\text{m}$. Tectum microrreticulado. Colpos de $5.55 \pm 0.64 \mu\text{m} \times 2.49 \pm 0.94 \mu\text{m}$ con margen. Endoaperturas circulares de $5.61 \pm 0.81 \mu\text{m}$ de diámetro. Granos de tamaño mediano según el índice de área polar= 0.27.



Lámina I: Microfotografías de granos de polen de *Neomillspaughia* y *Podopterus* en vista ecuatorial y polar tomadas con microscopio óptico a 1000 aumentos. A. *Neomillspaughia emarginata*; B. *N. hondurensis*; C. *N. paniculata*; D. *Podopterus cordifolius*; E. *P. guatemalensis*; F *P. mexicanus* con granos tri-tetracolporados.

Cuadro 1. Cuadro resumen con los caracteres palinológicos evaluados en las especies estudiadas. EP= Eje Polar; EE.= Eje Ecuatorial; RP/E= Relación Ejes Polar y Ecuatorial; Forma, I= Subprolato, II= Prolato, III= Prolato esferoidal.; IAP= Índice de Área Polar; GE= Grosor de la Exina; OE= Ornamentación de la exina, I= Microreticulado, II= Reticulado; LC= Longitud del colpo; AC= Ancho del colpo; NA= Número de apertura; CA= Característica de la Apertura, I= Sin vestíbulo, II= Con vestíbulo; LE= Longitud de la Endoapertura; AE= Ancho de Endoapertura; TE= Tipo de Endoapertura I= Lalongadas, II = Circulares; Todas las mediciones son en micrómetros = μm

Caracteres/ Especies	EP	EE	R P/E	Forma	IAP	GE	OE	LC	AC	NA	CA	LE	AE	TE
<i>N. emarginata</i>	12.97±0.85	9.76±1.49	1.36	II	0.24	0.90±0.17	I	4.30±0.80	1.27±0.34	3	I	4.85±0.98	1.32±0.43	I
<i>N. hondurensis</i>	15.34±1.45	11.76±1.64	1.32	I	0.19	0.90±0.15	I	5.62±1.92	1.20±0.27	3	II	7.60±2.47	1.59±0.34	I
<i>N. paniculata</i>	9.81±2.87	7.41±2.25	1.34	II	0.21	0.84±0.20	I	3.45±0.66	1.12±0.21	3	I	5.26±1.57	1.25±0.24	I
<i>P. cordifolius</i>	12.34±1.11	11.15±1.16	1.11	III	0.22	1.19±0.22	II	4.79±0.92	1.52±0.44	3	I	6.61±0.93	1.18±0.43	I
<i>P. guatemalensis</i>	15.97±1.29	12.30±0.58	1.3	I	0.24	1.08±0.01	I	6.12±1.43	2.37±0.51	3	II	7.54±1.83	1.69±0.19	I
<i>P. mexicanus</i>	17.13±1.23	13.82±1.62	1.25	I	0.27	1.12±0.17	I	5.55±0.64	2.49±0.94	3-4	I	5.61±0.81	5.61±0.81	II

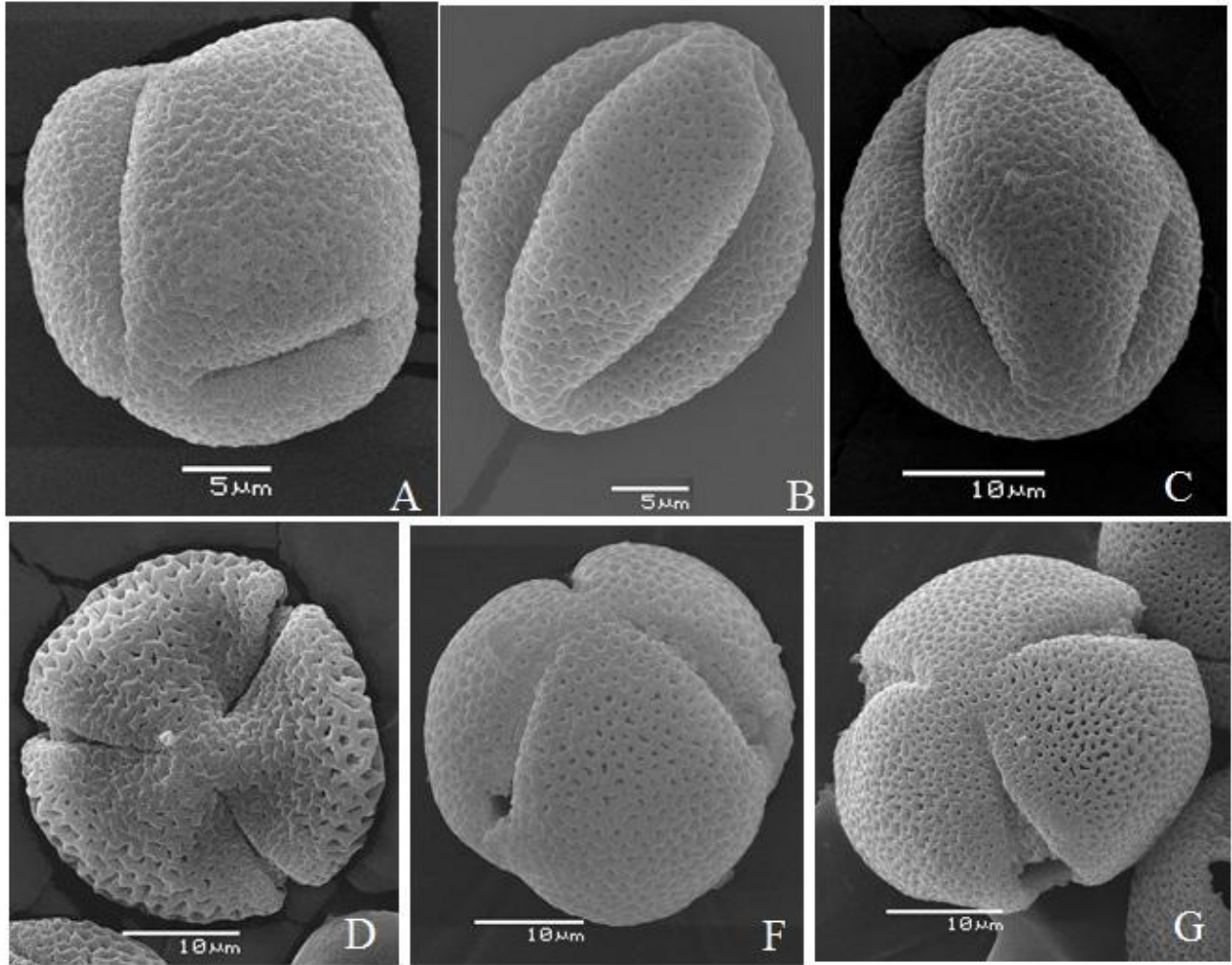


Lámina II. Vistas polar y ecuatorial de los granos de polen de *Neomillspaughia* y *Podopterus* tomadas con el MEB. A. *Neomillspaughia emarginata* en vista subecuatorial; B. *N. hondurensis* (ecuatorial); C. *N. paniculata* (subecuatorial); D. *Podopterus cordifolius* vista polar; F. *P. guatemalensis* (subpolar); G. *P. mexicanus* (polar).

DISCUSIÓN

En este trabajo se exploran los patrones generales de la morfología polínica de *Neomillspaughia* y *Podopterus* así como también se registra su variación interespecífica con el propósito de reconocer su utilidad taxonómica. Como resultado de las observaciones los caracteres tales como la forma, número de aberturas, ornamentación y tipo de endoapertura de los granos de polen muestran variación a diferentes niveles taxonómicos. Las formas del grano de polen registradas en este estudio son de tres tipos: subprolato, prolato y prolato esferoidal. El primer tipo se presenta en *Neomillspaughia hondurensis*,

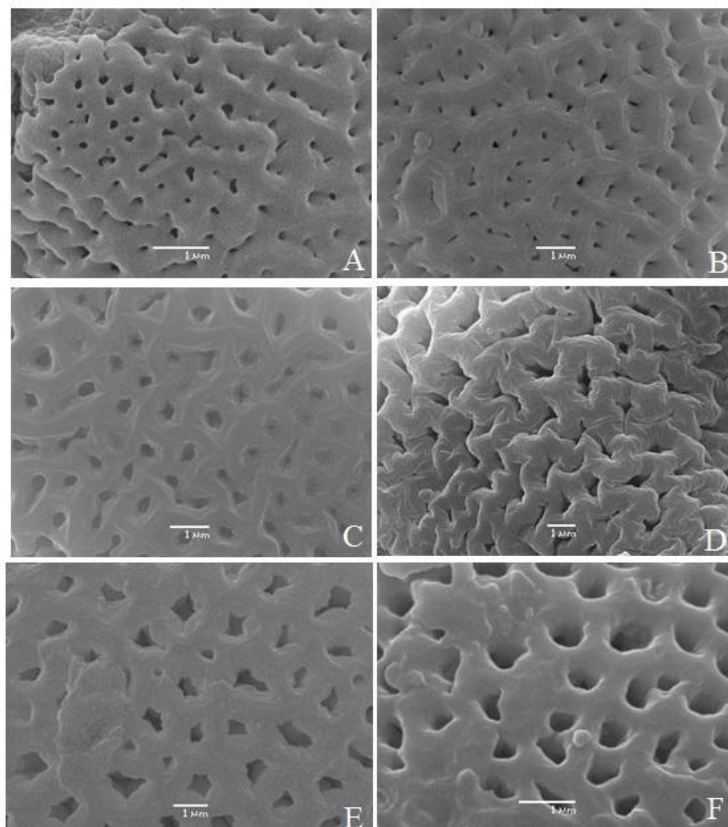


Lámina III. Microfotografías de la superficie de la ectexina de *Neomillspaughia* y *Podopteris* tomadas con el MEB. A. *Neomillspaughia emarginata* B. *N. hondurensis*; C. *N. paniculata*; D. *Podopteris cordifolius*; E. *P. guatemalensis*; F. *P. mexicanus*.

Podopteris guatemalensis y *P. mexicanus*, mientras que el segundo tipo lo exhibe *N. emarginata* y *N. paniculata* y en tercer tipo *P. cordifolius*. Las discrepancias en el tamaño y forma del grano de polen pueden reflejar variación intraespecífica (Oswald *et al.*, 2011), diferentes estados de madurez del polen (García *et al.*, 2015), deberse a diferencias entre material vivo y de herbario (Oswald *et al.*, 2011), la elección en los métodos de extracción e incrustación (Ayodele, 2005) o al grado de hidratación de los granos de polen antes del proceso de fijación (Russell, 2003). De esta manera, tal vez se explique el por qué *P. mexicanus* en nuestro estudio, aparece con granos subprolato y discrepa de Alfaro-Bates *et al.* (2010), que los describen como oblatos esferoidales. Las mediciones promedio de los ejes polar y ecuatorial de ambos autores es de $P=37.4$ y $E=39.1$ Las mediciones promedio obtenidas en nuestro estudio fueron de $P=17.13$ y $E=13.82$.

Especies estrechamente relacionadas a menudo producen granos de polen similares (Wang y Dobritsa, 2018). El polen para las tres especies que conforman el género *Neomillspaughia* se describe como prolato a subprolato con índice de área polar pequeña y ornamentación microrreticulada y es concordante con las observaciones generales realizadas por Nowicke y Skvrta (1977), Sánchez-Dzib *et al.* (2009) y Alfaro-Bates *et al.* (2010) en *Neomillspaughia emarginata*.

En cuanto al número de aperturas, el grano de polen en esta tribu es tricolporado (rara vez 4-colporado) y coincide con el tipo básico de polen en la familia Polygonaceae (Nowicke y

Skvrla, 1977; Wodehouse, 1931). El número de aperturas también es importante en la separación de *P. mexicanus* de las otras especies de la tribu ya que esta especie puede presentar granos tri y tetracolporados en proporciones variables. Alfaro-Bates *et al.* (2010) indican que la proporción de granos tricolporados observados en *P. mexicanus* fue la misma para granos tetracolporados. En este estudio, la proporción de granos con cuatro aperturas fue menor. De acuerdo con García *et al.* (2015) esta tendencia que exhiben algunas plantas a incrementar el número de aperturas o a presentar granos con diferente número de aperturas en un mismo individuo, se debe a menudo a procesos de hibridación. También, se ha documentado que la variación en el número de aperturas está ligado al nivel de ploidía en los individuos (Albert *et al.*, 2018; Reeder *et al.*, 2016; Yurtseva *et al.*, 2014). Por ejemplo, en *Rumex acetosella* se observó que la tasa de granos tricolporados es de 100% para individuos diploides y que esta disminuye al aumentar el nivel de ploidía tetraploide y hexaploide (Den Nijs *et al.*, 1980). Asimismo, polen con diferente número de aperturas ha sido observado en algunas especies del género *Polygonum* y se ha asociado al nivel ploidal (Yurtseva *et al.*, 2014). *Podopterus mexicanus* es también la única especie que presenta endoaperturas de tipo lolongado dentro de la tribu. En relación con la presencia de vestíbulo en las aperturas solo *Podopterus guatemalensis* y *Neomillspaughia hondurensis* lo poseen sin haberse observado en las otras cuatro especies.

La ornamentación es un carácter de suma importancia para reconocer a los géneros e incluso algunas especies (Hong *et al.*, 2005; Wang y Dobritsa, 2018). En *Neomillspaughia* y *Podopterus*, la ornamentación más común es de tipo microrreticulada, únicamente en *P. cordifolius* es reticulada. Las ornamentaciones observadas en este estudio para los tres géneros son consistentes con lo observado por Wodehouse (1931), Nowicke y Skvrla (1977) y Brandbyge (1990a).

Los granos de polen en *Podopterus cordifolius* son los únicos en exhibir una forma prolato esférica y una exina reticulada con lúmenes profundos y bien definidos observables en microscopía óptica y de barrido. Esta especie presenta unas pocas poblaciones documentadas en Oaxaca y Colima y además difiere con las otras especies de *Podopterus* por poseer una ocrea larga y hialina, como las encontradas en los integrantes de la subfamilia Polygonoideae, presentar un hábito de crecimiento de tipo liana y flores de color lila, un carácter único en Polygonaceae (Burke *et al.*, 2010). Si bien los estudios filogenéticos moleculares de la subfamilia Eriogonoideae (Burke *et al.*, 2010; Koenemann y Burke, 2020) en los que se incluye a *P. mexicanus* y *P. cordifolius* considera a este género monofilético resultan contrastantes con la información palinológica aquí presentada. En este contexto valdría la pena considerar mayor número de muestras en ambos estudios e incluir *P. guatemalensis* para corroborar la monofilia del género y para explicar las relaciones infragenéricas.

CONCLUSIONES

La caracterización palinológica de las especies de *Neomillspaughia* y *Podopterus* ha permitido explorar la utilidad taxonómica en el contexto de la subfamilia Eriogonoideae corroborando que el número de aperturas y los patrones de ornamentación de la exina son similares a los encontrados en otros géneros. La variación en la forma, número y tipo de aperturas, así como también en la ornamentación de la exina de los granos de polen en las seis especies estudiadas son críticas para su identificación por lo que pueden ser útiles en estudios de otra índole como los melisopalínológicos. *Neomillspaughia emarginata* y *Podopterus mexicanus* especies de importancia de apícola y marcadores geográficos que contribuyen de manera importante en la producción de miel en la península de Yucatán (México).

AGRADECIMIENTOS

A la MSc Rita Alfaro-Bates por la asesoría en el procesamiento y análisis del polen y a la I.Q.I. Silvia Andrade por su asistencia en la microscopía de barrido. A los curadores de los herbarios MEXU, MO y UADY por las facilidades otorgadas en la toma de muestras de flores.

LITERATURA CITADA

- Albert, B., Ressayre, A., Dillmann, C., Carlson, A. L., Swanson, R. J., Gouyon, P.-H., & Dobritsa, A. A. (2018). Effect of aperture number on pollen germination, survival and reproductive success in *Arabidopsis thaliana*. *Annals of Botany*, 121(4), 733–740. <https://doi.org/10.1093/aob/mcx206>
- Alfaro-Bates, R. G., González Acereto, J. Á., Ortiz Díaz, J. J., Viera Castro, F. A., Burgos Pérez, A. I., Martínez Hernández, E., & Ramírez Arriaga, E. (2010). *Caracterización palinológica de las mieles de la Península de Yucatán*. UADY: CONABIO.
- Ayodele, A. (2005). The morphology and taxonomic significance of pollen in the West African Polygonaceae. *Thaiszia Journal of Botany*, 15, 143–153.
- Blake, S. F. (1921). *Neomillspaughia*, a new genus of Polygonaceae, with remarks on related genera. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 48(3), 77–88. <https://doi.org/10.2307/2480362>
- Brandbyge, J. (1990a). The diversity of micromorphological features in the genus *Coccoloba* (Polygonaceae). *Nordic Journal of Botany*, 10, 25–44. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1990.tb01749.x>
- Brandbyge, J. (1990b). The genus *Leptogonum* (Polygonaceae). *Nordic Journal of Botany*, 10(5), 487–492. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1990.tb02092.x>
- Brandbyge, J. (1993). Polygonaceae. In K. Kubitzki, J. G. Rohwer, & V. Bittrich (Eds.), *Flowering Plants · Dicotyledons. The families and genera of vascular plants* (Vol. 2, pp. 531–544). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-02899-5_63
- Brandbyge, J., & Øllgaard, B. (1984). Inflorescence structure and generic delimitation of *Triplaris* and *Ruprechtia* (Polygonaceae). *Nordic Journal of Botany*, 4(6), 765–769. <https://doi.org/10.1111/j.1756-1051.1984.tb02007.x>
- Burger, W. C. (1983). Polygonaceae. In W. Burger (Ed.), *Flora Costaricensis. Fieldiana Botany 13* (pp. 99–138). Field Museum of Natural History. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.2593>
- Burke, J. M., & Sanchez, A. (2011). Revised subfamily classification for Polygonaceae, with a tribal classification for Eriogonoideae. *Brittonia*, 63(4), 510–520. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s12228-011-9197-x>
- Burke, J. M., Sanchez, A., Kron, K., & Luckow, M. (2010). Placing the woody tropical genera of Polygonaceae: A hypothesis of character evolution and phylogeny. *American Journal of Botany*, 97(8), 1377–1390. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000022>
- den Nijs, J., Hooghiemstra, H., & Schalk, P. (1980). Biosystematic studies of the *Rumex acetosella* complex (Polygonaceae). IV. Pollen morphology and the possibilities of identification of cytotypes in pollen analysis. *Phyton*, 20(3–4), 307–323.
- Erdtman, G. (1952). *Pollen morphology and plant taxonomy: angiosperms (an introduction to Palynology)*. Vol. I (B. Archive, Ed.). Almqvist & Wiksell.
- García, L., Rivero, M., & Droppelmann, F. (2015). Descripción morfológica y viabilidad del polen de *Nothofagus nervosa* (Nothofagaceae). *Bosque*, 36(3), 487–496. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002015000300015>
- Hernández-Ledesma, P., Berendsohn, W. G., Borsch, T., Mering, S. von, Akhani, H., Arias, S., Castañeda-Noa, I., Eggli, U., Eriksson, R., Flores-Olvera, H., Fuentes-Bazán, S., Kadereit, G., Klak, C., Korotkova, N., Nyffeler, R., Ocampo, G., Ochoterena, H., Oxelman, B., Rabeler, R. K., ... Uotila, P. (2015). A taxonomic backbone for the global synthesis of species diversity in the angiosperm order Caryophyllales. *Willdenowia*, 45(3), 281–383. <https://doi.org/10.3372/wi.45.45301>

Recibido:
19/julio/2021

Aceptado:
28/enero/2022

- Hong, S. P., Oh, I. C., & Ronse De Craene, L. P. (2005). Pollen morphology of the genera *Polygonum* s. str. and *Polygonella* (Polygonaceae: Polygonaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 254, 13–30. <https://doi.org/10.1007/s00606-005-0334-4>
- Koenemann, D. M., & Burke, J. M. (2020). A molecular phylogeny for the genus *Coccoloba* (Polygonaceae) with an assessment of biogeographic patterns. *Systematic Botany*, 45(3), 567–575. <https://doi.org/10.1600/036364420X15935294613536>
- Mondal, M. (1997). Pollen morphology and systematic relationship of the family Polygonaceae. *Botanical Survey of India*.
- Nowicke, J. W., & Skvrla, J. J. (1977). Pollen morphology and the relationship of the and Primulaceae to the order Centrospermae. *Smithsonian Contribution to Botany*, 37, 1–64.
- Ortíz-Díaz, J. (1994). *Polygonaceae. Etnoflora yucatanense. Fascículo 10.* (UADY, Ed.). Universidad Autónoma de Yucatán.
- Ortiz-Díaz, J. J., Arnelas, I., Tun, J., & Flores, J. S. (2013). *Neomillspaughia hondurensis* (Polygonaceae), a new species from Central America. *Phytotaxa*, 144(2), 56–60. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.144.2.3>
- Oswald, W. W., Doughty, E. D., Ne'eman, G., Ne'eman, R., & Ellison, A. M. (2011). Pollen morphology and its relationship to taxonomy of the genus *Sarracenia* (Sarraceniaceae). *Rhodora*, 113(955), 235–251. <https://doi.org/10.3119/0035-4902-113.955.235>
- Punt, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S., & le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 143(1–2). <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2006.06.008>
- Reeder, S. H., Lee, B. H., Fox, R., & Dobritsa, A. A. (2016). A ploidy-sensitive mechanism regulates aperture formation on the *Arabidopsis* pollen surface and guides localization of the aperture factor INP1. *PLOS Genetics*, 12(5), e1006060. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1006060>
- Russell, A. (2003). *Phylogenetic analysis and morphological study of the subfamily Eriogonoideae (Polygonaceae) with emphasis on the genus Chorizanthe.*
- Sáenz Laín, C. (2004). Glosario de términos palinológicos. *Lazaroa*, 25, 93–112.
- Sánchez-Dzib, Y., Sosa-Nájera, S., & Lozano-García, M. (2009). Morfología polínica de especies de la selva mediana subperennifolia en la cuenca del río Candelaria, Campeche. *Boletín de La Sociedad Botánica de México*, 84, 83–104. <https://doi.org/https://doi.org/10.17129/botsoci.2296>
- Sawyer, R. (1988). *Honey identification.* Cardiff Academic Press.
- Schneider, C., Rasband, W., & Eliceiri, K. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Standley, P. C., & Steyermark, J. A. (1946). Flora of Guatemala - Part IV. *Fieldiana Botany*, 24(4), 104–137. <https://www.biodiversitylibrary.org/item/19662#page/11/mode/1up>
- Wang, R., & Dobritsa, A. A. (2018). Exine and aperture patterns on the pollen surface: their formation and roles in plant reproduction. *Annual Plant Reviews*, 1(2), 1–40. <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0625>
- Wodehouse, R. P. (1931). Pollen grains in the identification and classification of plants. VI. Polygonaceae. *American Journal of Botany*, 18(9), 749–764. <https://doi.org/https://doi.org/10.2307/2435790>
- Yasmin, G., Khan, M. A., Shaheen, N., & Khan, U. J. (2015). Palynological studies of *Aconogonon* (Polygonaceae) from Pakistan. *Sarhad Journal of Agriculture*, 31(1), 16–21.
- Yasmin, G., Khan, M., Shaheen, N., Hayat, M. Q., Ahmed, M., & Zafar, M. (2009). Taxonomic utility of palynological characters in the genus *Fallopia* Adan, Family Polygonaceae from Pakistan. *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 798–800.
- Yurtseva, O., Severova, E., & Bovina, I. (2014). Pollen morphology and taxonomy of *Atraphaxis* (Polygonaceae, Polygonaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 300(4), 749–766. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0917-4>

APÉNDICE

Material examinado de *Neomillspaughia* y *Podopterus* y su respectivo número de catálogo dentro de la colección palinológica de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY-PAL).

Neomillspaughia emarginata. México. Campeche, 4 km del camino a Uayamon, 20 Sep 1983, *J. J. Ortiz* 371 (MO5687094) (UADY-PAL 426); Quintana Roo, 3.5 km SW of Tihosuco, 4 Ago 1972, *G. L. Webster* y *S. P. Lynch* 17684 (MO2706804) (UADY-PAL 427); Quintana Roo, 8 km al Sureste de Cobá, 12 Ago 1980, *O. Téllez* 3208 (MO5703356) (UADY PAL 428); Yucatán, Yaxcabá, Tixcaltuyub 8 km al norte, 26 Jun 1980, *C. Vargas* 59 (MO5703363) (UADY PAL 425). *Neomillspaughia hondurensis*. Honduras. El Paraíso, Morocelí, Quebrada Guisire aprox. 6 km de Morocelí, 8 Jun 2003, *J. Linares* 6580 (MEXU1164362) (UADY PAL 429), 6595 (MEXU1164363) (UADY PAL 430); Francisco Morazán, along road to Olancho, c. 2 mi NE of Tegucigalpa, 6 Jul 1962, *G. L. Webster et al.* 12062 (MO1982180) (UADY PAL 432); Guatemala. Zacapa, between km 40 and 45 on road to Chile, 21 Oct 1994, *J. J. Castillo* 2283 (MO5707835) (UADY PAL 431). *Neomillspaughia paniculata*. Honduras, Olancho, Juticalpa, llanura de Juticalpa, a 5 km de la misma, 21 Oct 1979, *D. B. Pereira* 96 (MO3604251) (UADY PAL 435); Comayagua, Villa Chicuas, near Villa Chicuás, 11 Sep 1974, *D. L. Harlett* 2017 (MO2238414) (UADY PAL 434); Nicaragua. Estelí, San Juan Limay, Los Encuentros, 1 Sep 1980, *P. P. Moreno* 1939 (MO5707985) (UADY PAL 433). *Podopterus cordifolius*. México. Guerrero, Acapulco, 18 Feb 1941, *I. Raugman* 3342 (MEXU1317369) (UADY PAL 437); México. Jalisco, La Huerta, Chamela, Arroyo Careyes, 07 Jul 1991, *M. A. Ayala* 91-252 (MEXU593221) (UADY PAL 436); *Podopterus guatemalensis*. Nicaragua. Boaco, Santa Cruz, 1 km E of Santa Cruz, W of Teustepe, 7 Jun 1984, *W. D. Stevens* 22919 (MO5707957) (UADY PAL 438). *Podopterus mexicanus*. México. Yucatán, Ticul, North slopes of hills south of Ticul, 22 Feb 1982, *D. A. White* y *R. Mott* 104 (BM000827824) (UADY PAL 440); México. Yucatán, *E. Cabrera* 10177 (UADY021951) (UADY PAL 439).

MORFOANATOMÍA, HISTOQUÍMICA Y GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS DE *Mammillaria parkinsonii* Ehrenb. (CACTACEAE)

MORPHOANATOMY, HISTOCHEMISTRY AND GERMINATION OF THE SEEDS OF *Mammillaria parkinsonii* Ehrenb. (CACTACEAE)

Uribe-Salazar, Y.; A. Quintanar-Isaías; C. Barbosa-Martínez; J. Flores; y C.L. Jiménez-Sierra
MORFOANATOMÍA, HISTOQUÍMICA Y GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS DE
Mammillaria parkinsonii Ehrenb. (CACTACEAE).
MORPHOANATOMY, HISTOCHEMISTRY AND GERMINATION OF THE SEEDS OF
Mammillaria parkinsonii Ehrenb. (CACTACEAE).



**MORFOANATOMÍA, HISTOQUÍMICA Y GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS
DE *Mammillaria parkinsonii* Ehrenb. (CACTACEAE).**

**MORPHOANATOMY, HISTOCHEMISTRY AND GERMINATION OF THE SEEDS
OF *Mammillaria parkinsonii* Ehrenb. (CACTACEAE).**

Uribe-Salazar, Y.;
A. Quintanar-Isaías;
C. Barbosa-Martínez;
J. Flores;
y C.L. Jiménez-Sierra

MORFOANATOMÍA,
HISTOQUÍMICA Y
GERMINACIÓN DE LAS
SEMILLAS DE *Mammillaria
parkinsonii* Ehrenb.
(CACTACEAE)

MORPHOANATOMY,
HISTOCHEMISTRY AND
GERMINATION OF THE
SEEDS OF *Mammillaria
parkinsonii* Ehrenb.
(CACTACEAE)

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 119-134 Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.8

Y. Uribe-Salazar

*Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.*

**A. Quintanar-Isaías
C. Barbosa-Martínez**

*Departamento de Biología,
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.*

J. Flores

*División de Ciencias Ambientales,
Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, AC.
San Luis Potosí, México.*

C.L. Jiménez-Sierra / ceci_jsierra@hotmail.com

Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa.

RESUMEN: *Mammillaria parkinsonii* es una especie endémica de México protegida por la NOM-059-SEMARNAT-2010 en categoría especial (Pr), por lo que el presente estudio es una contribución al conocimiento de su morfoanatomía, histoquímica y germinación de las semillas procedentes de una población de Tolimán, Querétaro, localidad que se caracteriza por una alta diversidad de cactáceas. Las descripciones anatómicas e histoquímicas se hicieron en 20 semillas seleccionadas al azar, las que se procesaron usando los protocolos estándares para los estudios de microscopía electrónica de barrido y de luz y para obtener laminillas permanentes y semipermanentes. Para el estudio de germinación se sembraron 210 semillas en cajas Petri en agar, distribuidas en seis réplicas y para la obtención de peso y tamaño 50 semillas al azar. Los resultados muestran una cubierta seminal formada por una cutícula no estriada, con sustancias pécticas y proteicas. La exotesta ocupa 6.8% del volumen total de la semilla, presenta paredes anticlinales lignificadas, suberizadas y con proteínas, formando ondulaciones tipo U y con protuberancias. El endotegmen es suberizado y una membrana embrionaria sin contenidos ergásticos envuelve al embrión. El endospermo está confinado a la cresta dorsal. El embrión es globoso, con los cotiledones reducidos y el hipocótilo asume la función de reserva con una asociación “cristales globoides/cuerpos proteicos”. La región del hilo micropilar es pequeña y oval, formada por parénquima. La germinación inició el día cinco y concluyó el día 29, con un tiempo medio de germinación en el día 8.9. El porcentaje final de germinación fue del 74.3%. La edad, el tamaño de la semilla, el tipo de reservas minerales y proteicas, los tiempos y el porcentaje de germinación de *M. parkinsonii* sugieren un potencial comportamiento ortodoxo o intermedio para formar bancos de semillas de suelo en un hábitat desértico.

Palabras clave: cactaceae, cresta dorsal, embrión, exotesta, cristales globoides y cuerpos proteicos.

ABSTRACT: *Mammillaria parkinsonii* is a mexican endemic species protected by NOM-059-SEMARNAT-2010 in the special category (Pr), thus the present study is a contribution to the knowledge of the morpho-anatomy, histochemistry and germination of *Mammillaria parkinsonii* seeds from a population in Tolimán, Querétaro which is characterized by a high diversity of cacti. The anatomical and histochemical descriptions were made on 20 randomly selected seeds, which were processed using standard protocols for scanning electron and light microscopy studies and to obtain permanent and semi-permanent slides. For germination study 210 seeds were sown in Petri dishes on agar, using six replicas; weight and size were obtained using 50 seeds randomly selected. The results show that the seed coat is formed by a non-striated cuticle with pectics and proteinaceous substances. The exotesta occupies 6.8% of the total volume of the seed, it has lignified-suberized and protein-containing anticline walls, forming U-type undulations with protrusions. The endotegmen is suberized and an embryonic membrane lacking ergastic contents surrounds the embryo. The endosperm is confined to a dorsal ridge. The embryo is globose, with two cotyledonous protrusions, and the hypocotyl assumes the reserve function with a "globoid crystals/protein bodies" association. The micropylar hilum region is small and oval, filled with parenchyma. Germination started on day 5th and ended on day 29th, with a mean germination time on day 8.9. The final germination percentage was 74.29%. The age, seed size, crystal and protein reserve as well as germination percentage of the *M. parkinsonii* suggest a potential orthodox or intermediate behavior to form soil seed banks in a desert habitat.

Key words: cactaceae, dorsal ridge, embryo, exotestal seed coat, globoid crystal and protein bodies.

INTRODUCCIÓN

Las semillas de las cactáceas presentan una gran variedad en formas, tamaños y colores (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1991). Así mismo se distinguen tres estructuras principales: cubierta seminal o testa, embrión y tejido de reserva (Barthlott & Voit, 1979) y la presencia de atributos morfológicos con valor taxonómico asociados a la dispersión con posibles implicaciones evolutivas (Rojas-Aréchiga, 2012). Esto se ha podido precisar con imágenes de microscopía estereoscópica, óptica y de barrido (MEB) (Rojas-Aréchiga, 2012; Singh, 1999). Barthlott & Hunt (2000) desarrollaron un catálogo de micrografías con las descripciones de la estructura de la testa de las semillas de 1050 especies pertenecientes a 230 géneros de la familia Cactaceae, trabajo que resulta una aportación fundamental para la taxonomía (Arias & Terrazas, 2004; Arroyo-Cosultchi *et al.*, 2006, 2007; Zamudio & Guzmán, 2017) e ulteriores hipótesis sobre la relación con la germinación y la dispersión (Barrios *et al.*, 2020; Bregman, 1988). Al respecto, Sánchez-Salas *et al.*, (2015) estudiaron la morfometría de las semillas de la cactácea *Astrophytum miryostigma* Lem. usando imágenes de microscopía estereoscópica; sus resultados los llevaron a concluir que la forma navicular de las semillas está relacionada con la hidrodispersión. Bregman (1988) y Sánchez-Salas *et al.*, (2012) estudiaron la relación de la morfología de las semillas de cactáceas con los mecanismos de dispersión utilizando MEB y aunque sus resultados no son concluyentes sugieren relaciones con la hidrocoria. Por otro lado Maiti *et al.*, (1994) estudiaron con MEB la morfología de cinco especies de semillas de cactáceas, sin encontrar relación con el proceso de germinación, sin embargo, sólo sugieren que la presencia de testas de paredes delgadas, de gránulos de almidón y el alto porcentaje de germinación están asociados. Uribe Salazar (2016) estudió la germinación de semillas *Astrophytum ornatum* Lem y de *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto, sin encontrar relación entre la morfometría y el peso de las semillas con el tiempo de inicio de germinación y la probabilidad de germinación. Con respecto a los estudios histoquímicos, Núñez-Mariel *et al.*, (2001) describen la embriología de *Pachycereus militaris* (Audot) D.R.Hunt, reportando presencia de proteínas en el embrión. En este sentido Alencar *et al.*, (2012) señalan que las reservas más abundantes en semillas de *Cereus jamacaru* DC. son lípidos y proteínas. Por otro lado, en el caso de semillas del género *Echinocactus* Link & Otto, Lux *et al.*, (1994) señalan que las sustancias de reserva del embrión maduro se localizan en cuerpos lipídicos y cuerpos

proteicos. A pesar de la importancia que tiene el género *Mammillaria* Haw. la información sobre la morfoanatomía de las semillas es escasa. En este sentido sólo se conocen las descripciones morfológicas de la testa de 52 especies de este género, incluyendo a *M. parkinsonii*, que realizaron Barthlott & Hunt (2000) y el trabajo de Hernández-García & García-Villanueva (1991) en el que describen la escultura de la testa, el tamaño, la forma y la posición del embrión, así como su desarrollo y la identificación de proteínas y almidón en *Mammillaria rhodantha* Link & Otto y *Mammillaria compressa* DC. En México se han registrado 164 especies de 560 para este género, de las cuales 85 % son endémicas y 113 están en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010) debido al saqueo intensivo de sus ejemplares ya que son muy apreciadas como plantas de ornamento, por sus flores llamativas y por su facilidad para cultivar (Hernández-García & García-Villanueva, 1991). Para este género se reconocen seis áreas de distribución geográfica: una en el desierto sonoreense, cuatro en el desierto chihuahuense y la última en el Valle de Tehuacán-Cuicatlán (Hernández & Gómez-Hinostrosa, 2015).

Mammillaria parkinsonii Ehrenb. es endémica de México y se distribuye en los estados de Guanajuato, Hidalgo y Querétaro. Actualmente se encuentra en la categoría de Protección especial (Pr) en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (SEMARNAT, 2010) se enlista en el Apéndice II de (CITES) y en peligro (EN) en la (UICN). Al igual que muchas especies del género, por su forma, sus flores llamativas y el arreglo de sus espinas tiene un alto valor ornamental por lo que el saqueo intensivo ha menguado sus poblaciones silvestres. Es una planta de color verde-azulado que en etapa temprana el tallo presenta un crecimiento solitario globoso, en estadio juvenil se ramifica poco a muy abundantemente (Solórzano *et al.*, 2017) y cuando no se ramifica su forma de crecimiento es columnar de hasta 15 cm de altura y 8 cm de diámetro. Las areolas al surgir son redondas y presentan lana, posteriormente son desnudas, se sitúan ventralmente en los ápices de los tubérculos. Las espinas son radiales, aciculares, lisas y blancas. Las flores son de color rosa, en forma de campana de 1.2 a 1.5 cm de largo. Los frutos son carnosos (baya) de color marrón, piriformes, claviforme de 1 cm de longitud (Fig. 1A). Las semillas son de color marrón, piriformes, con testa lisa, de 1.8 mm de longitud y 0.8 mm de diámetro (Bravo-Hollis & Sánchez-Mejorada, 1991). Generalmente crece en altitudes de 1400 msnm cerca de rocas calcáreas (Gómez-Sánchez, 2001). Para esta especie sólo se conoce el estudio demográfico en una población ubicada en Peñamellier, Qro. (Jiménez, 2016). Esta autora encuentra que la población está mayormente representada por dos categorías: juveniles y adultos 1 y se asocia con plantas nodrizas; así mismo sugiere que por el tamaño de la semilla, el fotoblastismo positivo y la viabilidad es potencial formadora de bancos de semillas de suelo. Por lo anterior los objetivos de este estudio se enfocaron en la descripción morfoanatómica, la identificación y la ubicación de los tipos de sustancias ergásticas, así como el registro del proceso de germinación de semillas maduras de *Mammillaria parkinsonii*.

MÉTODOS

Área de recolecta

Los frutos maduros recolectados de *Mammillaria parkinsonii* proceden de una población de la región sur del desierto chihuahuense en Tolimán, Querétaro, México (latitud 20° 52' N; longitud 99° 57' W), altitud de 1200 msnm (Fig. 1B). La temperatura media anual es de 19.2 °C y con precipitación media anual de 361.4 mm (CONAGUA, 2010). La vegetación es un matorral xerófilo (González-Medrano, 2012). El tipo de suelo es calizo intercalado con afloramientos de lutitas (Bayona, 2016). Se elaboró un mapa de localización de la zona de procedencia con el software QGIS (QGIS Development Team, 2020).

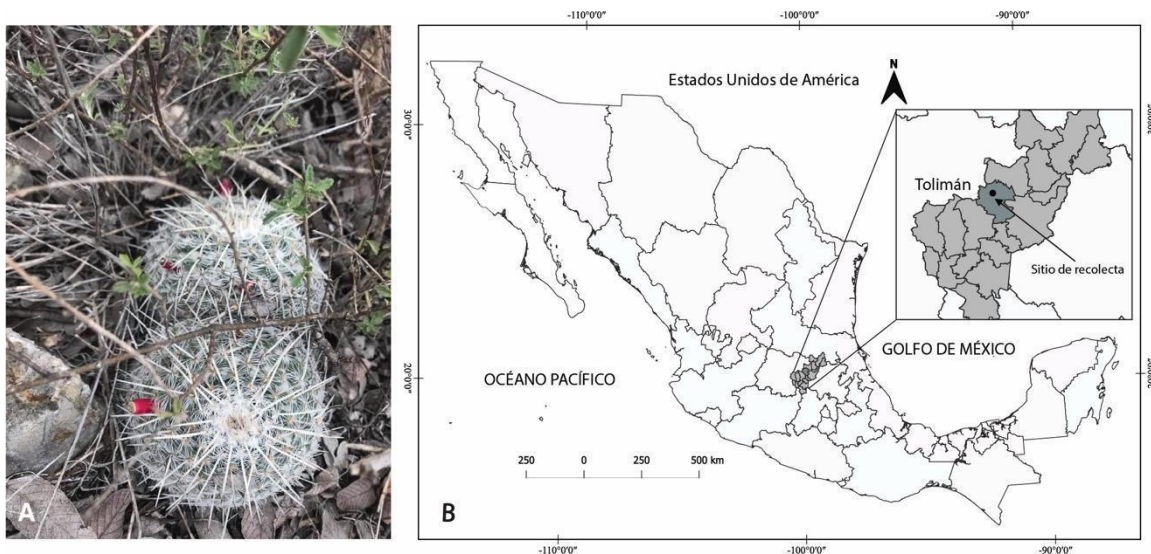


Fig. 1. A. *Mammillaria parkinsonii*; B. Localización del sitio de recolecta: Toluán, Querétaro. Mapa elaborado por Arroyo-Pérez E. modificado por E. Ruíz.

Morfometría y germinación de semillas

Los frutos de *M. parkinsonii* fueron recolectados en julio de 2017, cada uno de diferente planta (N=15), los que se depositaron en una bolsa individual de papel estraza y se dejaron secar durante 40 días a temperatura ambiente. Posteriormente las semillas de cada fruto se extrajeron, contaron y limpiaron con toallas de algodón húmedas para retirar los residuos de la pulpa del fruto. El total de semillas de todos los frutos (N = 252) se guardaron en una bolsa de papel de estraza y se conservaron a temperatura ambiente. Para obtener el peso y el tamaño se tomaron 50 semillas al azar. El peso de cada semilla se obtuvo con una balanza analítica (OHAUS, analytical standard AS 120). Los valores obtenidos se registraron en una base de datos y se hizo la estadística descriptiva empleando Microsoft Excel 365.

Para obtener el tamaño de la semilla, primero se obtuvo una imagen escaneada del lote de 50 semillas, empleando el Escaner Epson perfection V370 photo. Esta imagen se corrió en el programa Fiji, versión 2.1 (Schindelin *et al.*, 2012) con el que se obtuvieron las variables: largo y ancho y la proporción largo/ancho de cada semilla, así como la estadística descriptiva. Con esta información y utilizando como referencia las escalas propuestas por Barthlott & Hunt (2000) se definió el tamaño y la forma de la semilla.

La preparación y siembra de las semillas de 14 meses de edad de cosecha se realizó en septiembre de 2018, siguiendo el protocolo de Reyes (2009). Se inició con un choque térmico sumergiendo el lote completo de semillas (N=210) en agua destilada a 50 °C donde permanecieron por 24 horas. Las semillas posteriormente se desinfectaron con hipoclorito de sodio (Cloralex) al 10% durante 10 minutos y con fungicida (Captan Bayer (PH 50) 1g/100 ml en agua destilada) por 10 minutos. La siembra se realizó colocando 35 semillas/caja Petri en agar bacteriológico (Bioxon) al 1% con seis réplicas y se mantuvieron en una cámara de crecimiento (Lumistell, modelo ICP-19) a temperatura constante de 25 °C, con un fotoperiodo de 12 h luz/12 h oscuridad. Al emerger la radícula con al menos 2 mm de longitud se consideró como semilla germinada. El registro de datos se realizó diariamente por 40 días. Los datos obtenidos fueron: día de inicio y término de germinación; porcentaje final de germinación y tiempo medio de germinación, el que se calculó con la siguiente ecuación; $TMG = \frac{\sum(Dn)}{\sum n}$ donde; TMG= tiempo medio de germinación, n= número de semillas que germinan el día D, y

D= es el número de días a partir de la fecha de siembra (Ellis & Roberts, 1981) y se obtuvo la gráfica de la curva de germinación acumulada empleando Microsoft Excel 365.

Anatomía e histoquímica

Microscopía Electrónica de Barrido. Para la fijación y procedimientos de secado y montaje para microscopía electrónica de barrido (MEB) se emplearon seis semillas y los protocolos estándares (Bozzola & Russell, 1999). Para la desecación al punto crítico se empleó un desecador (Samdri-780B, marca Toumisii) y para cubrir con oro un recubridor por pulverización (Desk III, marca Denton Vacuum). Las observaciones y las micrografías se realizaron bajo un microscopio electrónico de barrido (JMS-5900 LV, marca JEOL). Se describieron las siguientes características en la superficie de la exotesta de las semillas: microrelieve de la testa, contorno, patrón celular de la región lateral y dorsal, límites celulares anticlinales y periclinales y características de la región hilo micropilar (RHM).

Histoquímica. Para los protocolos histoquímicos y elaboración de laminillas permanentes se emplearon 15 semillas fijadas en FAA (formaldehído (10v): ET-OH 96% (50v): ácido acético glacial (5v): agua destilada (35v)) (Ruzin, 1999). Se lavaron con agua destilada por 48 horas. Las semillas se montaron en platinas para criostato usando el medio Tissue Tek[®] OCT Compound. Se elaboraron cortes medianos longitudinales y transversales de hasta 15 μ m, empleando un criostato (marca Leica) a -20°C (Krishnamurty, 1988; Ruzin, 1999).

Para la localización de sustancias ergásticas se usaron usó: azul de toluidina (1% acuoso) para ubicar lignina y taninos; sudán IV (0.2% alcohólico acidificado) para lípidos (aceites y ceras); lugol (yoduro de potasio al 1.5% y yodo al 0.3%, madurado) para carbohidratos no estructurales (almidones y pectinas); eosina amarilla (1%) y azul de Coomasi (0.02%) para proteínas (cuerpos proteicos) (Johansen, 1940; Krishnamurty, 1988; Ruzin, 1999).

Anatomía. Se elaboraron laminillas permanentes usando un tren de deshidratación alcohólica (60° - 100° EtOH). En el cambio a 70° EtOH se tiñó con safranina alcohólica (1% en 70° EtOH) por 20 minutos, lavado con 70° EtOH tres cambios continuos. Previo al cambio a 100° EtOH se tiñó con verde rápido (0.05% 100 EtOH) por media hora; se hicieron tres lavados con 100° EtOH. Posteriormente se usó un tren con soluciones alcohólicas (EtOH absoluto/Alcohol terbutílico absoluto (TBA)) de 75° EtOH/ 25° TBA, 50° EtOH/ 50° TBA, 100° TBA, se hicieron dos cambios por concentración alcohólica, cada cambio con 3 minutos. Se montaron en resina Entellán[®]. El protocolo empleado se ajustó siguiendo a Ruzin (1999). La descripción y toma de fotografías se realizó con un par de microscopios ópticos compuestos Zeiss modelo K7 con cámara Nikon D-50, y Leica modelo DM 500 con cámara integrada ICC50W.

Las características anatómicas que se midieron en las secciones transversales fueron: grosor de la cutícula, grosores de la exotesta: mayor, menor y total; grosor total de la exotesta + grosor de la cutícula; longitud de las protuberancias, grosor del endotegmen, grosor de la membrana embrionaria y el largo y ancho de los cuerpos proteicos (Fig. 2). En sección longitudinal se midieron: el largo y ancho del embrión en la zona media de la semilla, la longitud total de la semilla, grosor del endospermo en cresta dorsal, largo y ancho de las células corticales, medulares, del procambium, de la caliptra y del ápice caulinar y radicular, empleando un ocular micrométrico calibrado. Con los datos obtenidos se obtuvieron las medias y desviaciones estándar, empleando Microsoft Excel 365.

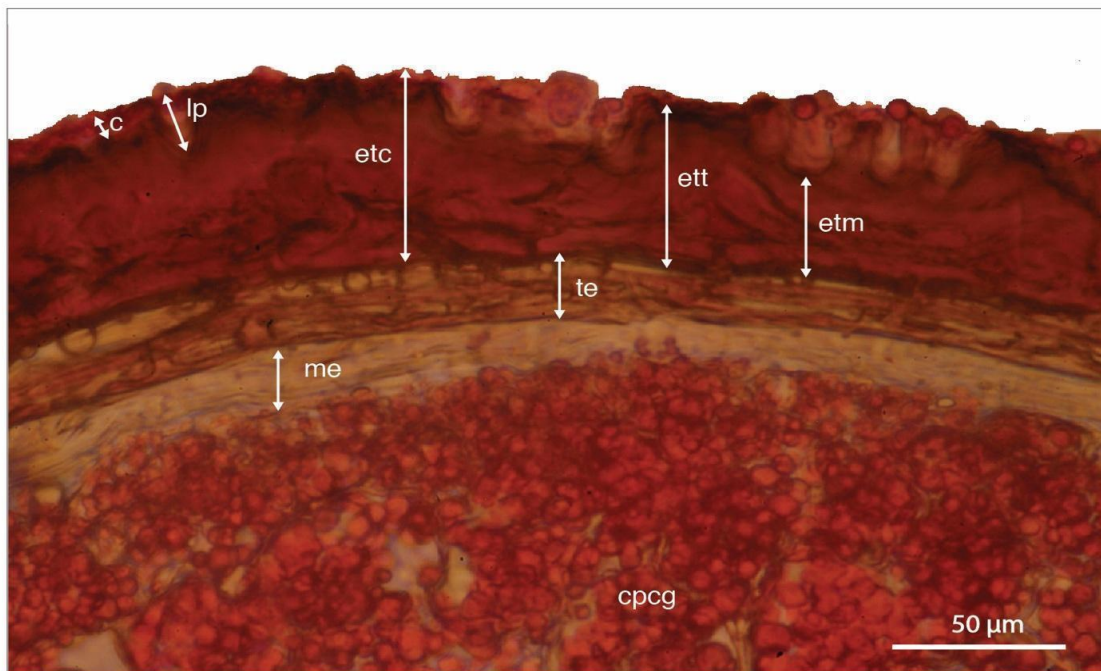


Fig. 2. Características anatómicas empleadas en la descripción de la semilla de *Mammillaria parkinsonii*.
 c = cutícula; cpcg = cuerpos proteicos y cristales globoides en el embrión; etc = exotesta con cutícula; etm = exotesta total menor; ett = exotesta total sin cutícula; lp = longitud de las protuberancias; me = membrana embrionaria; te = endotegmen.

RESULTADOS

Morfometría y germinación

Los frutos de *Mammillaria parkinsonii* pueden contener entre 7 y 41 semillas y en promedio 18 ± 9.2 semillas/fruto. Las semillas pesan 0.4 ± 0.1 mg; miden 0.98 ± 0.11 mm de largo y 0.62 ± 0.07 mm de ancho. Las semillas son de tamaño pequeño y presentan una proporción largo/ancho de 1.58 ± 0.18 por lo que se consideran de forma oval. La cubierta seminal tiene color castaño rojizo, apariencia semi-mate y aspecto rugoso. Las paredes anticlinales y periclinales observadas en superficies paradermales con MEB, se aprecian elevadas con apariencia alargada y ondulada (Fig. 3B, 3C y 3E). En la periferia lateral de la semilla destaca una cresta dorsal sin dehiscencia y en la región apical la forma es redonda (Fig. 3A).

La curva de germinación acumulada muestra que a partir del día 5 y hasta el día 8 el incremento es lineal y germinó 50% que equivale a 105 semillas. Del día 9 al 15 germinó otro 15% y a partir del día 16 solo el 6%. Después de los 30 días ya no se registraron semillas germinadas. El porcentaje final de germinación fue de 74.3% y el tiempo medio de germinación se observó al día 8.9 (Fig. 4).

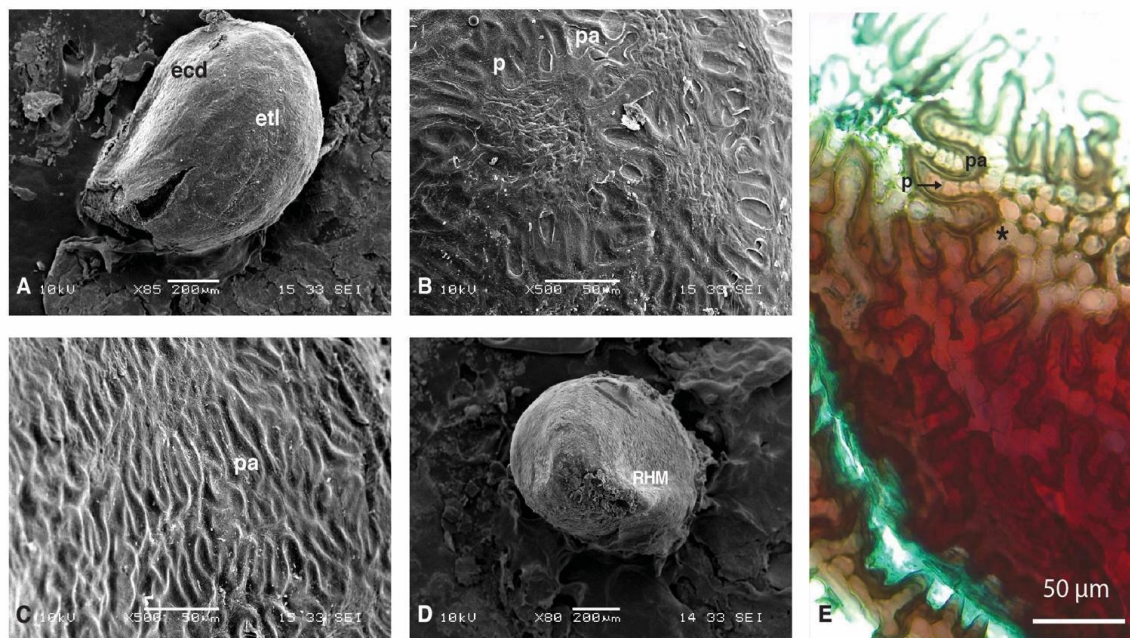


Fig. 3. *Mammillaria parkinsonii*. A-D, micrografías en Microscopio electrónico de barrido. A) Región lateral de la semilla. B) Detalle de la superficie lateral de la semilla. C) Detalle de la superficie de la región de la cresta dorsal. D) Región hilo-micropilar. E) Microscopía de luz. Sección paradermal de la red de paredes anticlinales y periclinales que conforman la cubierta seminal. ecd = exotesta cresta dorsal; etl = exotesta lateral; p = protuberancias; pa = paredes anticlinales en vista paradermal; RMH = Región Hilo Micropilar; *material péctico y proteico.

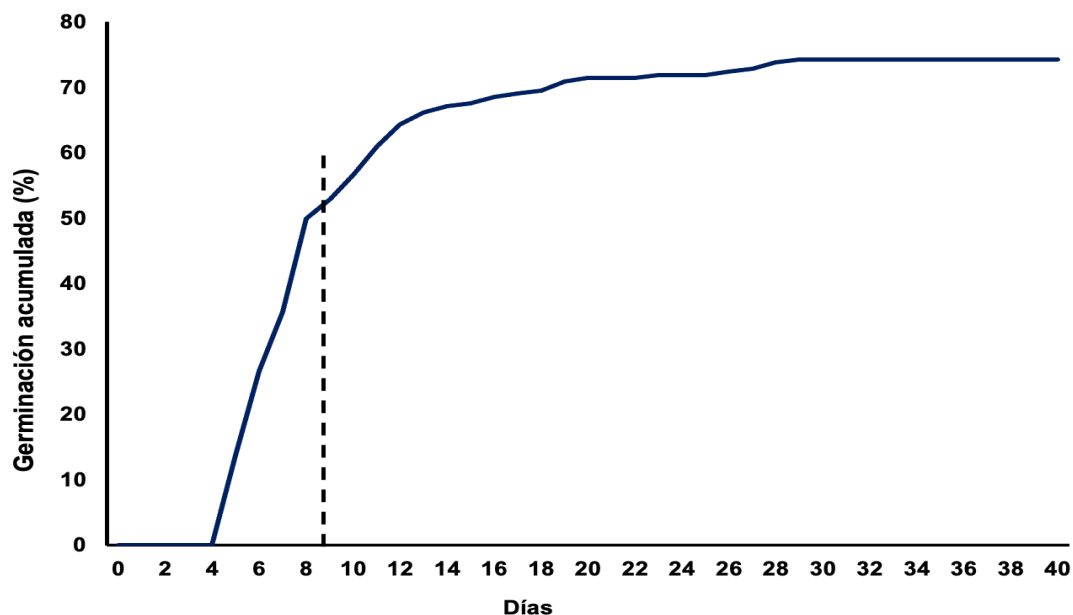


Fig. 4. Curva de germinación acumulada de las semillas de *Mammillaria parkinsonii* a través del tiempo. La línea punteada indica el TGM.

Histología e histoquímica

En vista superficial, las células de la exotesta de la cara lateral muestran un patrón profundamente lobulado (Fig. 3B, 3C y 3E); las paredes periclinales (PP) y anticlinales (PA) forman una "U". Entre ellas se aprecia una red de membranas anticlinales (protuberancias), sobre la pared periclinal de la exotesta (Figs. 3E, 5D-5G, 6G). En la región de la cresta dorsal las PA de las células de la exotesta son más alargadas con lóbulos más cerrados (Fig. 3C) y entre sus PA también se aprecian las protuberancias (Figs. 3E y 5E). En secciones transversales, la exotesta con cutícula mide $38.7 \mu\text{m} \pm 4.79$, se observa que la cutícula es uniforme superficialmente y hacia el interior en algunas zonas forma domos pequeños (Fig.s 5E); en grosor mide $4.75 \mu\text{m} (\pm 0.92)$, presenta lípidos y proteínas (Fig. 5A, 5C-5E y 5G). La exotesta es irregular, la superficie periclinal más gruesa sin cutícula mide $30.56 \mu\text{m} \pm 2.52$, y la menos gruesa 17.05 ± 2.62 (Fig. 2), con engrosamientos laminares de las PP que cierran el lumen celular, con presencia de proteínas (Fig. 5C, 5D y 5G), ceras (Fig. 5E) y lignina (Fig. 6H). Las protuberancias de la exotesta miden aproximadamente $13.39 \mu\text{m} \pm 2.87$ de alto (Fig. 2). Entre la cutícula y la exotesta se aprecia un espacio irregular que mide $2.98 \mu\text{m} \pm 0.59$ con presencia de sustancias de origen péctico y proteico (Figs. 3E, 5G y 6H).

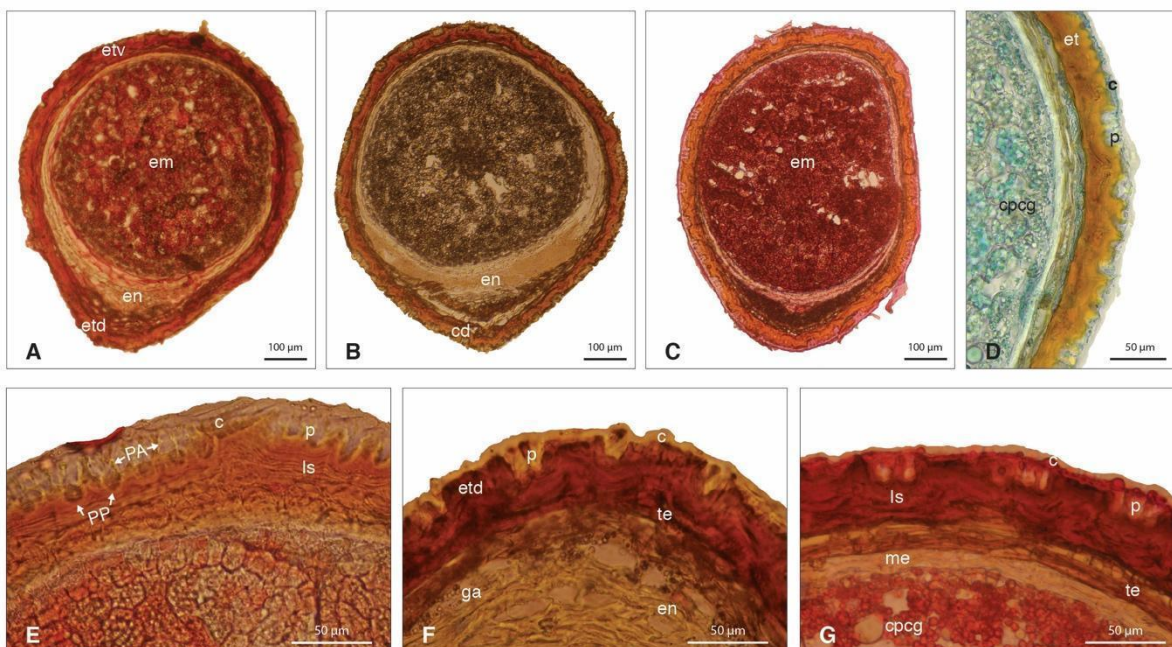


Fig. 5. Sección media transversal de la semilla de *Mammillaria parkinsonii*. D, E y G. Detalles de la exotesta. A-C y F. Detalle de la cresta dorsal. c= cutícula; cd= cresta dorsal; cpcg= cuerpos proteicos y cristales globoides; em= embrión; en= endospermo; etd= exotesta dorsal; etv= exotesta ventral; ga= granos de almidón; ls= láminas de suberina; me= membrana embrionaria; p= protuberancias; PA= pared anticlinal; PP= pared periclinal; te= endotegmen. A y D. Sudán IV. B y F. Lugol. C y G. Eosina amarilla. D. Azul de Coomasi

El endotegmen es una estructura que está formada por una capa de células de paredes gruesas, aplanadas en dirección anticlinal, con lumen reducido, tiene un grosor de $11.42 \mu\text{m} \pm 1.23$ (Figs. 5G y 6E). Las paredes muestran ceras, posiblemente suberina (Fig. 5E).

La cresta dorsal presenta un grosor máximo de aproximadamente $67 \mu\text{m}$. Formada por un estrato de células de la exotesta y tres o cuatro hileras de células aplanadas del endotegmen, seguidas de varios estratos de células del endospermo que presentan granos de almidón (Fig. 5A-5C y 5F).

El endospermo está localizado en posición lateral y longitudinal en la zona de la cresta dorsal (Fig. 5A y 5B). Las células de paredes primarias, delgadas y aplanadas con pequeños granos de almidón casi esféricos que miden $4.16 \mu\text{m} \pm 0.88$ (Figs. 5F y 6B y 6F). Fuera de la cresta dorsal continúa como una lámina delgada hasta antes del diámetro medio de la semilla y se ubica claramente entre el endotegmen y la membrana embrionaria (Figs. 5A-5C y 6E).

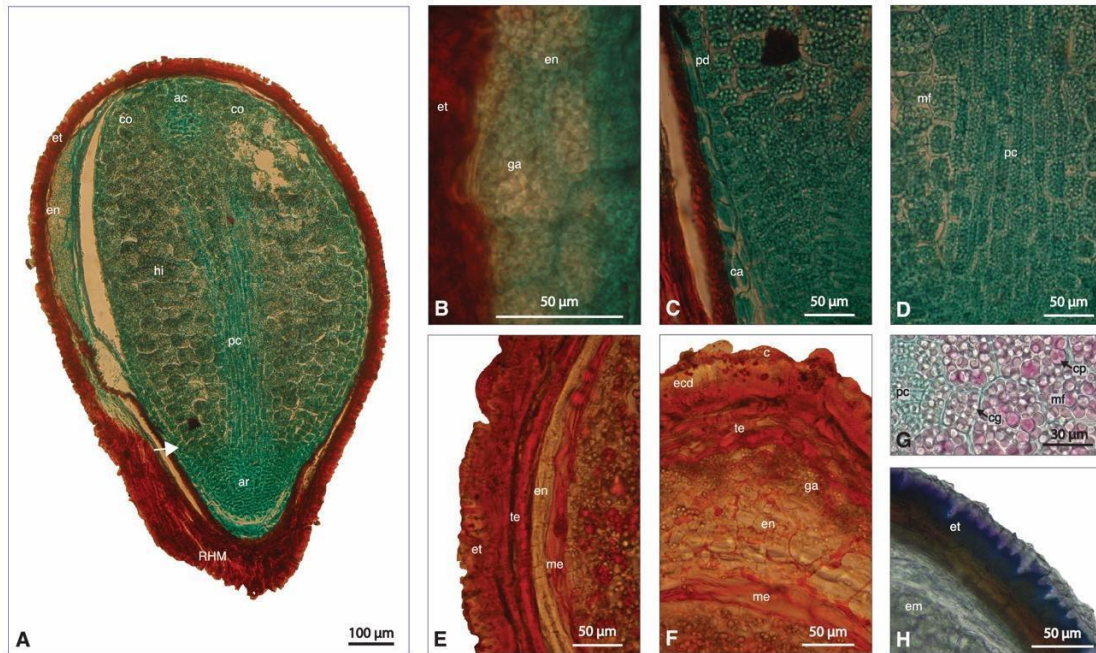


Fig. 6. Secciones longitudinales A-D y transversales E-H de la semilla de *Mammillaria parkinsonii*. A. Semilla completa. B y E. Detalle de exotesta y endospermo. C y D. Detalle de la zona basal del hipocótilo. F. Detalle de la cresta dorsal. G. Detalle de la zona del meristemo fundamental y procambium con cristales globoides y cuerpos proteicos. H. Detalle de la cutícula y exotesta. ac = ápice caulinar; ar = ápice radicular; c = cutícula; ca = células de la caliptra; cg = cristal globoso; co = cotiledón; cp = cuerpo proteico; ecd = exotesta dorsal; en = endospermo; em = embrión; et = exotesta; ga = granos de almidón; hi = hipocótilo; me = membrana embrionaria; mf = meristemo fundamental; pc = procambium; pd = protodermis; RHM = región hilo micropilar; tg = endotegmen; flecha: indica el límite superior de la radícula y el límite inferior del hipocótilo. A-D y G Safranina-Verde Rápido, E y F Sudán IV. H. Azul de Toluidina.

El embrión tiene forma globular, es recto, con una longitud de aproximadamente $850 \mu\text{m}$ y un ancho de $596 \mu\text{m}$. Con una membrana embrionaria rodeándolo de $8.35 \mu\text{m} \pm 1.74$ de grosor, sin contenidos ergásticos y reacciona intensamente a lípidos (Figs. 5G y 6E y 6F). El hipocótilo ocupa la mayor parte del volumen de la semilla (Figs. 6A y 7A). Los cotiledones son apenas dos protuberancias apicales (Figs. 6A y 7B). El ápice caulinar mide aproximadamente $38.46 \mu\text{m}$ de alto y $53 \mu\text{m}$ de ancho, formado por una sola capa de células (dermatógeno) y dos o tres iniciales (Fig. 7A y 7B). El meristemo fundamental ocupa la región cortical y medular del hipocótilo (Fig. 7A); estas últimas son pequeñas y ovaladas, miden $26 \mu\text{m} \pm 0.73$ de alto y $36 \mu\text{m} \pm 0.42$ de ancho; las corticales son isodiamétricas y miden $36 \mu\text{m} \pm 0.83$ de largo y $46 \mu\text{m} \pm 1.95$ de ancho (Figs. 6A y 7A), con cristales globoides y cuerpos proteicos que en conjunto miden $8.4 \mu\text{m} \pm 0.96$, los que aumentan de tamaño al incrementar el volumen celular (Fig. 6G).

El procambium tiene aproximadamente $650 \mu\text{m}$ de largo; en la parte media del embrión se observan dos ramificaciones de este que entran a los cotiledones (Figs. 6A y 7A). Estas células derivadas son pequeñas y rectangulares de $46 \mu\text{m} \pm 1.17$ de alto y $10 \mu\text{m} \pm 0.60$ de ancho;

contienen cuerpos proteicos y cristales globoides que en conjunto miden $4.67 \mu\text{m} \pm 0.96$ (Fig. 6A, 6C-6D y 6G).

La radícula se orienta hacia la región hilo-micropilar (Figs. 6A y 7A). El ápice radicular de $137.8 \mu\text{m}$ de largo y $148.6 \mu\text{m}$ de ancho, sugiere ser de tipo cerrado pues no se distinguen las células iniciales de las derivadas ni del centro quiescente. Apenas se distingue una breve región de la columela y la caliptra formada por tres a cuatro capas de células en la zona apical, las que miden $21.29 \mu\text{m} \pm 8.9 \times 12.0 \mu\text{m} \pm 2.26$ (Figs. 6C y 7A). Las células de la protodermis y las del tejido fundamental de esta zona tienen forma y tamaño característicos. Las primeras son más comprimidas y las segundas isodiamétricas de aproximadamente un tercio del tamaño de las células del hipocótilo. Estas características definen claramente el límite superior del ápice radicular y el basal del hipocótilo (Fig. 6A y 6C).

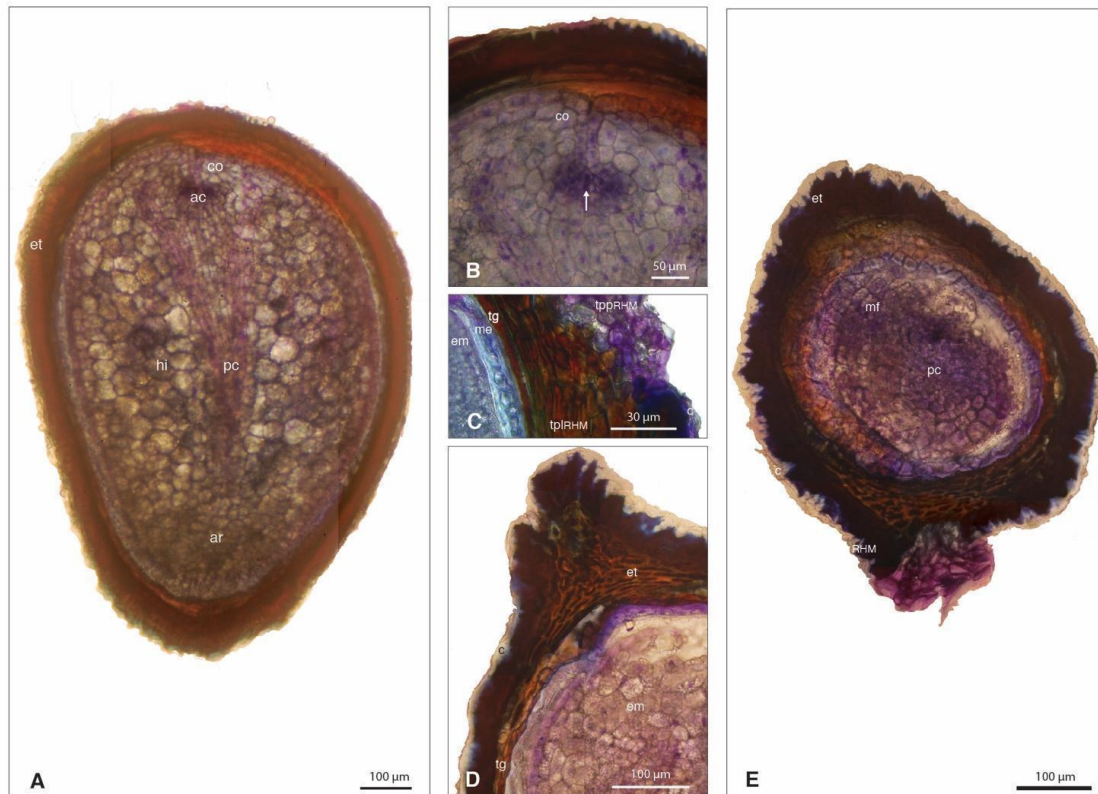


Fig. 7. *Mammillaria parkinsonii*. A y B. Sección longitudinal de la semilla y ápice caulinar del embrión. B. Detalle del ápice caulinar. C. Detalle de la región del hilo micropilar. D. Detalle de la región de la exotesta que cubre a la RHM. E. Sección transversal del ápice radicular. ar = ápice radicular; c = cutícula; co = cotiledón; em = embrión; et = exotesta; hi = hipocótilo; mf = meristemo fundamental; pc = procambium; RHM = región hilo micropilar; tg = endotegmen; tppRHM = tejido de paredes lignificadas de la RHM; tppRHM = tejido parenquimatoso de paredes primarias de la RHM; flecha = ápice caulinar. Azul de Toluidina

La región hilo-micropilar (RHM) es pequeña de forma oval, oblicua, superficial y fusionada, mide $142.8 \mu\text{m} \times 428.5 \mu\text{m}$ (Fig. 3D); formada por células de parénquima de paredes primarias (Fig. 7C-7E). La RHM está rodeada por la exotesta, la que en esa zona presenta hasta seis estratos de células de paredes secundarias lignificadas. Las formas celulares que se observan son de dos tipos: unas aplanadas y ubicadas hacia la periferia (Fig. 7D y 7E) y otras isodiamétricas que hacen contacto con las células del parénquima de la RHM (Fig. 7C) con cavidades que contienen posiblemente polifenoles. El endotegmen llega hasta el micrópilo (Fig. 7D).

DISCUSIÓN

Las semillas de *M. parkinsonii* presentaron tamaño pequeño, lo que es similar a lo reportado para especies del mismo género por Barthlott & Hunt (2000); Serna-Navarrete-L (2007); López-Godínez (2009); Jiménez (2016) y Zamudio & Guzmán (2017). El tamaño pequeño puede evitar la depredación por mamíferos (pequeños o medianos) e insectos (Rojas-Aréchiga & Batis, 2001). Esta característica también puede facilitar la dispersión por viento y agua (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes, 2000). El viento puede ser un vector importante en la dispersión debido al peso y en época de lluvias las corrientes de agua pueden trasladar las semillas lejos de las plantas madre. Este último factor podría dañar la superficie seminal provocando escarificación natural. Adicionalmente el tamaño pequeño está asociado a la formación de bancos de semillas de suelo (BSS) lo que favorece su fotoblastismo positivo y longevidad ecológica a corto plazo (Jiménez, 2016). Al quedar enterradas pueden conservarse en la oscuridad a bajas temperaturas lo que conlleva a la condición quiescente y por tanto su permanencia en el BSS.

El porcentaje final de germinación de las semillas de este estudio fue del 74.3%. Jiménez (2016) encuentra que en general para semillas de diferentes edades de *M. parkinsonii*, germinan en un 80% las más viejas y en un 90% las más jóvenes. Rojas-Aréchiga *et al.*, (2013) reportan los porcentajes de germinación de semillas pequeñas de ocho especies para este género (*Mammillaria discolor* Haw., *Mammillaria haageana* Pfeiff., *Mammillaria lanata* Orcutt, *Mammillaria microhelia* Werderm., *Mammillaria mystax* Mart., *Mammillaria pottsii* Scheer ex Salm-Dyck, *Mammillaria solisoides* Backeb., *Mammillaria sphacelata* Mart.) que oscilaron entre 30 y 100%, aunque no documentan las edades. Sánchez-Salas *et al.*, (2006) encontraron para *Astrophytum myriostigma* Lem. que las semillas pequeñas y grandes tuvieron el 90% y el 58% de germinación respectivamente. Lo anterior sugiere que el tamaño y la edad de la semilla pueden estar relacionados con el porcentaje de germinación, por lo que es indispensable hacer más estudios sobre esta relación. Por otro lado, el tiempo medio de germinación para *M. parkinsonii* fue en el día 8.9 dato que se reporta por primera vez. Para esta variable no existe mayor información que ayude a sugerir si estos tiempos pueden ser característicos de semillas pequeñas.

En este estudio se reporta por primera vez la presencia de cutícula, con contenidos de origen péctico y proteico, lo que sugiere que los pequeños domos cuticulares internos que descansan en las terminaciones de las paredes periclinales (PP) de la exotesta se mantengan adheridos. En este sentido (Hernández-García & García-Villanueva (1991) localizan esta estructura en *Mammillaria rhodantha* Link & Otto y en *Mammillaria compressa* De Candolle, sin embargo, Barthlott & Hunt (2000) reportan su ausencia en *M. parkinsonii* y enfatizan la importancia de esta estructura, con o sin estrías, como atributo taxonómico, por lo que se debe revisar su presencia en otras especies del género.

La exotesta de esta especie adquiere una arquitectura superficial característica, dado que las células ubicadas en la cresta dorsal tienen menos protuberancias que las laterales, debido a que las paredes anticlinales (PA) son más cerradas, lo que se evidencia en las secciones transversales de la semilla y en la vista paradermal. Las ondulaciones tipo U y las protuberancias irregulares encontradas en las PP y PA para *M. parkinsonii* parecen ser características del género, ya que Hernández-García & García-Villanueva (1991) las reportan para *M. compressa* y *M. rodantha* y Barthlott & Hunt (2000) en otras especies del género; sin embargo, éstos últimos autores encuentran mayor diversidad de ondulaciones al reportar tipos U, V, S y Ω en 52 especies de *Mammillaria*. Si estos caracteres son relevantes en la taxonomía, es requisito abordar su gran diversidad morfológica.

Las paredes de la exotesta de *M. parkinsonii* presentaron láminas de suberina, depósitos de lignina y proteínas. Para esta estructura solo se han reportado taninos en las cavidades de la exotesta de *Pereskia licheniflora* DC. (Jiménez-Durán *et al.*, 2014) y en las de *M. compressa* y

M. rodantha y (Hernández-García & García-Villanueva, 1991). Con respecto al endotegmen, éste se conserva con presencia de lípidos en sus PP y sin depósitos ergásticos en sus cavidades, atributos morfológicos que no le otorgan rasgos cuticulares, como lo sugieren Hernández-García & García-Villanueva (1991). Tanto estos autores como Jiménez-Durán *et al.*, (2014) reportan que el endotegmen no se pierde durante la embriogénesis y lo ubican como una región con células elongadas, con taninos y comprimidas hacia el micrópilo. En *M. parkinsonii*, tanto éste carácter junto con la exotesta representan el 6.8% del volumen de la semilla. Los contenidos encontrados en ambas estructuras le confieren una condición hidrofóbica, vital para la impermeabilidad.

El endospermo de *M. parkinsonii* está confinado principalmente hacia la cresta dorsal, sin sufrir compresión y con presencia de granos de almidón, aunque en la región lateral se presenta como una lámina comprimida disfuncional sin material ergástico, asumiendo el hipocótilo el compromiso de almacenamiento de nutrientes (Hernández-García & García-Villanueva, 1991). En este sentido Núñez-Mariel *et al.*, (2001) reportan que durante el desarrollo del embrión de *Pachycereus myliarays*, el perispermo está reducido a una pequeña franja en la región cóncava del embrión y el endospermo formado por un solo estrato de células que rodea a la radícula y al hipocótilo, ambos tejidos consumidos casi en su totalidad, lo que contrasta con lo observado para el género *Mammillaria* y para la especie en estudio.

En el presente estudio se confirma la existencia de una membrana embrionaria como una tercera estructura que envuelve al embrión y para el género *Mammillaria* se reporta por primera vez. Esta estructura sólo se ha reportado en *Astrophytum myriostigma* por Sánchez-Salas *et al.*, (2015). Su composición sugiere un atributo funcional adicional que reviste al embrión con fines hidrofóbicos.

El embrión de *M. parkinsonii* ocupa aproximadamente el 93% del volumen de la semilla, formado por células meristemáticas que contienen dos estructuras asociadas: los cristales globoides y los cuerpos proteicos. Destaca que en las células isodiamétricas corticales del meristema fundamental se localizan los cuerpos proteicos de mayor tamaño, es decir, es la zona de almacenamiento más importante; en contraste los de menor talla se localizan en las células del procambium, esto es similar para los tamaños de los cristales globoides, lo que se describe por primera vez para esta especie. Estas dos estructuras proveen del equipamiento de proteínas protectoras a la desecación, como fuente de energía y nitrógeno, y los segundos como fuente de minerales como: P, K y Mg y ocasionalmente presentan Ca, Mn, Fe, Ba, Zn, S y Cl, fundamentales para la germinación (Guevara-Farfan, 2019; Lux *et al.*, 1994; Matilla, 2008). En este sentido se han reportado presencia de cuerpos lipídicos y proteicos en las semillas de *Echinocactus platyacanthus* Link & Otto, por Lux *et al.*, (1994) enfatizando su localización en la radícula. En *Pachycereus militaris* (Audot) D.R.Hunt. Núñez-Mariel *et al.*, (2001) en *M. compressa* y *M. rodantha*, Hernández-García & García-Villanueva (1991) y en *Pereskia lichnidiflora* DC. Jiménez-Durán *et al.*, (2014) sólo se refieren a la presencia de proteínas. Y finalmente Alencar *et al.*, (2012) reportan para las semillas de *Cereus jamacaru* DC. lípidos, proteínas y en menor proporción, azúcares solubles, aminoácidos y almidón como las moléculas de reserva más abundantes. Resalta que por un lado los cristales globoides no han sido reportados en las semillas de ninguna otra especie de la familia Cactaceae y por otro lado que el origen y ubicación de la asociación “cristales globoides/cuerpos proteicos” contrasta con el de los granos de aleurona presentes en las semillas de otras familias botánicas.

En *M. parkinsonii* la RHM es una estructura similar a un tapón, el que está formado por células de parénquima de paredes primarias, lo que le da atributos altamente higroscópicos. Esta estructura está forrada por células de la exotesta y por células isodiamétricas con paredes secundarias fuertemente lignificadas (esclerificadas) lo que sugiere que la dirección de entrada del agua es exclusivamente por el micrópilo donde ocurrirá la absorción e hidratación de las células del parénquima. Por su forma isodiamétrica las células lignificadas tienen menor superficie de contacto entre ellas y por lo tanto pueden favorecer la ruptura de esa zona cuando

emerge la radícula, lo que Bregman & Bouman (1983) demuestran cuando estudian la emergencia de la radícula en *Mammillaria bella* Backeb. En contraste, Orozco-Segovia *et al.*, (2007) mencionan que en la RHM de la semilla de *Opuntia tomentosa* se forman dos estructuras: un canal que se embebe de agua y una válvula de germinación por donde emergerá la radícula. Estas estructuras se forman durante la deshidratación y maduración de la semilla.

CONCLUSIONES

M. parkinsonii presenta semillas de tamaño pequeño con alta viabilidad características que pueden ser asociadas a la formación de BSS. La morfología externa de la semilla representa un gran valor taxonómico a nivel de género y de especie lo que puede contribuir con un papel importante en la sistemática de la familia.

La relación morfoanatómica de la cubierta seminal le confiere a la semilla atributos que direccionan la entrada del agua exclusivamente por el micrópilo. La estructura de la exotesta, el endotegmen, la membrana embrionaria y la composición con sustancias disímiles al agua, garantizan esta direccionalidad de entrada de líquido, es decir, no existe posibilidades de otros mecanismos de mojado. El endospermo, aunque presente, está confinado hacia la cresta dorsal pero manteniendo todavía almidones lo que contrasta con el cuerpo del embrión cuyas células meristemáticas han acumulado la asociación “cristales globoides/cuerpos proteicos”. Esta asociación garantiza los elementos nutrimentales, de energía y fuente de nitrógeno requeridos para la germinación. Es de importancia para la semilla almacenar proteínas lo que le permite resistir a la deshidratación que el medio físico ejerce, manteniendo baja actividad metabólica y con ello su viabilidad, lo que ocurre con las semillas intermedias u ortodoxas. Por otro lado se sugiere profundizar en aspectos morfofisiológicos y moleculares que permitan vislumbrar qué tipo de relaciones existen con la germinación. Finalmente los resultados de este estudio podrían apoyar a planes de conservación de la especie para la reintroducción de ejemplares a su hábitat.

AGRADECIMIENTOS

Al Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa (UAM-I). Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) (301982) por la beca otorgada a RYUS. Al laboratorio de Ecología de Poblaciones donde se realizaron los estudios de germinación. Al Laboratorio de Anatomía funcional y biomecánica de plantas vasculares donde se realizaron los estudios anatómicos e histoquímicos. Al Dr. José David Sepúlveda por el apoyo brindado para el procesamiento de muestras y la elaboración de micrografías en el Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido de la UAM-I. Al Biól. Omar M. Balbuena por toda la ayuda en el laboratorio. Al Sr. Ricardo Solorio por el apoyo en la colecta y trabajo de campo. A la señora Juana Montoya y a su hijo Jesús Miguel de Santiago por los recorridos de campo y el hospedaje. Se agradece a la Dño. Gráf. Maria Elisa Ruíz, por la elaboración de las láminas. Se agradece profundamente a los revisores anónimos por sus sugerencias a este manuscrito. Este estudio fue financiado por los proyectos Ecología genética y aprovechamiento de los recursos vegetales en las zonas semiáridas de México (UAM-I), Red de investigación temática CONACyT Áreas Naturales protegidas (RENANP) y Red Socioecos-CONACyT a CLJS.

LITERATURA CITADA

Alencar, N., Gomes-Filho, E., & Inneco, R. (2012). *Cereus jamacaru* seed germination and initial seedling establishment as a function of light and temperature conditions. *Scientia Agricola*, 69(1), 70–74. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162012000100010>

- Arias, S., & Terrazas, T. (2004). Seed morphology and variation in the genus *Pachycereus* (Cactaceae). *Journal of Plant Research*, 117(4), 277–289. <https://doi.org/10.1007/s10265-004-0156-4>
- Arroyo-Cosultchi, G., Terrazas, T., Arias, S., & Arreola-Nava, H. J. (2006). The systematic significance of seed morphology in *Stenocereus* (Cactaceae). *TAXON*, 55(4), 983–992. <https://doi.org/10.2307/25065693>
- Arroyo-Cosultchi, G., Terrazas, T., Arias, S., & López-Mata, L. (2007). Morfología de la semilla en *Neobuxbaumia* (Cactaceae). *Botanical Sciences*, 25(81), 17. <https://doi.org/10.17129/botsci.1762>
- Barrios, D., Sánchez, J. A., Flores, J., & Jurado, E. (2020). RASGOS SEMINALES Y GERMINACIÓN EN LA FAMILIA CACTACEAE: UNA REVISIÓN EN LAS AMÉRICAS. *Botanical Sciences*, 98(3), 417–440. <https://doi.org/10.17129/botsci.2501>
- Barthlott, W., & Hunt, D. (2000). Seed diversity in the Cactaceae subfamily Cactoideae. *Succ. Pl. Res*, 5, 1–173.
- Barthlott, W., & Voigt, G. (1979). Mikromorphologie der Samenschalen und Taxonomie der Cactaceae: Ein raster-elektronenmikroskopischer Überblick. *Plant Syst Evol*, 132, 205–229.
- Bayona, C. A. (2016). Los suelos en el estado de Querétaro. In *In: Jones RW, Serrano CV, eds. Historia Natural de Querétaro*. (p. 667).
- Bozzola, J. J., & Russell, L. D. (1999). *Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists*. Jones and Bartlett Learning.
- Bravo-Hollis, H., & Sánchez-Mejorada, H. (1991). *Las cactáceas de México Volumen I*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bregman, R. (1988). Form of seed dispersal in Cactaceae. *Acta Botanica Neerlandica*, 37(3), 395–402. <http://natuurtijdschriften.nl/download?type=document;docid=540698>
- Bregman, R., & Bouman, F. (1983). Seed germination in Cactaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 86(4), 357–374. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1983.tb00977.x>
- CITES. (n.d.). *Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre*. Retrieved March 25, 2021, from <https://cites.org/esp/disc/text.php>
- Ellis, R., & Roberts, E. (1981). The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. *Seed Science and Technology*, 9, 373–409.
- Gómez-Sánchez, D. A. (2001). Descripción de las especies, hábitat y cuidados de cultivo. In *Enciclopedia Ilustrada de los Cactus y otras Suculentas*. Mundi-Presa, Madrid.
- González-Medrano, F. G. (2012). *Las Zonas Áridas y Semiáridas de México y su Vegetación*. Instituto Nacional de Ecología.
- Guevara-Farfán, P. (2019). *Un viaje alrededor de la semilla*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hernández-García, G., & García-Villanueva, E. (1991). Anatomía comparada de óvulos y semillas de dos especies del género *Mammillaria* (Cactaceae). *Boletín de La Sociedad Botánica de México*, 51, 25–38. <https://doi.org/10.17129/botsci.1395>
- Hernández, H. M., & Gómez-Hinojosa, C. (2015). *Mapping the cacti of Mexico. II. Mammillaria*. Succulent Plant Research.
- Jiménez-Durán, K., Arias Montes, S., Cortés-Palomec, A., & Márquez-Guzmán, J. (2014). Embryology and seed development in *Pereskia lichenidiflora* (Cactaceae). *Haseltonia*, 19, 3–12.
- Jiménez, G. (2016). *Demografía de Mammillaria parkinsonii Ehrenberg 1980 (Cactaceae) en la localidad Agua del Ángel en el municipio de Peñamiller, Querétaro, México. Tesis de Licenciatura*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw Hill Books.
- Krishnamurty, K. V. (1988). *Methods in plant histochemistry*. S. Viswanathan.
- López-Godínez, V. (2009). *Estudio Preliminar de la morfología de semillas del género Mammillaria. Tesis de Licenciatura*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Lux, A., Mikuš, M., Hanáčková, Z., & Krištín, J. (1994). Radicle of *Echinocactus platyacanthus* (Cactaceae). *Plant and Soil*, 167(1), 17–21. <https://doi.org/10.1007/BF01587593>
- Maiti, R. K., Hernández-Piñero, J. L., & Valdez-Marroquín, M. (1994). Ultrastructure and

Recibido:
14/junio/2021

Aceptado:
4/enero/2022

- germination of some species of Cactaceae. *Phyton*, 55, 97–105.
- Matilla, A. J. (2008). Desarrollo y germinación de las semillas. In Azcón-Bieto, J. y Talón, M. *Fundamentos de Fisiología Vegetal* (2013th ed.). McGRAW-HILL - Interamericana de España, S. L.
- Núñez-Mariel, C., Engleman, E. M., & Márquez-Guzmán, J. (2001). Embriología de *Pachycereus militaris* (Audot) Hunt (Cactaceae). *Boletín de La Sociedad Botánica de México*, 68, 5–13. <https://doi.org/10.17129/botsoci.1632>
- Orozco-Segovia, A., Marquez-Guzman, J., Sanchez-Coronado, M. E., Gamboa de Buen, A., Baskin, J. M., & Baskin, C. C. (2007). Seed Anatomy and Water Uptake in Relation to Seed Dormancy in *Opuntia tomentosa* (Cactaceae, Opuntioideae). *Annals of Botany*, 99(4), 581–592. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm001>
- QGIS Development Team. (2020). *QGIS Geographic Information System*. Geographic Information System. Version 3.16. Open Source Geospatial Foundation. Available from <https://Qgis.Org> [Accessed 3 Jun. 2020].
- Reyes, J. (2009). *Conservación y restauración de cactáceas y otras plantas suculentas mexicanas*. Manual práctico, SEMARNAT. CONAFOR.
- Rojas-Aréchiga, M. (2012). La importancia de la semilla en Cactaceae para estudios taxonómicos y filogenéticos. *Boletín de La Sociedad Latinoamericana y Del Caribe de Cactáceas y Otras Suculentas*, 9(3), 15–18.
- Rojas-Aréchiga, M., & Batis, A. I. (2001). Las semillas de cactáceas ... ¿forman bancos en el suelo? In *Cactáceas y Suculentas Mexicanas* (Vol. 46, Issue 4, pp. 76–82).
- Rojas-Aréchiga, M., Mandujano, M. C., & Golubov, J. K. (2013). Seed size and photoblastism in species belonging to tribe Cacteeae (Cactaceae). *Journal of Plant Research*, 126(3), 373–386. <https://doi.org/10.1007/s10265-012-0526-2>
- Rojas-Aréchiga, M., & Vázquez-Yanes, C. (2000). Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*, 44, 85–104.
- Ruzin, S. E. (1999). *Plant microtechnique and microscopy*. Oxford University Press.
- Sánchez-Salas, J., Flores, J., & Martínez-García, E. (2006). Efecto del tamaño de semilla en la germinación de *Astrophytum myriostigma* LEMAIRE. (CACTACEAE), especie amenazada de extinción. *Interciencia*, 31(May), 371–375.
- Sánchez-Salas, J., Flores, J., Muro-Pérez, G., Arias-Montes, S., & Jurado, E. (2015). Morfometría de Semillas en la Cactácea amenazada de extinción *Astrophytum Myriostigma* Lemaire. *Polibotanica*, 39, 119–131. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.39.7>
- Sánchez-Salas, J., Jurado, E., Flores, J., Estrada-Castillón, E., & Muro-Pérez, G. (2012). Desert species adapted for dispersal and germination during floods: Experimental evidence in two *Astrophytum* species (Cactaceae). *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 207(10), 707–711. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2012.08.002>
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., & Frise, E. (2012). Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 676–682.
- SEMARNAT. (2010). *Protección ambiental. Especies nativas de México de flora y fauna silvestres. Categorías de Riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio. Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación 30 Diciembre 2010, México*.
- Serna-Navarrete-L. (2007). *Caracterización morfológica de la semilla y germinación de Mammillaria densispina (J.M. Coult.) Oreutt (Cactaceae)*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Singh, G. (1999). *Plant Systematics*. Science Publishers, Inc.
- Solórzano, S., Tellez, O., Álvarez-Espino, R., & Dávila, P. (2017). Unidades Genéticas para la Conservación de *Mammillaria* (CACTACEAE). *Revista Fitotecnica Mexicana*, 40(2).
- UICN. (2013). *Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN*. <http://www.iucnredlist.org>.
- Uribe Salazar, Y. (2016). *Efecto del tamaño de las semillas en la germinación y supervivencia de las plántulas de dos especies de cactáceas*. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Metropolitana.
- Zamudio, S., & Guzmán, U. (2017). Dos especies nuevas de *Mammillaria* (CACTACEAE) del centro de México. *Polibotánica*, 44, 1–10.

**ASYMBIOTIC GERMINATION,
in vitro CONSERVATION AND
REGENERATION OF *Catasetum
integerrimum*.**

**GERMINACIÓN ASIMBIÓTICA,
CONSERVACIÓN Y
REGENERACIÓN *in vitro* DE
Catasetum integerrimum.**

López Puc G. y Herrera-Cool G. J.

ASYMBIOTIC GERMINATION, *in vitro* CONSERVATION AND REGENERATION OF *Catasetum integerrimum*.

GERMINACIÓN ASIMBIÓTICA, CONSERVACIÓN Y REGENERACIÓN *in vitro* DE *Catasetum integerrimum*.



ASYMBIOTIC GERMINATION, *in vitro* CONSERVATION AND REGENERATION OF
Catasetum integerrimum

GERMINACIÓN ASIMBIÓTICA, CONSERVACIÓN Y REGENERACIÓN *in vitro*
DE *Catasetum integerrimum*

López Puc G.
y Herrera-Cool G. J.

ASYMBIOTIC
GERMINATION, *in vitro*
CONSERVATION AND
REGENERATION OF
Catasetum integerrimum.

GERMINACIÓN
ASIMBIÓTICA,
CONSERVACIÓN Y
REGENERACIÓN *in vitro*
DE *Catasetum integerrimum*.

POLIBOTÁNICA
Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 135-149. Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.9

G. López Puc / glopez@ciatej.mx

Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco,
Subsede Sureste, Sierra Papacal, Yucatán, 97302, México.

G.J. Herrera-Cool

Campo Experimental Chetumal, INIFAP,
Chetumal-Bacalar Km 25, 77900, México.

RESUMEN: La deforestación y recolecta ilegal de las orquídeas ha generado la necesidad de plantear alternativas para conservarlas y multiplicarlas. Una orquídea de interés es *Catasetum integerrimum*, cuyo hábitat está en América Central y México. El objetivo de este estudio fue proporcionar métodos para la conservación y uso sustentable de *C. integerrimum*. Se establecieron las condiciones para la germinación asimbiótica de semillas mediante la evaluación de cuatro formulaciones de medios basales: 1) Murashige y Skoog (MS) con macro y micronutrientes y vitaminas; 2) MS con macro y micronutrientes sin vitaminas; 3) Medio basal para orquídeas con carbón activado y polvo de plátano y 4) Medio basal Knudson. Para la conservación *in vitro* del germoplasma se desarrolló un protocolo de crecimiento lento para lo cual se evaluó el efecto de la concentración del medio basal MS (Fuerza iónica completa y a la mitad de su fuerza iónica) y el efecto del sorbitol, manitol y sacarosa a 1, 2 y 3%. Con el fin de establecer un protocolo para la regeneración *in vitro* para la multiplicación de plantas se evaluó el efecto de tres tipos de explante (raíz, nudo, y hoja) y el efecto individual de N6-furfuriladenina (kinetina) a 4.64, 9.29 y 23.2 μM y 6- Bencil Amino Purina (BAP) a 4.43, 8.87 y 22.2 μM . Los resultados mostraron que la germinación asimbiótica de *C. integerrimum* fue exitosa en el medio Murashige y Skoog con macro y micronutrientes sin vitaminas. La conservación *in vitro* fue posible en el medio basal MS a la mitad de su fuerza iónica suplementado con sorbitol al 2%, ya que en este tratamiento las plantas mostraron menor crecimiento después de 6 meses de cultivo. La organogénesis directa de brotes se observó en el explante de nudo en MS suplementado con BAP y en MS con kinetina en todas las concentraciones evaluadas. La organogénesis indirecta de brotes se observó en explante de raíz en MS suplementado con 4.64 o 9.29 μM de kinetina.

Palabras clave: lento crecimiento; kinetina; manitol; sorbitol, conservación a mediano plazo.

ABSTRACT: The deforestation and illegal over-collection of orchids have generated the need to propose alternatives to conserve and multiply them. One orchid of interest is *Catasetum integerrimum*, whose habitat is in Central America and Mexico. This study aimed to provide methods for the conservation and sustainable use of *C. integerrimum*. Asymbiotic seed germination was established by evaluating four formulations of basal media: 1) Murashige and Skoog (MS) with macro and micronutrients and vitamins; 2) MS with macro and micronutrients without vitamins; 3) Basal medium for orchids with activated carbon and banana powder; 4) Knudson basal medium. We developed the slow-growth protocol for which evaluated MS basal medium concentration (full and half of the ionic strength) and the effect of sorbitol, mannitol, and sucrose at 1, 2, and 3%. The influence of three explant types (root, node,

and leaf) and kinetin at 4.64, 9.29, and 23.2 μM and Benzyl Amino Purine (BAP) at 4.43, 8.87, and 22.2 μM were evaluated to establish *in vitro* regeneration for plant multiplication. Asymbiotic germination of *C. integerrimum* was successful on Murashige and Skoog medium with macro and micronutrients without vitamins. *In vitro* conservation was viable in half-strength basal MS medium supplemented with 2% sorbitol; it was the best treatment for conserving seedlings under slow-growth conditions after six months of *in vitro* culture. Node explant formed direct shoot organogenesis in MS with BAP or kinetin at all concentrations evaluated. Indirect shoot organogenesis was observed in root explant in MS supplemented with 4.64 or 9.29 μM kinetin.

Keywords: slow growth; kinetin, mannitol; sorbitol, medium-term conservation

INTRODUCTION

Orchidaceae is one of the largest families of flowering plants (Pérez Gutiérrez, 2010; Noguera-Savelli & Cetzal-Ix, 2014), which are part of complex biological interactions of ecosystems (Seaton *et al.*, 2013; Pereira *et al.*, 2015). Orchids are also considered an important crop in the floriculture industry. This plant family is usually cultured due to its medicinal properties and uses in traditional food, as well as the generation of nutraceutical products, perfumes, and cosmetics (Hinsley *et al.*, 2018; Kanlayavattanakul *et al.*, 2018; Salazar-Mercado & Botello-Delgado, 2020; Singh *et al.*, 2021). In recent years, many species of orchids have been threatened in their natural habitats because of the environmental pressure generated by humans (Juras *et al.*, 2020; Fonseca, 2020; Puspitaningtyas & Handini, 2020). *C. integerrimum* is an orchid that reaches to adult stage in approximately two years. This development stage is less than 50 percent of the time required by most of the not deciduous taxa orchids (Benzing *et al.*, 1982). This species lives in Guatemala, Belize, Honduras, El Salvador, Nicaragua and Mexico (Morales-Báez *et al.*, 2016). *C. integerrimum* is an ornamental plant whose flowers are very showy and attractive that produce a fragrance compound by pinene (32.52%) and carvone oxide (46.21%) (del Mazo Cancino & Damon, 2007). It is often collected, resulting in a decrease in the population of their natural habitat (Morales-Báez *et al.*, 2016). This over-exploitation generates a loss of their population. Moreover, germination in a natural environment entirely depends on the mycorrhizal fungi association (Pérez Gutiérrez, 2010). This association provides water, carbohydrates, minerals, and vitamins for embryos development; however, mortality rates of embryos developed are high despite this association (Kauth *et al.*, 2006). Asymbiotic seed propagation, which is an excellent method for the micropropagation of orchids for conservation purposes (Kim *et al.*, 2021). Asymbiotic germination of orchid seeds was established by Lewis Knudson (1884–1958), and it was the first practical procedure for *in vitro* propagation of any plant in pure (i.e., axenic) culture (Yam & Arditti, 2009). Since then, many ornamental species of orchids have been micropropagated using this method (Pereira *et al.*, 2017; Vudala & Ribas, 2017; Acemi & Özen, 2019; Franceschi *et al.*, 2019; Koene *et al.*, 2019; Fonseca, 2020; Kang *et al.*, 2020; Salazar-Mercado & Botello-Delgado, 2020; Sorgato *et al.*, 2020; Chin *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2021; Navarro *et al.*, 2021; Yeh *et al.*, 2021); The asymbiotic germination process generates protocorm-like-bodies (PLBs) which are embryogenic structures (Chin *et al.*, 2021). The process goes from stage 0: No germination to stage 5: the differentiation (Yamazaki & Miyoshi, 2006).

Due to the conservation of the germplasm of this species is needed, *in vitro* culture techniques have been successfully applied for conservation. Also, it facilitates the availability of germplasm for use in genetic improvement programs (Arrigoni-Blank *et al.*, 2014).

One of the methods used is slow growth, which reduces plant metabolism and consequently decelerates its development, which allows the maintenance of *in vitro* plant collections without the need for subculture (Chauhan *et al.*, 2019; Santos Lima *et al.*, 2021; Petrova *et al.*, 2021). The slow growth procedure is called medium-term conservation or minimal growth storage (Muñoz *et al.*, 2019).

The advantage of the slow growth technique is that enabling *in vitro* maintenance of shoot cultures under aseptic conditions by markedly reducing the frequency of periodic subculturing without affecting the viability and regrowth potential of such shoot cultures (Koeda *et al.*, 2018). The slow growth can be achieved by basal culture medium modification, sucrose, and plant growth regulators (PGRs) concentration changes (Ruta *et al.*, 2020). Other substances used to slow growth are mannitol and sorbitol (da Costa Santos *et al.*, 2011; Tavazza *et al.*, 2015; Hammond Hammond *et al.*, 2019; Muñoz *et al.*, 2019; Petrova *et al.*, 2021). Furthermore, reports of slow-growth techniques include protocols for conserved material multiplication (Hammond-Hammond *et al.*, 2019; Ramírez-Mosqueda *et al.*, 2019; Fonseka, 2020).

The present study describes the asymbiotic germination of *C. integerrimum*, its conservation in a slow-growth medium and the regeneration by direct and indirect adventitious organogenesis.

MATERIAL AND METHODS

Obtaining plant material

Fully closed of *C. integerrimum* from two capsules with good condition were collected from experimental field El Tormento, Campeche, Mexico at the "Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)". Afterward, the capsules collected were transferred to the laboratory and put inside a desiccator with 1 kg of silica gel at $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ for five days. Then they were washed with a solution of Extran® at 5% for 5 minutes and rinsed three times with sterile distillate water.

In vitro establishment of plant material

The capsules were disinfected in a laminar flow cabinet by immersion in a solution of sodium hypochlorite at 1% with 10 μL of Extran® for 10 min, then were rinsed three times with distilled water, afterward were atomized with 70% of ethanol and flamed with a burner. The capsules sterilized were longitudinally cut with a scalpel to obtain the seeds, which were put on a sterile Petri dish. Finally, 300 seeds were cultured in Magenta® boxes with treatments for asymbiotic germination.

Asymbiotic germination

Semi-solid media of MS medium with macro-micro nutrients and vitamins (M5519 SIGMA®), MS medium with macro-micro nutrients (M5524 SIGMA®), Orchid Medium with charcoal and Banana Powder (P1056 SIGMA®), and Knudson C (K4003 SIGMA®) were used to investigate the asymbiotic germination of *C. integerrimum* without PGRs. The pH of the media was adjusted at 5.8 before sterilizing in an autoclave at 121°C . The treatments were dosed at 25 mL per Magenta® box, and seeds were established in three Magenta® boxes per treatment. The evaluation was carried out every 4 weeks for 16 weeks, recording data and digital pictures.

Slow growth for *in vitro* conservation

Plantlets of 2 cm from asymbiotic germination were established in a factorial experiment of 2 x 3 x 3 for conservation. The first factor was the concentration of basal medium (Full and half ionic strength), the second factor was the carbon source (sorbitol, mannitol, and sucrose), and the third factor was the concentration of carbon source (1, 2, and 3%). The experiment was carried out with two MS basal medium control: half-strength MS basal medium (2.2 g L^{-1}) and full-strength MS basal medium (4.4 g L^{-1}) without carbon source. In total were evaluated 18 treatments with two controls and three replicates per treatment. Treatments with half-strength MS basal medium were solidified with 3.1 g L^{-1} of Gelrite® and the treatments with full strength MS basal medium with 2.2 g L^{-1} of Gelrite®. The variables evaluated were the plantlet growth and the shoots number formed per treatment. Plant growth was obtained by subtracting the plantlet length (mm) at six months of culture from plantlet length at the beginning of

culture. The result was the plantlet growing after six months of culture. The shoots number formed per treatment was recorded at 12 months.

Plant regeneration

Induction of regeneration was evaluated in a factorial design of 3 x 2 x 3, which the first factor was the explant source (node, leaf, and root), the second factor was kinetin or BAP, and the third factor PGR concentration, kinetin at 4.64, 9.29 and 23.2 μM , and BAP at 4.43, 8.87 and 22.2 μM . The experiment had 18 treatments and one control with three replicates per treatment. The control was the MS basal medium without PGRs. All treatments were formulated with full strength MS basal medium added with 3% sucrose and 2.2g L^{-1} of Gelrite®. The variable evaluated was shoot number per explant at the 60 days, and shoots were allowed to grow until 120 days of culture. All treatments were supplemented with 2 g L^{-1} of activated carbon.

In vitro culture conditions

All treatments were incubated at $23\pm 2^\circ\text{C}$ and relative humidity of 60% with a photoperiod of 16/8 hours (light/darkness); the light source was provided by LED lamps with a light intensity of $60 \mu\text{mol}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Statistical analysis

Data were subjected to one-way ANOVA analysis of variance for comparison of means. Significant differences were calculated according to the Tukey test at the 5% significance level using a statistical Statgraphics® Centurion XVI statistical software. Data were presented as means \pm standard error.

RESULTS

Asymbiotic germination

Asymbiotic germination of seeds of *C. integerrimum* occurred in basal MS medium with macro and micronutrients without vitamins, 250 plantlets were obtained. At four weeks after sowing, the seeds formed a brown friable callous mass jelly-like, from which white embryogenic structures emerged (WES) (fig. 1 A). At six weeks, the WES began to grow into PLBs that turned green. (fig. 1 B). Root formation in PLBs (fig. 1 C) and shoot differentiation into PLBs from protocorms (fig. 1 D) occurred at 8 and 10 weeks, respectively. The plantlets formed rootlets and leaves at 12 weeks (fig. 1 E). The same basal medium where germination occurred completed growth up to 16 weeks and reseedling was unnecessary during this process (fig. 1 F). *C. integerrimum* seeds sown on basal MS media with macro and micronutrients and vitamins, Orchid Medium with Charcoal and Banana Powder and Knudson had no germination response.

Slow growth for *in vitro* conservation

There was significant difference among the 20 treatments selected to evaluate the growth of *C. integerrimum* plantlets (Table 1). T3 allows the highest growth value (76.24 ± 30.5) followed by T1 (54.74 ± 7.6), T5 (52.69 ± 20.1), T4 (48.32 ± 15.8), and T2 (37.39 ± 3.7) (Table 1, fig. 1). The treatments with the lowest growth values of cultivated plantlets were T19 (8.54 ± 5.2), T20 (13.10 ± 5.3), T17 (14.18 ± 6.1), T18 (17.70 ± 5.8), T16 (18.61 ± 4.0), T10 (19.71 ± 2.6) and T11 (21.07 ± 8.6), there was no significant difference among these seven treatments (Table 1), the controls T19 and T20 showed the lowest growth values, the leaves of the plantlets showed etiolation and died. Treatment T17 was selected because it presented the lowest value of growth in plantlet length among the other treatments. The plantlets from T17 did not show changes in plant morphology. At six months the shoot formation in the slow growth treatments was evaluated. The treatment T3 (Table 1) formed the highest number of shoots (28.4 ± 3.2). On the other hand, T17 showed the lowest shoot formation (1 ± 0).

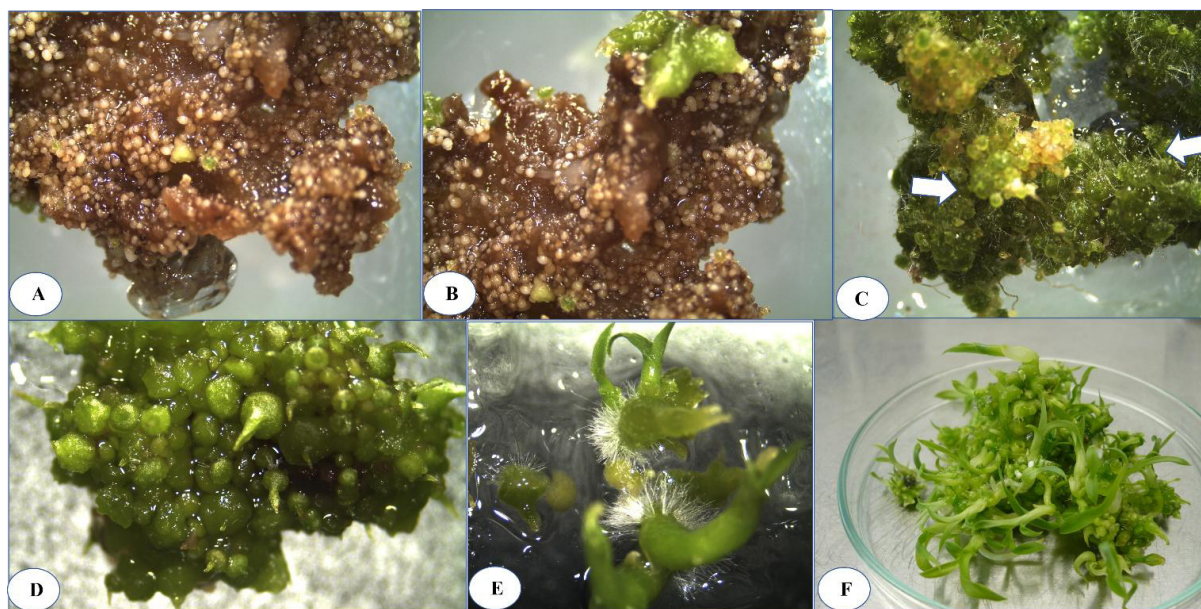


Fig. 1. Asymbiotic seed germination of *C. integerrimum*. Callus with embryogenic structures (A); Embryogenic structures transforming into PLBs (B); Rhizoids formed on the protocorm (white arrows) (C); Shoots differentiated from the protocorm (D); Plantlets formed 3 months after sowing seeds (E); Fully developed plantlets at four months of age (F).

Table 1. Effect of culture medium composition on plantlets growth and shoot proliferation of *C. integerrimum* Hook. to determine the best treatment for *in vitro* conservation

Treatment	MS concentration (%)	Carbon source	Carbon concentration (%)	Average of plantlet length (mm)	No. Shoot per treatment
1	100	Sucrose	1	54.74±7.6 ^h	9.20±2.2 ^c
2			2	37.39±3.7 ^{fg}	17.60±2.7 ^c
3			3	76.24±30.5 ^j	28.40±3.2 ^f
4	50	Sucrose	1	48.32±15.8 ^{gh}	12.60±1.9 ^{cd}
5			2	52.69±20.1 ^h	14.40±2.3 ^{de}
6			3	26.84±8.8 ^{cdef}	5.40±1.3 ^b
7	100	Mannitol	1	31.95±13.1 ^{ef}	3.40±1.1 ^{ab}
8			2	32.26±6.0 ^{ef}	2.60±0.8 ^{ab}
9			3	24.23±4.5 ^{bcdef}	2.20±0.4 ^{ab}
10	50	Mannitol	1	19.71±2.6 ^{abcde}	2.40±0.5 ^{ab}
11			2	21.07±8.6 ^{abcde}	3.40±1.1 ^{ab}
12			3	31.57±7.4 ^{ef}	3.20±1.7 ^{ab}
13	100	Sorbitol	1	29.31±5.1 ^{def}	2.60±0.8 ^{ab}
14			2	30.14±3.98 ^{def}	2.80±1.3 ^{ab}
15			3	27.51±8.7 ^{cdef}	2.60±0.5 ^{ab}
16	50	Sorbitol	1	18.61±4.0 ^{abcde}	2.60±1.8 ^{ab}
17			2	14.18±6.1 ^{abc}	1.00±0.0 ^{ab}
18			3	17.70±5.8 ^{abcd}	3.20±1.3 ^b
19	100	None	0	8.540±5.2 ^a	0.00±0.0 ^a
20	50	None	0	13.10±5.3 ^{ab}	0.00±0.0 ^a

Different letters indicate significant statistical differences according Tukey test ($P \leq 0.05$). MS: Murashige and Skoog basal medium.

Plant regeneration

The type of explant influenced shoot formation (Table 2). The leaf explant did not show regeneration. Shoot induction from node explant of *C. integerrimum* via direct organogenesis occurred at 30 days (fig. 3 A) on treatments T2-T7. There was no significant statistical difference among treatments; T5, T16, and T17 showed 3.0 adventitious shoots per explant, followed by T3 with 2.5 shoots (Table 2). Rooting of shoots was observed in the same induction medium; the plantlets morphology at 60 and 120 days was normal (fig. 3 B-C).

The root explant formed callus after 30 days of cultivation in full strength MS basal medium supplemented with kinetin at 4.64 or 9.29 μM (fig. 4 A). Indirect shoot organogenesis at 60 days of culture (fig. 4 B), the rooting of shoots occurred in the same induction medium. Plantlets showed an average height of 8 cm after 120 days of cultivation. (fig. 4 C). BAP did not induce organogenesis in root explant (Table 2).

Table 2. Effect of PGR and type of explant on the induction of adventitious organogenesis of *C. integerrimum* Hook.

Treatment	Explant	PGR	PGR Concentration (μM)	# adventitious shoots/explant
1	Node	None	0.00	0.00±0.00 ^a
2		Kinetin	4.64	2.25±1.20 ^b
3			9.29	2.50±1.20 ^b
4			23.2	2.25±1.50 ^b
5		BAP	4.43	3.00±0.81 ^b
6			8.87	2.00±1.15 ^b
7			22.2	1.75±0.50 ^b
8	Leaf	None	0.00	0.00±0.00 ^a
9		Kinetin	4.64	0.00±0.00 ^a
10			9.29	0.00±0.00 ^a
11			23.2	0.00±0.00 ^a
12		BAP	4.43	0.00±0.00 ^a
13			8.87	0.00±0.00 ^a
14			22.2	0.00±0.00 ^a
15	Root	None	0.00	0.00±0.00 ^a
16		Kinetin	4.64	3.00±0.81 ^b
17			9.29	3.00±0.00 ^b
18			23.2	0.00±0.00 ^a
19		BAP	4.43	0.00±0.00 ^a
20			8.87	0.00±0.00 ^a
21			22.2	0.00±0.00 ^a

Different letters indicate significant statistical differences according Tukey test ($P \leq 0.05$). PGR: Plant Growth Regulator, BAP: Benzyl Amino Purine. MS: Murashige and Skoog basal medium.

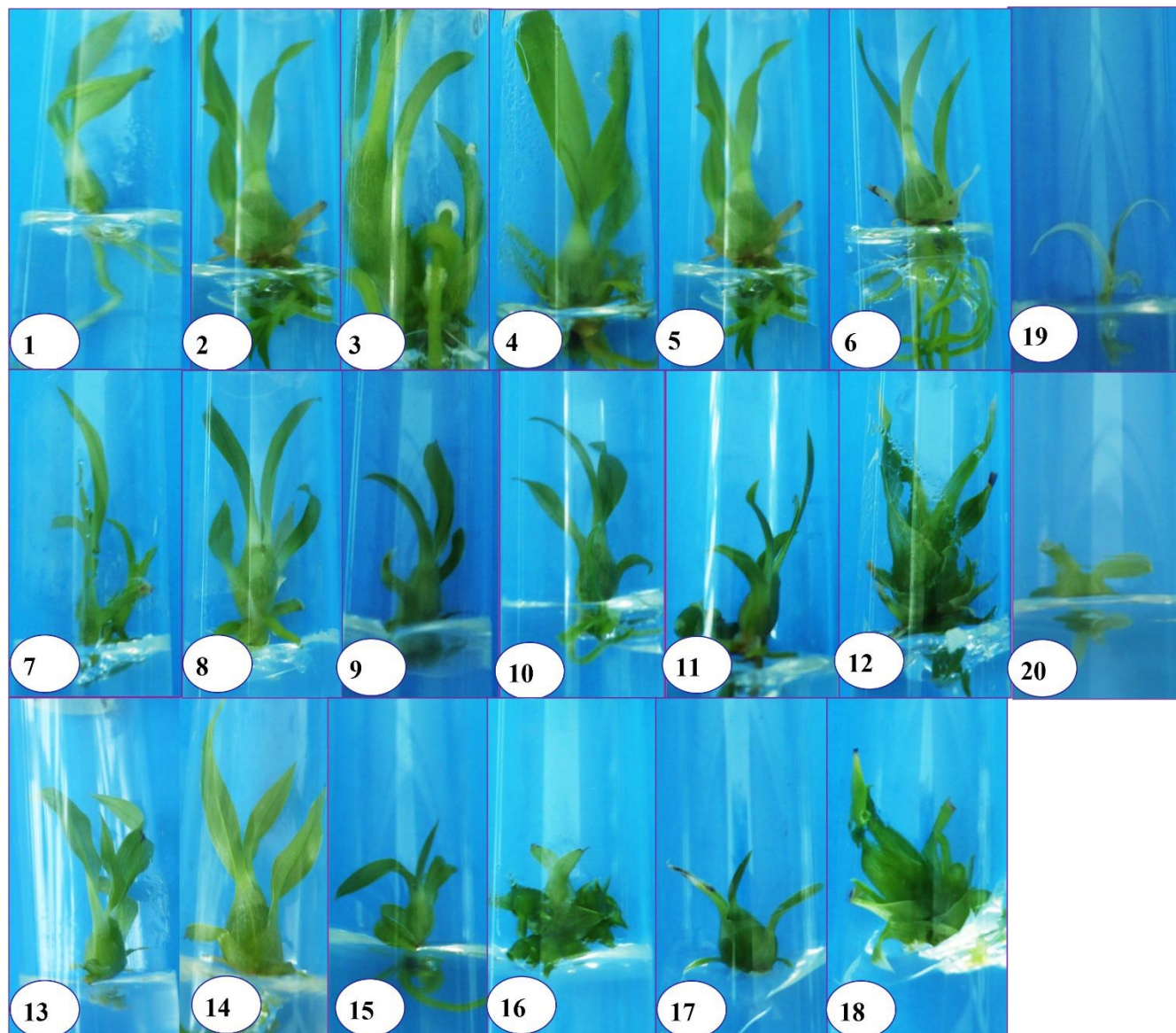


Fig. 2. *In vitro* conservation of *C. integerrimum* growth after 6 months of cultivation in treatments evaluated for its conservation. Full strength MS basal medium supplemented with sucrose 1, 2, and 3%: (1), (2), and (3) respectively. Half strength MS basal medium with sucrose 1, 2, and 3%: (4), (5), and (6) respectively. Full strength MS basal medium supplemented with mannitol 1, 2, and 3%: (7), (8), and (9) respectively. Half strength MS basal medium with mannitol 1, 2, and 3%: (10), (11), and (12) respectively. Full strength MS basal medium supplemented with sorbitol 1, 2, and 3%: (13), (14), and (15) respectively. Half strength MS basal medium supplemented with sorbitol 1, 2, and 3%: (16), (17), and (18) respectively. Controls: half-strength MS basal medium without carbon source (19) and full-strength MS basal medium without carbon source (20).

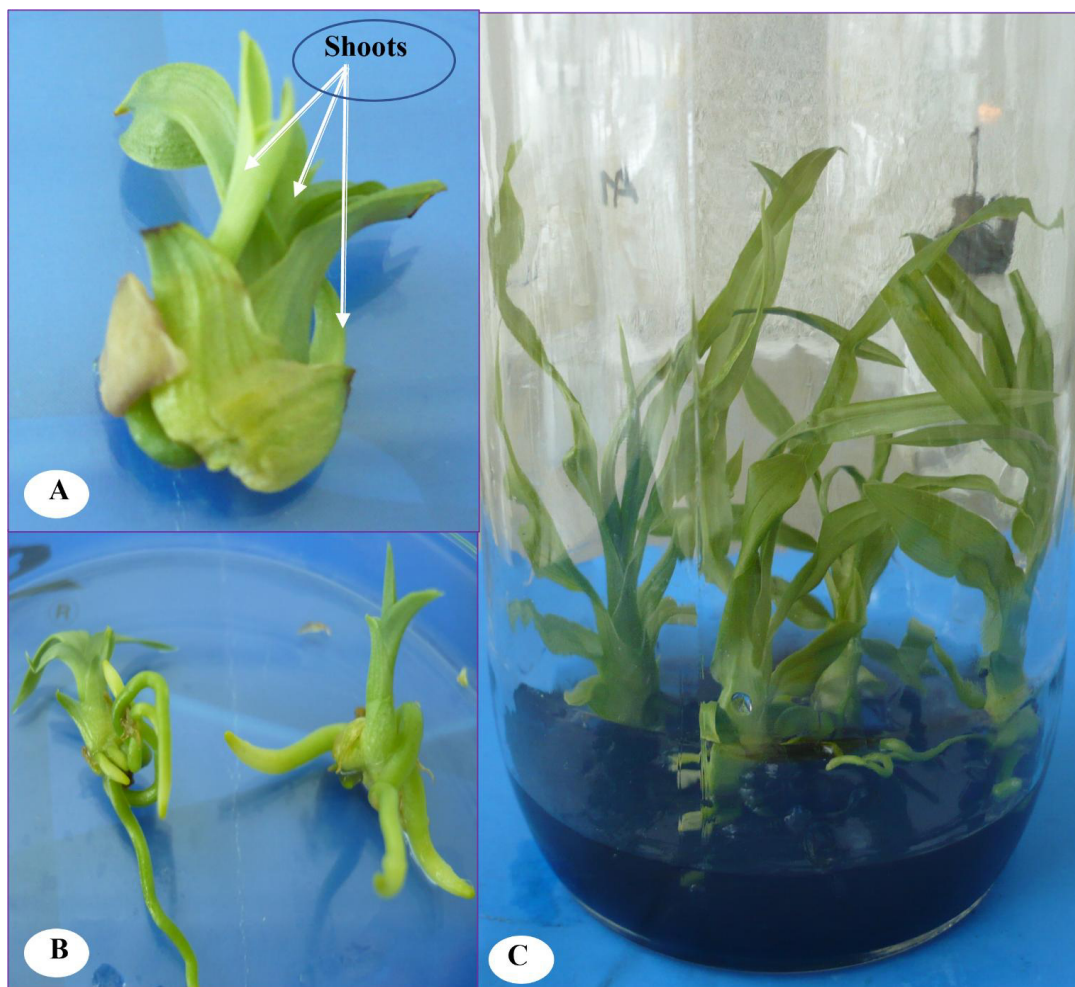


Fig. 3. Direct adventitious organogenesis from node explant of *C. integerrimum*. Adventitious shoots from node explant on full strength MS basal medium+ BAP at 4.43 μ M, 30 days culture (A); Plantlets at 60 days of culture (B); Plantlets at 120 days of culture (C).

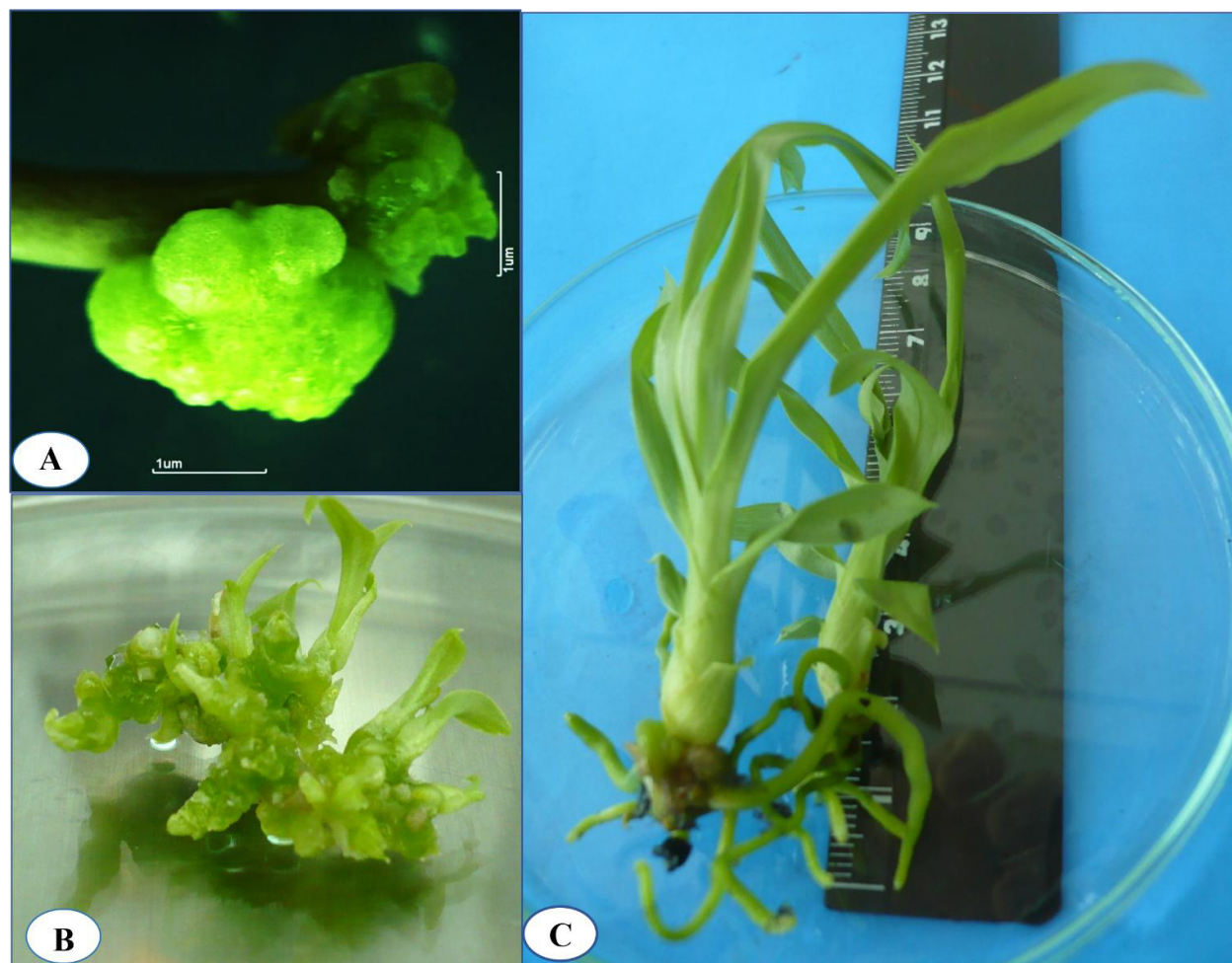


Fig. 4. Indirect adventitious organogenesis from root explant of *C. integerrimum*. Callus formed in root explant at 30 days of culture (A); Adventitious shoots formed on the callus at 60 days of culture (B); Plantlets at 120 days of culture (C).

DISCUSSION

Tissue culture methods are an alternative for help in the rescue of species endangered by deforestation and unmeasured extraction from their natural habitat. This study presents asymbiotic germination, conservation, and *in vitro* regeneration of *C. integerrimum* that have not been previously reported.

The germination of orchid seeds in their natural habitat is complex and inefficient because there must be a symbiotic relationship with a fungus. Association between orchids and fungi was observed in 1824 (Yam & Arditti, 2009). On the other hand, *in vitro* germination is efficient when the composition of the culture medium is known.

According to the classification described by (Yam & Arditti, 2009), the stages of "pre-germination," "germination," and "protocorms formation" corresponding to stages 1-3 were not visible in this study. This observation could be due to the seeds cultivated on MS basal medium with macro and micronutrients without vitamins formed callus. Furthermore, white embryogenic structures formed from the callus, becoming PLBs, the stages 4 and 5 were clearly

visible. Full strength MS basal medium including all macro and micronutrients, without vitamins, was the only one of the four media evaluated that gave a response to asymbiotic germination of *C. integerrimum*. Unlike reports of asymbiotic germination using MS medium with half of the macro and micronutrients (Koene *et al.*, 2019; Kang *et al.*, 2020; Yeh *et al.*, 2021; Navarro *et al.*, 2021; Kim *et al.*, 2021). *In vitro* culture conditions and the lack of vitamins in the MS basal medium may have generated stress in the *C. integerrimum* seed culture, triggering a signaling cascade for dedifferentiation leading to callus formation. It is going by concepts reported by Fehér (2014) that differentiated plant cells, under certain circumstances, can revert to an earlier developmental state and regain totipotency.

Mineral nutrition, vitamins, and medium composition influence asymbiotic seed germination have been reported (Salazar-Mercado & Botello-Delgado, 2020; Kim *et al.*, 2021). Other formulations have been necessary, for instance: New Dogashima medium was used for germination of mature seeds of *Calanthe tricarinata* (Godo *et al.*, 2010) or Woody plant medium (WPM) (Vudala & Ribas, 2017; Franceschi *et al.*, 2019); Vacin and Went medium (VW) (Pereira *et al.*, 2017; Utami & Hariyanto, 2019; Acemi & Özen, 2019). New Dogashima medium has microelements and organic compounds of Nitsch and Morel respectively, NH_4NO_3 and KNO_3 are in minor amount in comparison with MS, this media was developed for micropropagation of orchids (Tokuhara *et al.*, 1993). On the other hand, Woody Plant Medium contains the macro-micronutrients and vitamins described by Phillips & Garda (2019).

In this study *C. integerrimum* exogen PGRs were not necessary during the asymbiotic germination and plantlet development contrary to other protocols reported, asymbiotic germination of *Calanthe tricarinata* Lindl occurred using the basal medium New Dogashima with BAP or α -naphthalene acetic acid (NAA) (Godo *et al.*, 2010); On the other hand, the germination of *C. integerrimum* was achieved using full-strength MS basal medium added with 2% BAP; in the same study the protocorms development was necessary to use full strength MS basal medium added with 5 mg L⁻¹ of activated charcoal and indole acetic acid (IAA) at 5 mg L⁻¹ (Velázquez Kú *et al.*, 2016).

The conservation protocols for *Dendrobium draconis*, *Bulbophyllum auricomum* Lindl., *Ullucus tuberosus* species of the subfamily Epidendroideae, *Arnica montana* L. used MS reduced to half its ionic strength as basal medium (Than, 2013; Hammond Hammond *et al.*, 2019; Menezes-Sá *et al.*, 2019; Petrova *et al.*, 2021).

Other basal media used in preservation protocols include Vacin and Went (Puspitaningtyas & Handini, 2020). The woody plant medium (WPM) (Matos Alvim *et al.*, 2020). Culture media for slow growth can use sucrose as a carbon source (Than, 2013; Sanghamitra *et al.*, 2019; Menezes-Sá *et al.*, 2019; El-Hawaz *et al.*, 2019; Matos Alvim *et al.*, 2020; Gomes *et al.*, 2021). Another modification made to the culture medium is sorbitol and mannitol as carbon sources. The use of mannitol on slow growth protocols has been reported for Globe artichoke, *Ullucus tuberosus* (Tavazza *et al.*, 2015; Hammond Hammond *et al.*, 2019). On the other hand, the combined effect of mannitol and sucrose allowed the conservation of *Amburana cearensis* plants with better characteristics than using sucrose alone (Matos Alvim *et al.*, 2020). The results showed that *C. integerrimum* plantlets have higher growth in treatments T1-T5 supplemented with sucrose, even inducing multiple sprouting, so they are recommended for propagation but not for slow growth. T17 treatment formulated with half-strength MS basal medium and 2% sorbitol was selected for *in vitro* conservation of *C. integerrimum*. The use of sorbitol to slow growth rate has been reported in *Hancornia speciosa* Gomes; *Arnica montana* L., *Solanum tuberosum* (da Costa Santos *et al.*, 2011; Muñoz *et al.*, 2019; Petrova *et al.*, 2021); The combination of sorbitol with sucrose preserves *in vitro* plants of *Solanum tuberosum* without phenotypic abnormalities (Nasiruddin & Rafiul Islam, 2018). The combination of sorbitol with sucrose and mannitol with sucrose allows slow growth storage of potato germplasm (Muñoz *et al.*, 2019).

In this study, kinetin induced the regeneration of adventitious shoots from root explants, and BAP induced a similar response from node explants. Kinetin induces callus (clusters of dedifferentiated plant cells) to differentiate into adventitious buds (Barciszewski *et al.*, 2007; Sianipar & Mariska, 2020; Sharma *et al.*, 2021).

CONCLUSIONS

Asymbiotic germination, *in vitro* conservation, and adventitious shoots regeneration of *C. integerrimum* are methods effective and efficient. It is also important to highlight that the *in vitro* conservation protocol has been so effective that it has maintained this species *in vitro* conservation for ten years. The asymbiotic germination method and the regeneration method can be used for propagation, helping to reduce the collection of this species in its habitat.

LITERATURE CITED

- Acemi, A., & Özen, F. (2019). Optimization of *in vitro* asymbiotic seed germination protocol for *Serapias vomeracea*. *The EuroBiotech Journal*, 3(3), 143–151. <https://doi.org/10.2478/ebtj-2019-0017>
- Arrigoni-Blank, M. D. F., Tavares, F. F., Blank, A. F., Santos, M. C. dos, Menezes, T. S. A., & Santana, A. D. D. de. (2014). *In vitro* conservation of sweet potato genotypes. *The Scientific World Journal*, 2014, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2014/208506>
- Barciszewski, J., Massino, F., & Clark, B. F. C. (2007). Kinetin-A multiactive molecule. *International Journal of Biological Macromolecules*, 40(3), 182–192. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.06.024>
- Benzing, D. H., Bent, A., Moscow, D., Peterson, G., & Renfrow, A. (1982). Functional correlates of deciduousness in *Catsetum integerrimum* (Orchidaceae). *Selbyana*, 7(1), 1–9.
- Chin, C. K., Stanly, C., Chew, B. L., & Subramaniam, S. (2021). Modified basal culture medium improves proliferation of *Dendrobium Sabin Blue*'s protocorm-like bodies (PLBs). *Biologia*, 76, 1433–1443. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00743-8>/Published
- da Costa Santos, M., da Silva Lédo, A., da Silva Lédo, C. A., Duarte Souza, F. V., & da Silva Junior, J. F. (2011). Effect of sucrose and sorbitol in the *in vitro* conservation of mangaba tree nodal segments. *Revista Ciência Agronômica*, 42(3), 735–741.
- del Mazo Cancino, A., & Damon, A. (2007). Fragrance analysis of euglossine bee pollinated orchids from Soconusco, south-east Mexico. *Plant Species Biology*, 22(2), 129–134. <https://doi.org/10.1111/j.1442-1984.2007.00185.x>
- El-Hawaz, R. F., Adelberg, J., Naylor-Adelberg, J., Eisenreich, R., & van der Meij, J. (2019). The effect of slow-growth strategy on a production of *Petunia* × *hybrida* Vilm. microcuttings. *In vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 55(4), 433–441. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09996-0>
- Fehér, A. (2014). *Somatic embryogenesis-Stress-induced remodeling of plant cell fate*. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.07.005>
- Fonseka, K. (2020). Asymbiotic Seed Germination, Mass propagation and Conservation of Fox-tail orchid, *Rhynchostylis retusa* L. Blume: An endangered orchid. *Asian Journal of Conservation Biology*, 9(2), 144.
- Franceschi, C. R. B., Smidt, E. C., Vieira, L. N., & Ribas, L. L. F. (2019). Storage and *in vitro* germination of orchids (Orchidaceae) seeds from Atlantic forest – Brazil. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 91(3). <https://doi.org/10.1590/0001-3765201920180439>
- Godó, T., Komori, M., Nakaoki, E., Yukawa, T., & Miyoshi, K. (2010). Germination of mature seeds of *Calanthe tricarinata* Lindl., an endangered terrestrial orchid, by asymbiotic

- culture *in vitro*. *In vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 46(3), 323–328. <https://doi.org/10.1007/s11627-009-9271-1>
- Gomes, F., Clemente, M., Figueiredo, P., & Costa, R. L. (2021). Medium-term *in vitro* conservation of *Castanea* spp. hybrid clones. *Vegetos*, 34(1), 127–137. <https://doi.org/10.1007/s42535-020-00184-9>
- Hammond Hammond, S. D., Viehmannova, I., Zamecnik, J., Panis, B., & Hlasna Cepkova, P. (2019). Efficient slow-growth conservation and assessment of clonal fidelity of *Ullucus tuberosus* Caldas microshoots. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 138(3), 559–570. <https://doi.org/10.1007/s11240-019-01653-z>
- Hinsley, A., de Boer, H. J., Fay, M. F., Gale, S. W., Gardiner, L. M., Gunasekara, R. S., Kumar, P., Masters, S., Metusala, D., Roberts, D. L., Veldman, S., Wong, S., & Phelps, J. (2018). A review of the trade in orchids and its implications for conservation. In *Indonesia Botanical Journal of the Linnean Society* (Vol. 186). <https://academic.oup.com/botlinnean/article/186/4/435/4736317>
- Juras, M. C. R., Purgatto, E., Ferreira, W. de M., & Suzuki, R. M. (2020). Direct organogenesis and ethylene regulators in the cloning of *Epidendrum denticulatum* (Orchidaceae). *South African Journal of Botany*, 131, 374–379. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.03.010>
- Kang, H., Kang, K. W., Kim, D. H., & Sivanesan, I. (2020). *In vitro* Propagation of *Gastrochilus matsuran* (Makino) Schltr., an Endangered Epiphytic Orchid. *Plants*, 524, 1–10. <https://doi.org/10.3390/plants9040524>
- Kanlayavattanakul, M., Lourith, N., & Chaikul, P. (2018). Biological activity and phytochemical profiles of *Dendrobium*: A new source for specialty cosmetic materials. *Industrial Crops and Products*, 120, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.04.059>
- Kauth, P. J., Vendrame, W. A., & Kane, M. E. (2006). *In vitro* seed culture and seedling development of *Calopogon tuberosus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 85(1), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s11240-005-9055-1>
- Kim, J. H., Son, S. W., Kim, S. Y., & Jeong, M. J. (2021). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Pelatantheria scolopendrifolia*, a rare epiphytic orchid native to Korea. *Rhizosphere*, 19, 100371. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100371>
- Koeda, S., Matsumoto, S., Matsumoto, Y., Takisawa, R., Nishikawa, K., & Kataoka, K. (2018). Medium-term *in vitro* conservation of virus-free parthenocarpic tomato plants. *In vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 54(4), 392–398. <https://doi.org/10.1007/s11627-018-9906-1>
- Koene, F. M., Amano, & Ribas, L. L. F. (2019). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Acianthera prolifera* (Orchidaceae). *South African Journal of Botany*, 121, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.019>
- Matos Alvim, B. F., Vieira de Souza, A. V., Lima-Brito, A., Tavares Fonseca, P., Soares, T. L., & Ferreira de Santana, J. R. (2020). *In vitro* conservation of *Amburana cearensis* (Fabaceae). *Ciencia Rural*, 50(7), 1–8. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190729>
- Menezes-Sá, T. S. A., Arrigoni-Blank, M. de F., da Costa, A. S., Feitosa-Alcantara, R. B., Blank, A. F., & Luz, J. M. Q. (2019). *In vitro* conservation and acclimatization of epidendroideae (Orchidaceae) from Sergipe, Brazil. *Bioscience Journal*, 35(2), 356–366. <https://doi.org/10.14393/BJ-v35n2a2019-38776>
- Morales-Báez, M., Salinas-Castro, A., Bello, D. E., Cadena, M. G. L., Fernández, A. R., & Trigos, A. (2016). *Stethobaroides nudiventris* (Coleoptera: Curculionidae), the Curculionid Cause of Petal Wilting on the *Catasetum integerrimum* Orchid. *Annals of the Entomological Society of America*, 109(6), 845–849. <https://doi.org/10.1093/aesa/saw057>
- Muñoz, M., Díaz, O., Reinún, W., Winkler, A., & Quevedo, R. (2019). Slow growth *in vitro* culture for conservation of chilotanum potato germplasm. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(1), 26–35. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392019000100026>

- Nasiruddin, M., & Rafiul Islam, A. (2018). *In vitro* slow growth conservation for two genotypes of *Solanum tuberosum* L. *Bangladesh J. Bot.*, 47(3), 369–380.
- Navarro, Q. R., de Oliveira Corrêa, D., Behling, A., Nosedá, M. D., Amano, É., Suzuki, R. M., & Ribas, L. L. F. (2021). Efficient use of biomass and extract of the microalga *Desmodesmus subspicatus* (Scenedesmales) in asymbiotic seed germination and seedling development of the orchid *Cattleya warneri*. *Journal of Applied Phycology*. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02442-y>
- Noguera-Savelli, E., & Cetzal-Ix, W. (2014). Revisión e integración del conocimiento de las orchidaceae de Tabasco, México. *Botanical Sciences*, 92(4), 519–540.
- Pereira, G., Albornoz, V., Muñoz-Tapia, L., Romero, C., & Atala, C. (2015). Asymbiotic germination of *Bipinnula fimbriata* (Orchidaceae) seeds in different culture media. *Seed Science and Technology*, 43(3), 367–377. <https://doi.org/10.15258/sst.2015.43.3.01>
- Pereira, G., Albornoz, V., Romero, C., Lara, S., Sánchez-Olate, M., Ríos, D., & Atala, C. (2017). Asymbiotic germination in three *Chloraea* species (Orchidaceae) from Chile. Germinación asimbiótica en tres especies de *Chloraea* (Orchidaceae) de Chile. *Gayana Bot.*, 74(1), 131–139.
- Pérez Gutiérrez, R. M. (2010). Orchids: A review of uses in traditional medicine, its phytochemistry and pharmacology. In *Journal of Medicinal Plants Research* 4(8), 592–638. <https://doi.org/10.5897/JMPR10.012>
- Petrova, M., Zayova, E., Geneva, M., Dimitrova, L., Vitkova, A., & Stanilova, M. (2021). Multiplication and Conservation of Threatened Medicinal Plant *Arnica montana* L. *Agric. Conspec. Sci.*, 86(1).
- Phillips, G. C., & Garda, M. (2019). Plant tissue culture media and practices: an overview. In *In vitro Cellular and Developmental Biology - Plant* 55(3), 242–257. Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1007/s11627-019-09983-5>
- Puspitaningtyas, D. M., & Handini, E. (2020). *Ex-situ* conservation of *Cymbidium finlaysonianum* by seed storage. *Biodiversitas*, 21(8), 3519–3524. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d210813>
- Ramírez-Mosqueda, M. A., Cruz-Cruz, C. A., Atlahua-Temoxtle, J., & Bello-Bello, J. J. (2019). *In vitro* conservation and regeneration of *Laelia anceps* Lindl. *South African Journal of Botany*, 121, 219–223. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.11.010>
- Ruta, C., Lambardi, M., & Ozudogru, E. A. (2020). Biobanking of vegetable genetic resources by *in vitro* conservation and cryopreservation. In *Biodiversity and Conservation* 29(13), 3495–3532. Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s10531-020-02051-0>
- Salazar-Mercado, S. A., & Botello-Delgado, E. A. (2020). Effect of the medium composition on the asymbiotic germination and *in vitro* development of the *Laeliocattleya* hybrid. *South African Journal of Botany*, 135, 80–86. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.08.011>
- Sanghamitra, P., Samantaray, S., Bagchi, T. B., & Mandal, B. B. (2019). Conservation of medicinal yam *in vitro*: Effect of ionic strength, sucrose, mannitol, ABA and low temperature. *Indian Journal of Horticulture*, 76(4), 701–706. <https://doi.org/10.5958/0974-0112.2019.00110.5>
- Santos Lima, A. P., Oliveira Bastos, F. de J., Lima Brito, A., Borges Fernandes Gilenio, & Ferreira de Santana, J. de R. (2021). Modulation of culture medium on the *ex situ* conservation of *Neoregelia mucugensis* Leme (Bromeliaceae). *Revista Caatinga*, 34(4), 763–771.
- Seaton, P., Kendon, J., Pritchard, H. W., Puspitaningtyas, M., & Marks, T. R. (2013). Orchid conservation: the next ten years. *Lankesteriana International Journal on Orchidology*, 13(2).
- Sharma, J., Koul, A., Sharma, S., Shankarayan, R., & Mallubhotla, S. (2021). *In vitro* propagation of *Nanorrhinum ramosissimum* (Wall.) Betsche: A traditionally important medicinal plant.

Recibido:
3/agosto/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- Sianipar, N. F., & Mariska, I. (2020). Micropropagation of *Orthosiphon aristatus* through indirect and direct organogenesis. *Jurnal Teknologi*, 82(3), 45–51. <https://doi.org/10.11113/jt.v82.13887>
- Singh, A., Shukla, P. K., Sengar, R. S., & Mishra, P. (2021). *In vitro* effect of polyethylene glycol and sorbitol on two banana varieties viz. *Grand naine* and *Nalla bontha* to study drought stress. *Journal of Applied and Natural Science*, 13(2), 482–490. <https://doi.org/10.31018/jans.v13i2.2579>
- Sorgato, J. C., Soares, J. S., Damiani, C. R., & Ribeiro, L. M. (2020). Effects of light, agar, activated charcoal, and culture medium on the germination and early development of dendrobium seedlings. *Australian Journal of Crop Science*, 14(4), 557–564. <https://doi.org/10.21475/ajcs.20.14.04.p1528>
- Tavazza, R., Rey, N. A., & Pagnotta M.A. (2015). Globe artichoke *in vitro* conservation protocol to meet germplasm preservation and production management. *IX International Symposium on Artichoke, Cardoon and Their Wild Relatives*, 421–428.
- Than, M. M. M. (2013). *In vitro* conservation of endangered orchid *Bulbophyllum auricomum* Lindl., the royal orchid of Myanmar. *Propagation of Ornamental Plants*, 13(4), 154–159.
- Tokuhara, K., Mii, M., & Phillips, G. C. (1993). Micropropagation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* by culturing shoot tips of flower stalk buds. In *Plant Cell Reports* (Vol. 13).
- Utami, E. S. W., & Hariyanto, S. (2019). *In vitro* seed germination and seedling development of a rare Indonesian native orchid *Phalaenopsis amboinensis* J.J.Sm. *Scientifica*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/8105138>
- Velázquez Kú, V. N., Quijano-Ávila, J. del C., & Rodríguez-Ávila, N.L. (2016). Análisis de diferentes sustratos en la germinación y multiplicación *in vitro* de orquídeas silvestres del estado de Campeche. *Revista Del Centro de Graduados e Investigación, Instituto Tecnológico de Mérida*, 27–31.
- Vudala, S. M., & Ribas, L. L. F. (2017). Seed storage and asymbiotic germination of *Hadrolaelia grandis* (Orchidaceae). *South African Journal of Botany*, 108, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.09.008>
- Yam, T. W., & Arditti, J. (2009). History of orchid propagation: A mirror of the history of biotechnology. In *Plant Biotechnology Reports* 3(1), 1–56. <https://doi.org/10.1007/s11816-008-0066-3>
- Yamazaki, J., & Miyoshi, K. (2006). *In vitro* asymbiotic germination of immature seed and formation of protocorm by *Cephalanthera falcata* (Orchidaceae). *Annals of Botany*, 98(6), 1197–1206. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl223>
- Yeh, C. H., Chen, K. Y., & Lee, Y. I. (2021). Asymbiotic germination of *Vanilla planifolia* in relation to the timing of seed collection and seed pretreatments. *Botanical Studies*, 62(1). <https://doi.org/10.1186/s40529-021-00311-y>

FITOQUÍMICOS Y PROPIEDADES NUTRACÉUTICAS DE DURAZNO (*Prunus persica* L.) CULTIVADO EN ZACATECAS

PHYTOCHEMICALS AND NUTRACEUTICAL PROPERTIES OF PEACH (*Prunus persica* L.) HARVESTED IN ZACATECAS

Aguayo-Rojas, J.; S. Mora-Rochín; X. Tovar-Jiménez; J.J. Rochín-Medina y R.O. Navarro-Cortez.

FITOQUÍMICOS Y PROPIEDADES NUTRACÉUTICAS DE DURAZNO (*Prunus persica* L.)
CULTIVADO EN ZACATECAS.

PHYTOCHEMICALS AND NUTRACEUTICAL PROPERTIES OF PEACH (*Prunus persica* L.)
HARVESTED IN ZACATECAS.



**FITOQUÍMICOS Y PROPIEDADES NUTRACÉUTICAS DE DURAZNO (*Prunus persica* L.)
CULTIVADO EN ZACATECAS.**

**PHYTOCHEMICALS AND NUTRACEUTICAL PROPERTIES OF PEACH (*Prunus persica* L.)
HARVESTED IN ZACATECAS.**

Aguayo-Rojas, J.;
S. Mora-Rochín;
X. Tovar-Jiménez;
J.J. Rochín-Medina
y R.O. Navarro-Cortez.

FITOQUÍMICOS Y
PROPIEDADES
NUTRACÉUTICAS DE
DURAZNO (*Prunus persica* L.)
CULTIVADO EN
ZACATECAS.

PHYTOCHEMICALS AND
NUTRACEUTICAL
PROPERTIES OF PEACH
(*Prunus persica* L.)
HARVESTED IN
ZACATECAS.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 151-166. Enero 2022

DOI:

10.18387/polibotanica.53.10

J. Aguayo-Rojas / jesus_aguayo@uaz.edu.mx

Universidad Autónoma de Zacatecas, Químico en Alimentos,
Carretera Zacatecas-Guadalajara Km 6, La Escondida CP. 98160,
Zacatecas, Zacatecas, México. Fax: (492) 7169647

S. Mora-Rochín / smora@uas.edu.mx

Universidad Autónoma de Sinaloa. Boulevard de las Américas S/N,
Col. Universitaria. Culiacán, Sinaloa, México. CP. 80000., Fax: (667) 7137860

X. Tovar-Jiménez / xtovar@upp.edu.mx

Universidad Politécnica de Pachuca.
Carretera Pachuca-Cd. Sahagún Km. 20, Ex-Hacienda de Santa Bárbara
CP. 43830, Zempoala, Hidalgo, México. Fax: (771) 5477510

J.J. Rochín-Medina / jaimerochin@itculiacan.edu.mx

Instituto Tecnológico de Culiacán.
Juan de Dios Batiz S/N, Col. Guadalupe CP 80220,
Culiacán, Sinaloa, México. Fax: (667) 7169647

R.O. Navarro-Cortez / ronc2584@gmail.com

Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Rancho Universitario,
Avenida Universidad Km. 1, Ex-Hacienda de Aquetzalpa CP 43600,
Tulancingo, Hidalgo, México. Fax: (771) 7172000

RESUMEN: Las frutas contienen niveles altos de compuestos biológicamente activos que imparten beneficios a la salud, Zacatecas ocupa los primeros lugares en producción de durazno a nivel nacional. El objetivo del presente estudio fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos y carotenoides, así como las propiedades antioxidante, antihipertensiva y antimicrobiana del durazno criollo cultivado en Zacatecas. Se realizaron extractos metanólicos para evaluar la capacidad antioxidante y se determinó por los métodos DPPH y ABTS. La actividad antihipertensiva fue evaluada mediante la inhibición de la enzima convertidora de angiotensina I, presentando una inhibición del 58% y el efecto antimicrobiano se determinó por el método de difusión en disco, en cepas bacterianas de *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus*. El contenido de flavonoides y taninos fue de 247 y 410 mg equivalentes de catequina/100 g (bs); para fenólicos totales fue de 452 mg equivalentes de ácido gálico/100 g (bs) y para carotenoides 195 µg equivalentes de β-caroteno/100 g (bs). En cuanto a la capacidad antioxidante, se obtuvieron niveles de 3858 y 6215 µmol equivalentes de Trolox/100 g (bs) para DPPH y ABTS, respectivamente. El extracto metanólico de durazno presentó actividad antimicrobiana en todas las cepas bacterianas utilizadas, tanto en las Gram positivas como en las negativas.

Palabras clave: Fitoquímicos, capacidad antioxidante, actividad antihipertensiva, actividad antimicrobiana.

ABSTRACT: Fruits contain high levels of biologically active compounds that impart health benefits, Zacatecas occupies the first places in peach production nationwide. The objective of the present study was to evaluate the content of phenolic compounds and carotenoids, as well as to the antioxidant, antihypertensive, and antimicrobial properties of the Creole peach harvested in Zacatecas. Methanolic extracts were made to evaluate the antioxidant capacity and it was determined by the DPPH and ABTS methods. The antihypertensive activity was evaluated by means of the inhibition of the angiotensin converting enzyme I, presenting an inhibition of 58%, and the antimicrobial activity was determined by the disk diffusion method on bacterial strains of *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*. The flavonoid and tannin content was 247 and 410 mg of catechin equivalents/ 100 g (db); for total phenolics it was 452 mg of gallic acid equivalents/ 100 g (db) and for carotenoids 195 µg β-carotene equivalents/100 g (db). Regarding antioxidant capacity, levels of 3858 and 6215 µmol Trolox equivalents/100 g (db) were obtained for DPPH and ABTS, respectively. The methanolic peach extract presented antimicrobial activity on all the bacterial strains used, both Gram-positive and Gram-negative.

Key words: Phytochemicals, antioxidant capacity, antihypertensive activity, antimicrobial activity.

INTRODUCCIÓN

Los fitoquímicos con potencial antioxidante tienen la capacidad de reducir las consecuencias del estrés oxidativo en el desarrollo de enfermedades y en el proceso de envejecimiento, y de este modo contribuir en los efectos protectores a la salud de las frutas (Álvarez-Suarez *et al.*, 2014). Las frutas contienen niveles altos de compuestos biológicamente activos que imparten beneficios a la salud, además de los valores nutricionales. Dentro de los componentes activos biológicos, los antioxidantes naturales han tenido interés debido a su seguridad y su potencial efecto terapéutico. Estos son capaces de actuar como neutralizadores de radicales libres, inhibidores enzimáticos y sinergistas de la actividad antioxidante. Los antioxidantes naturales de origen vegetal, como flavonoides y taninos, son seguros para la salud y también son bioactivos, ya que ayudan a prevenir enfermedades (Mohsen & Ammar, 2009; Rizwana, Al Otibi & Al-Malki, 2019). En años recientes, mayor atención ha sido puesta en explorar el potencial antioxidante de extractos de plantas o productos aislados de origen vegetal, incluyendo las frutas que son empleadas para el consumo humano (Chua, Tung, & Chang, 2008; Velderrain-Rodríguez, Acevedo-Fani, González-Aguilar, & Martín-Belloso, 2019). Numerosos extractos crudos de materiales vegetales ricos en fenólicos son de interés en la industria alimentaria, ya que pueden retardar la degradación oxidativa y de esta forma mejorar la calidad y el valor nutritivo de los alimentos (Corral-Aguayo, Yahia, Carillo-Lopez & González-Aguilar, 2008). Estudios epidemiológicos han revelado una asociación positiva entre el consumo de frutas y una reducción de ciertas enfermedades crónicas degenerativas, como enfermedades cardiovasculares, ciertos tipos de cáncer como el de mama, entre otras (Noratto, Porter, Byrne, & Cisnero-Zevallos, 2014). La mejor manera de suministrar antioxidantes al cuerpo humano es comer porciones generosas de frutas ricas en antioxidantes como los polifenoles (Giampieri, Alvarez-Suarez & Battino, 2014). En el Estado de Zacatecas se cultivan una gran cantidad de frutas como durazno, tuna, guayaba, uva, ciruela, manzana y membrillo, que no han sido aprovechadas en su totalidad para elaborar diversos productos alimenticios y conocer sus posibles efectos a la salud. Estas frutas representan una oportunidad para que los productores locales accedan a mercados especiales donde los consumidores aprecian la presencia de compuestos bioactivos capaces de prevenir algunas enfermedades (Alves, de Brito, Rufino & Sampaio, 2008). El durazno tiene un valor terapéutico y nutricional muy importante, ya que se le ha relacionado con varias actividades biológicas como antioxidante, antibacteriana y anticancerígena (Kurz, Carle, & Schieber, 2008; Noratto, Porter, Byrne & Cisnero-Zevallos, 2014). Zacatecas se ubica entre los cinco Estados con mayor producción de durazno a nivel nacional (SIAP, 2018), existen pocos estudios que indiquen su potencial nutraceutico o su efecto benéfico a la salud, por lo que el objetivo de la presente investigación fue determinar los

niveles de fitoquímicos y evaluar las actividades antioxidante, antihipertensiva y antimicrobiana de la variedad criolla de durazno cultivada en el mismo Estado, ya que se ha relacionado el contenido de fitoquímicos en las frutas, con sus posibles actividades bioactivas. La información generada en este estudio podría aumentar las oportunidades de mercado de este fruto en la industria de alimentos funcionales y en su consumo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Frutos maduros de durazno (*Prunus persica* L.) de la variedad criolla fueron colectados en el municipio de Jerez, Zacatecas, México (22° 39' N 103° 00' O) en el mes de agosto 2019. El material fue cortado en rodajas y secado en un horno de aire forzado hasta alcanzar una humedad del 15% (Precision Instruments, Model DN-43) a 35 °C por 2 días. Los frutos secos fueron molidos (UD Cyclone Sample Mill, UD Corp., Boulder, CO) hasta pasar por una malla 80-US (0.180 mm), y empacados en bolsas de plástico. La harina de durazno resultante fue almacenada a -20 °C para evitar la degradación de fitoquímicos.

Extracción de fitoquímicos

Los fitoquímicos en durazno fueron extraídos de acuerdo a Adom & Liu (2002). 0.5 g de harina fue mezclada con 10 mL de metanol 99.5% (80:20, v/v); esta suspensión se agitó en un rotator (OVAN noria R, EUA, 2010) por 10 min, y fue centrifugada a 3000 x g/10°C/10 min. El sobrenadante se colocó en tubo nuevo y se concentró a 35°C (Speed Vac Concentrator, Thermo Electron Corporation) hasta alcanzar un volumen final de 2 mL.

Determinación de flavonoides

En una placa de 96 celdas, se agregaron 20 µL del extracto de fitoquímicos. Los extractos se mezclaron con 80 µL de agua destilada y 6 µL de NaNO₂ al 5% (p/v) y se dejó reposar por 5 minutos. Posteriormente fueron adicionados 12 µL de AlCl₃ al 10% (p/v), 10 µL de NaOH 1M y 20 µL de agua destilada. Después de 30 min de reposo la absorbancia fue determinada a 510 nm, se empleó catequina como estándar (99%, Sigma Chemical Co.) y el contenido de flavonoides fue expresado como mg equivalentes de catequina (mg EC)/100 g, las determinaciones se realizaron por triplicado (Adom & Liu, 2002).

Determinación de taninos condensados

Por su estructura polimérica la extracción de taninos no se realizó con los extractos de fitoquímicos. 1 g de harina de durazno se mezcló con 10 ml de acetona (80:20, v/v). A 20 µL de este extracto, se adicionaron 1200 µL de una solución de vainillina al 4% (p/v) en metanol (99.5%) y 600 µL de HCl concentrado, se dejaron en reposo durante 15 min a temperatura ambiente. Se empleó catequina como estándar (99%, Sigma Chemical Co.) y se midió la absorbancia a 500 nm. Los resultados se calcularon y expresaron como mg equivalentes de catequina (mg EC)/100 g de muestra en base seca (bs). Las determinaciones se realizaron por triplicado (Xu & Chang, 2007).

Determinación de compuestos fenólicos totales

En una placa de 96 celdas, se agregaron 20 µL del extracto de fitoquímico. Se mezclaron con 180 µL del reactivo de Folin Ciocalteu (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), la reacción se neutralizó con 50 µL Na₂CO₃ al 7% y posteriormente se dejó reposar por 90 min. Se empleó ácido gálico como estándar (Sigma Chemical Co.) y se midió la absorbancia a 750 nm, el contenido de fenólicos totales fue expresado como mg equivalentes de ácido gálico (mg EAG)/100 g de muestra en base seca (bs), las determinaciones se realizaron por triplicado (Singleton, Orthofer & Lamuela-Raventós, 1999).

Determinación de Carotenoides totales

Se pesaron 0.1 g de muestra y se homogeneizó con 1 mL de una solución de acetona 99.5%-etanol (v/v, 1:1), se dejó reposar por 24 h. Se filtró la solución al vacío, se transfirió el filtrado a un embudo de separación y se adicionaron 5 mL de hexano 95% y 2.5 mL de agua destilada y se dejó reposar por 30 min. Finalmente se midió la absorbancia de la fase orgánica a 470 nm. Los resultados se expresaron en μg β -caroteno equivalentes (EBC)/100 g, empleando el coeficiente de extinción molar de 2500 del β -caroteno. Se empleó como blanco hexano (Campos *et al.*, 2006).

$$\mu\text{g de } \beta\text{-caroteno} \frac{\text{equiv}}{100\text{g}} = \left(\frac{AxVx10^6}{A_{1\text{cm}}^{1\%}x100xPmx(g)} \right)$$

Donde:

A= Absorbancia de la muestra

V= Volumen total del extracto

A1% 1cm= Coeficiente de absorptividad del β -caroteno (2500)

Pmx = Peso de muestra en gramos

Evaluación de la actividad antioxidante

Se empleó el método de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), adaptado para microplatos. Se mezclaron 20 μL del extracto de fitoquímicos con 200 μL de la solución de DPPH (Sigma Chemical Co.) en una placa de 96 celdas. Se incubó por 30 minutos. La absorbancia fue determinada a 540 nm. La actividad antirradical fue expresada como μmol equivalentes de Trolox (Sigma Chemical Co.) (ET)/100 g de muestra en base seca (bs). Las determinaciones se realizaron por triplicado (Cardador-Martínez, Loarca-Piña, & Ooman, 2002). La actividad antirradical ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) se llevó a cabo de acuerdo a Re, Pellegrini, Proteggente, Yang, & Rice-Evans (1999). A 1980 μL de la dilución (3.5 mM, pH 7) del radical ABTS^{•+} (Sigma Chemical Co.) se le añadieron 20 μL de extracto de fitoquímicos y se incubaron 15 min en oscuridad para posteriormente medir la absorbancia a 735 nm. La actividad antirradical fue expresada como μmol equivalentes de Trolox (ET)/100 g de muestra en base seca (bs) y las determinaciones se realizaron por triplicado.

Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina

Se midió la actividad de 0.05 mL (0.025 U/mL) de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) frente a su sustrato, Hipuril-L-Histidil-L-Leucina (Sigma Chemical Co.) a una concentración de 0.3% (p/v). Bajo las mismas condiciones se realizó la medición de la actividad de la ECA adicionando enalapril, a una concentración de 0.4% (p/v) como control positivo, para inhibir la actividad de la ECA. Para evaluar la propiedad inhibitoria de durazno se utilizó una concentración de los extractos de 0.2% (p/v) en un buffer de fosfatos PBS (400 mM, pH 8.5). Durante el procedimiento se realizó una incubación de la enzima con su sustrato a 37 °C por 30 minutos y según era el caso, con los inhibidores (enalapril o extracto de durazno); la reacción fue detenida con 0.25 mL de HCl 1M. Posteriormente se realizó una extracción del producto de la actividad enzimática, el ácido hipúrico, con 1.0 mL de acetato de etilo, seguido de la evaporación del exceso de acetato de etilo; este producto se disolvió en 1.5 mL de agua destilada y se determinó su absorbancia a una longitud de onda de 228 nm (Wang, Saito, Tatsumi, & LI, 2003). La actividad de inhibición de la ECA se expresó como % inhibición de la ECA y se calcula como sigue:

$$\% \text{ Inhibición} = (\text{Absorbancia control} - \text{Absorbancia muestra}) / (\text{Absorbancia control}) \times 100$$

Actividad antimicrobiana

El efecto antimicrobiano se determinó por el método de difusión en disco, partiendo de cepas aisladas de *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Las bacterias fueron cultivadas en medio de infusión de cerebro y corazón a 37 °C durante 24 h. El inóculo se ajustó

a una concentración de 1×10^8 UFC/mL en la escala MacFarland. Se inocularon las cepas bacterianas en cajas de Petri estériles con agar métodos estándar, utilizando para ello un hisopo estéril y asegurándose de cubrir de manera uniforme toda la caja. Una vez que el inóculo se impregnó en el medio por 15 min, se procedió a colocar los discos en un sitio específico, previamente establecido, adicionando 10 μ L de extracto de durazno (2.5 mg/mL, p/v), se dejó incubando a 37 °C durante 24 h y se midió el halo de inhibición usando un Caliper, considerando como diámetro aquel lado del halo con aspecto más circunferencial. Los resultados de la actividad antimicrobiana se determinaron en función del halo de inhibición, y fueron reportados en milímetros. Las evaluaciones se hicieron por cuadruplicado para cada cepa y como control se empleó ampicilina (Wanger, 2007).

Análisis estadístico

Los datos obtenidos del durazno se analizaron aplicando una ANOVA bifactorial, para la comparación de medias se utilizó la prueba de rangos múltiples de Duncan, con un nivel de significancia de 95% ($p \leq 0.05$) empleando el programa Statgraphics (Statpoint Technologies, Inc. Warrenton, Virginia, USA). Los resultados son expresados como la media de tres experimentos con su desviación estándar

RESULTADOS

Compuestos fenólicos y carotenoides en los extractos de durazno

En el presente estudio el contenido de flavonoides obtenido en durazno fue de 247 mg CE/100 g (bs) (Tabla 1) y de taninos fue de 410 mg CE/100 g (bs), por lo que se le considera un valor alto comparado con otros frutos (Tabla 1). El contenido total de fenólicos obtenidos en durazno fue de 452 mg EAG/100 g (bs) (Tabla 1) y de carotenoides totales de 195 μ g EBC/100 g (bs) (Tabla 1).

Tabla 1. Contenido de compuestos fenólicos y carotenoides en extractos de durazno.

Extracto	Flavonoides ¹	Taninos ²	Fenólicos Totales ³	Carotenoides ⁴
Durazno	247±1.93	410±1.82	452±1.76	195±35

^{1,2}Miligramos equivalentes de catequina/100 g

³Miligramos equivalentes de ácido gálico/100 g

⁴ μ g equivalentes de β -caroteno/100 g

Actividad antioxidante

En el presente estudio se emplearon análisis de antioxidantes basados en reacciones químicas (DPPH y ABTS). Los valores de actividad antioxidante en durazno se muestran en la Tabla 2. Los valores obtenidos en nuestra investigación por DPPH y ABTS fueron 3858 y 6215 μ mol ET/100 g, respectivamente. Los resultados obtenidos por el método de DPPH muestran que la capacidad antioxidante del durazno es alta en comparación con los valores reportados en otras frutas y lo obtenido por el ABTS se encontró en el mismo rango.

Tabla 2. Actividad antioxidante de extracto de durazno.

Extracto	DPPH ²	ABTS ³
Durazno	3858±1.78	6215±2.5

^{1,2} μ mol equivalentes de Trolox/100 g

Actividad inhibitoria de la enzima convertidora de angiotensina (ECA)

El extracto metanólico de durazno logró una inhibición de la ECA del $58\pm 0.5\%$, no existen estudios científicos que señalen el efecto del durazno sobre la ECA.

Actividad antimicrobiana

Los diámetros de inhibición de los extractos de durazno son mostrados en la Tabla 3, los extractos inhibieron el crecimiento en las bacterias Gram (-) *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* de 8.83 ± 0.57 mm y 9.97 ± 0.34 mm, respectivamente. Para las bacterias Gram (+) *Listeria monocytogenes* y *Staphylococcus aureus* los diámetros de inhibición fueron de 7.20 ± 0.48 mm y 7.88 ± 0.65 mm, respectivamente. Comparando ambos efectos, el durazno presentó una mayor actividad antimicrobiana sobre las cepas de bacterias Gram (-). Para el control ampicilina los mm de inhibición fueron en las bacterias Gram (-) *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* de 13.20 ± 0.73 mm y 14.40 ± 0.44 mm, respectivamente. Para las bacterias Gram (+) *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* los diámetros de inhibición fueron de 12.60 ± 0.55 mm y 16.30 ± 0.42 mm, valores de inhibición superiores a los mostrados en los extractos de durazno

Tabla 3. Actividad antimicrobiana de los extractos de durazno.

Bacteria	Halos de inhibición (mm)	Ampicilina (mm)
Gram (-)		
<i>Salmonella typhimurium</i>	8.83 ± 0.57	13.20 ± 0.73
<i>Escherichia coli</i>	9.97 ± 0.34	14.40 ± 0.44
Gram (+)		
<i>Staphylococcus aureus</i>	7.88 ± 0.65	12.60 ± 0.55
<i>Listeria monocytogenes</i>	7.20 ± 0.48	16.30 ± 0.42

DISCUSIÓN

Las frutas son una buena fuente de flavonoides, actualmente, existe un creciente interés en los flavonoides, debido a la posibilidad de mejorar la salud pública a través de la dieta, promovida por el consumo de frutas donde este fitoquímico se encuentra en cantidades considerables (Ignant, Volf & Popa, 2011). Distintos tipos de flavonoides han sido reportados en durazno previamente, como lo son flavan-3-oles (catequina y dímeros de procianidina), antocianinas (cianidina-3-glucósido y cianidina-3-rutinósido), además de flavonoles (quercetina-3-glucósido, quercetina-3-galactósido, quercetina-3-rutinósido, kaempferol-3-glucósido, kaempferol-3-galactósido, kaempferol-3-rutinósido) (Liu, Cao & Jiang, 2015; Mokrani & Madani, 2016). El contenido total de flavonoides reportados en otras frutas (ciruela, kiwi, manzana) es de 118-239 mg CE/100 g, bs y en durazno de 240 a 300 mg CE/100 g, bs, valores muy similares a los encontrados en nuestro estudio, aunque las condiciones de extracción fueron diferentes a las empleadas en nuestra investigación, en cuanto a la temperatura de extracción y tipo de solvente empleado (Awad, de Jager, & van Westing, 2000; Kim, Jeong, & Lee, 2003; Park, *et al.*, 2014; Mokrani & Madani, 2016). Con la excepción de los flavan-3-oles (catequinas), los flavonoides se acumulan principalmente en forma de glucósidos y están a menudo concentrados en las células epidérmicas superiores de las cáscaras de las frutas. La determinación de flavonoides presentes en frutas es un tema que está estrechamente relacionado con los beneficios a la salud de los alimentos de origen vegetal, la investigación sobre la cuantificación de los flavonoides en

frutas es necesaria para revelar la biodisponibilidad y bioaccesibilidad de estos compuestos en la dieta humana. El contenido de flavonoides en durazno está relacionado con la variedad y el estado de maduración, conforme avanza la maduración, la cantidad de este fitoquímico disminuye, esto puede ser atribuido a la condensación de diferentes ácidos fenólicos en los últimos estados de maduración, formando algunos complejos fenólicos con taninos y la lignina (Ben Ahmed, Ben Rouina, Sensoy & Boukhri, 2009) y al aumento en el contenido de agua en las células, así como a la disminución de la actividad de la enzima involucrada en la biosíntesis de los polifenoles, la fenilalanina amonioliasa, por otra parte, los frutos se ven enriquecidos con compuestos fenólicos aromáticos y pigmentos (Belhadj, *et al.*, 2016). En presencia de ácido clorhídrico concentrado, los taninos condensados son despolimerizados y se transforman en antocianidololes cuantificables (color rojo) al reaccionar con la vainillina. El contenido de taninos reportados en algunas frutas como kiwi, arándanos y en durazno es de 240 a 597 mg CE/100 g, bs, aunque cabe señalar que las condiciones de extracción fueron diferentes a las empleadas en nuestra investigación (Del Bubba, *et al.*, 2009; McDougall, Kulkarni, & Stewart, 2009; Park, *et al.*, 2011; Belhadj, *et al.*, 2016). El contenido de taninos condensados en frutas es afectado principalmente por las condiciones ambientales de las áreas de cultivo, además del grado de maduración de las frutas. Adicionalmente, el contenido de taninos puede estar influenciado por el almacenamiento y las condiciones de procesamiento (Serrano, Puupponen-Pimiä, Dauer, Aura, & Saura-Calixto, 2009). El contenido de taninos en frutas ha sido por mucho tiempo de interés en alimentos debido a su importancia en la determinación de la calidad de las frutas y sus productos. Los taninos están asociados con el color, astringencia y amargor en las frutas (Landete, 2012). Por otra parte, varias investigaciones han revelado el efecto anticarcinogénico, actividad antiinflamatoria, antimutagénica, antimicrobiana y antioxidante de los taninos (Prior & Gu, 2005; Borges-Argaéz, Canche-Chay, Peña-Rodríguez, Said-Fernández & Molina-Salinas, 2007). Los taninos tienen un peso molecular relativamente alto y son divididos usualmente en dos grupos: hidrolizables (galotaninos y elagitaninos) y condensados también conocidos como proantocianidinas (Hagerman & Butler, 1991). Los taninos condensados son más estables, son fácilmente desdoblados y disminuyen durante la maduración, esto puede ser explicado por el hecho de que estas moléculas son esenciales para la protección de las frutas durante las primeras etapas de maduración contra insectos y otros ataques de parásitos (Håring, Suter, Amrhein, & Lüscher, 2007). Durante la maduración los polímeros de los flavan-3-oles son hidrolizados por monómeros explicando su disminución y el aumento de flavonoides. El efecto antioxidante de los taninos es atribuido principalmente a su modo de acción en neutralizar radicales libres, quelación de metales de transición, inhibición de enzimas prooxidantes y la peroxidación lipídica (Koleckar *et al.*, 2008). En otras frutas como fresa (Crecente-Campo, Nunes-Damaceno, Romero-Rodríguez, & Vázquez-Oderiz, 2012), mango (Kim *et al.*, 2010), ciruela (Arion *et al.*, 2014), tuna, pera, zarzamora (Clerici & Carvalho-Silva, 2011) se ha reportado el contenido de compuestos fenólicos totales en un rango de 218 a 440 mg AGE/100 (bs). El contenido de este fitoquímico en durazno depende del tipo de variedad y del estado de maduración del fruto, otros autores han reportado valores en durazno con diferentes estados de maduración, desde las etapas tempranas hasta las finales en un rango de 25 a 384 mg AGE/100 g (bs), menor cantidad de lo obtenido en la presente investigación, donde nuestra muestra se encontraban en la etapa 3 o final de maduración (Belhadj, *et al.*, 2016; Mokrani & Madani, 2016; Saidani, *et al.*, 2017). El contenido total de compuestos fenólicos puede ser afectado por el área de cultivo, el tiempo de cosecha y las condiciones climáticas (Bashir & Abu-Goukh, 2003), también se ha reportado una tendencia a la disminución del contenido de fenólicos totales al avanzar el estado de maduración, esto al aumentar la actividad de la enzima polifenol-oxidasa (Belhadj, *et al.*, 2016). La distribución y el contenido de los compuestos fenólicos en frutas son de interés debido a sus beneficios a la salud. Estos beneficios están asociados con sus propiedades antioxidantes, hoy en día más evidencia indica su efecto como moléculas involucradas en modular rutas de señalización y, de esta forma, afectar funciones celulares y en la expresión de genes, además de su efecto directo en el sistema digestivo (Battino *et al.*, 2009). La distribución y composición de los compuestos fenólicos en frutas son afectados por la madurez, tipo de cultivar, prácticas hortícolas, origen geográfico, estación de crecimiento, condiciones de almacenamiento en postcosecha y las

condiciones de procesamiento (Kim, Jeong & Lee, 2003). Los compuestos fenólicos más comunes en frutas, incluido el durazno, son antocianinas, glucósidos de flavonoides, taninos condensados y ácidos hidroxicinámicos (Määttä-Riihinen, Kamal-Eldin, Mattila, González-Paramás & Törrönen, 2004). Los compuestos fenólicos son los principales responsables de la capacidad antioxidante en el durazno, aunque la vitamina C y los carotenoides también tienen una contribución importante, los compuestos fenólicos presentes en el durazno han mostrado tener varios efectos biológicos como actividad antioxidante, antialérgico, antiinflamatorio, antibacterial, quimiopreventivo y anticancer (Mokrani & Madani, 2016). El desarrollo de los carotenoides se lleva a cabo cuando los cloroplastos son transformados a cromoplastos durante la maduración, resultando en la síntesis de varios carotenoides que no están presentes en las frutas verdes (Fox, Del Pozo-Insfran, Lee, Sargent, & Talcott, 2005). Otros estudios han reportado valores en durazno de 51 a 346 μg EBC/100 g, bs, en duraznos de pulpa blanca y amarilla, datos similares a los encontrados en nuestra investigación (Gil, Tomás-Barberán, Hess-Pierce & Kader, 2002; Puerta-Gomez & Cisneros-Zevallos, 2011), aunque como se mencionó anteriormente el grado de maduración influye considerablemente en su contenido. Estudios previos han reportado que los carotenoides son los principales responsables del color en los frutos maduros, lo que explica porque su contenido aumenta gradualmente durante la maduración (Hu, Dars, Liu, Xie & Sun, 2018). Diversos frutos como el mango, guayaba y durazno son los que mayor cantidad de este fitoquímico presentan. El contenido inicial de carotenoides en durazno aumenta considerablemente durante los primeros cuatro días a 18 °C correspondientes al proceso de maduración, mientras que la firmeza de la pulpa disminuye en este periodo, esto hasta que la fruta alcanza su grado mayor de maduración que corresponden a unos 4.5 N. El valor mínimo para considerar a un durazno maduro es de 9 N (Puerta-Gomez & Cisneros-Zevallos, 2011). Los carotenoides son moléculas con propiedades antioxidantes y su consumo en la dieta, además de sus altos niveles en el plasma sanguíneo, han sido relacionados con una disminución en las enfermedades crónicas, incluyendo diabetes tipo-2, enfermedades cardiovasculares, así como varios tipos de cáncer. Algunos exhiben propiedades de provitamina A, aunque solo algunos pocos están presentes en la dieta humana como lo son el β y α caroteno (Weber & Grune, 2012; Wang, Chun & Song, 2013), estos datos nos indican la importancia de nuestro material de estudio, ya que se encontró un considerable contenido de este compuesto bioactivo. Los datos reportados en durazno (Mokrani & Madani, 2016) y en otras frutas como ciruela (Arion *et al.*, 2014), guayaba (Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos, & Byrne, 2006) por el método DPPH varían de 2010 a 3200 μmol ET/100 g y por ABTS varían de 2230 a 7500 μmol ET/100 g en ciruela (Kristl, Slekovec, Tojnko & Unuk, 2011), guayaba (Thaipong, Boonprakob, Crosby, Cisneros-Zevallos & Byrne, 2006) y durazno (Floegel, Kim, Chung, Koo & Chun, 2011). Los compuestos antioxidantes son capaces de neutralizar radicales libres y de esta forma reducir el riesgo de enfermedades crónicas. Actualmente, la actividad antioxidante en las frutas ha sido tomada como un indicador de sus efectos benéficos para la salud humana (Prior & Wu, 2013). La especificidad y sensibilidad de un solo método no indica la completa exanimación de los fitoquímicos en el extracto, de esta forma, las combinaciones de varios métodos pueden proveer una evaluación más confiable del perfil de antioxidantes en las frutas. Dos ensayos fueron empleados para evaluar las propiedades antioxidantes en los extractos de durazno, cada ensayo tiene su propia ventaja y limitación, de esta forma los datos obtenidos por los dos métodos aumentan la confianza del potencial antioxidante del durazno. Los métodos ABTS y DPPH evalúan la capacidad de la muestra para neutralizar radicales libres modelo. El DPPH es un radical libre estable soluble en metanol que es neutralizado mediante un mecanismo de transferencia de hidrógeno; por otra parte, el ABTS su mecanismo de neutralización es principalmente por transferencia de electrones (Floegel, Kim, Chung, Koo & Chun, 2011) Las diferencias en los métodos son debidas a que el radical ABTS puede reaccionar con un mayor rango de compuestos antioxidantes incluyendo los hidrofílicos y lipofílicos, aunque también puede ser reducido por compuestos que presentan grupos OH (carbohidratos), que no son necesariamente los compuestos fenólicos. En contraste el método DPPH solo puede disolverse en medio orgánico por lo que mide preferentemente la capacidad antioxidante de compuestos poco polares (Vázquez-Carrillo, Aparicio-Eusebio, Salinas-Moreno, Buendía-Gonzalez & Santiago-Ramos, 2018). La determinación de la capacidad

antioxidante es una reacción dependiente del mecanismo. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos depende de su facilidad de donar sus átomos de hidrogeno, para los flavonoides su eficiencia para neutralizar los radicales libres depende del número de grupos hidroxilo y de su posición en la molécula (van Acker *et al.*, 1996). La variación en la capacidad antioxidante con otros frutos o con otras variedades de durazno puede originarse debido a los diferentes niveles de fitoquímicos en cada variedad, principalmente en el contenido de flavonoides, carotenoides y taninos, así como de la interacción entre los diferentes compuestos bioactivos contenidos en los diversos frutos, especialmente en el contenido de fenólicos totales, ya que estos compuestos, son los principales promotores de la capacidad antioxidante en frutos (Xu, Yuan & Chang, 2007). Los fitoquímicos con potencial antioxidante tienen la capacidad de reducir las consecuencias del estrés oxidativo en el desarrollo de enfermedades y en el proceso de envejecimiento, y de este modo contribuyen en los efectos protectores a la salud generales de las frutas (Álvarez-Suarez *et al.*, 2014). Las frutas contienen niveles altos de compuestos biológicamente activos que imparten beneficios a la salud además de los valores nutricionales básicos. Dentro de los componentes activos biológicos, los antioxidantes naturales han tenido interés debido a su seguridad y su potencial efecto terapéutico. Estos antioxidantes son capaces de actuar como neutralizadores de radicales libres, inhibidores enzimáticos y sinérgicos (Mohsen & Ammar, 2009). Existen reportes de la inhibición de la ECA con otras frutas con sus respectivos valores neutralizadores, por ejemplo plátano, granada, litchi 50% (Fernández & Labra, 2013; Kessy, Wang, Zhao, Zhou & Hu, 2018) y fresa 38% (Cheplick, Kwon, Bhowmik & Shetty, 2010), además se ha reportado que la cáscara y semillas de la uva han alcanzado porcentajes de inhibición de hasta 80% (Fernández & Labra, 2013), mientras que el control positivo enalapril presentó una inhibición de la enzima del 98±1%. Diferentes tipos de compuestos contenidos en los alimentos han sido investigados sobre sus propiedades inhibitorias de la ECA. Derivados proteicos en alimentos son el grupo principal, como potenciales fuentes (Wilson, Hayes & Carney, 2011; Herrera Chale, Ruiz Ruiz, Acevedo Fernández, Betancur Ancona & Segura Campos, 2014). Los metabolitos secundarios producidos en las plantas son otro grupo de compuestos naturales que han sido identificados como potenciales inhibidores de la ECA. Algunos terpenoides y compuestos fenólicos incluyendo a los flavonoides y taninos, así como algunos derivados del ácido cafeico. La mayoría de los estudios han demostrado que los extractos de plantas son efectivos contra la inhibición de la ECA, por lo que es importante conocer cuáles son los que tienen un mayor potencial (Ojeda *et al.*, 2010). Actualmente diversos medicamentos son empleados para el control de la hipertensión arterial, estos pertenecen al grupo de inhibidores de la ECA. Ejemplos de ellos son el captopril, enalapril, lisinopril y termocapril estos están disponibles en varios países. Estos medicamentos generalmente actúan ligando el zinc, cofactor de la ECA, a un grupo sulfhidrilo, lo que permite bloquear eficazmente los lugares activos de la enzima e inhibir así, su actividad biológica. No obstante, estas ventajas de los inhibidores de la ECA pueden resultar inefectivas en el momento que produzcan efectos adversos tales como erupciones o sarpullidos en la piel, trastornos alimenticios y tos entre otros, que obligan a interrumpir el tratamiento (Laurent, 2017). Entre los grupos de metabolitos secundarios encontrados en durazno y que presentan un efecto inhibitor de la actividad de la ECA, los taninos podrían ser uno de los principales responsables en alterar tal actividad enzimática, puesto que, gracias a su estructura polifenólica es factible la unión con este tipo de compuestos a proteínas, lo que alteraría su función, tras la aglutinación. Los taninos altamente glucosilados contenidos en los frutos pueden formar puentes de hidrogeno con el zinc, cofactor de la enzima ECA y con otros sitios activos de la proteína, tal como actúan los fármacos empleados para el control de la hipertensión, pero con la ventaja de que estos fitoquímicos son de origen natural y los efectos secundarios provocados por los medicamentos se pudieran evitar (Lacaille, Franck & Wagner, 2001). Adicionalmente los grupos hidroxilo (OH⁻) de los flavanoles pueden tener un efecto positivo en inhibir la enzima al interactuar con las proteínas, resultando en la formación de un enlace fuerte entre las catequinas y la ECA (Fernández & Labra, 2013). Algunos antimicrobianos naturales se obtienen principalmente de hierbas, plantas, y especias, la actividad antimicrobiana de hierbas y plantas es generalmente atribuida a los compuestos fenólicos presentes en sus extractos o aceites esenciales. Las frutas con alto contenido de

compuestos fenólicos como dátiles (Kchaou *et al.*, 2016), granada (Al-Zoreky, 2009), naranja, limón, mandarina (Espina *et al.*, 2011) y uva (Oliveira *et al.*, 2013) se les ha relacionado con propiedades antimicrobianas. Los resultados obtenidos muestran que la actividad antimicrobiana del durazno contra las bacterias probadas normalmente, no depende de la morfología *Salmonella typhimurium* (bacilo), *Escherichia coli* (bacilo), *Listeria monocytogenes* (bacilo) y *Staphylococcus aureus* (coco) y naturaleza de las Gram, ya que mostraron un efecto inhibitorio hacia Gram (+) y Gram (-). Diversos compuestos bioactivos presentes en frutas como los compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y cumarinas) y carotenoides se les han atribuido un poder antimicrobiano (Surveswaran, Cai, Corke & Sun, 2007). Específicamente los ácidos fenólicos contenidos en frutas (ácido gálico, ácido protocatecuico, ácido cumárico, ácido ferúlico, ácido vanílico y ácido cinámico) se les ha comprobado su efecto antimicrobiano y citotóxico (Zarai *et al.*, 2011; Kchaou, *et al.*, 2016). Investigaciones con algunos flavonoides como catequina, quercetina y apigenina han demostrado su efecto antibacteriano tanto en Gram (+), como Gram (-) esto debido a tres mecanismos, 1) Daño en la membrana citoplasmática originando su perforación, formando H₂O₂ (Arakawa, Maeda, Okubo & Shimamura, 2004), 2) reducción en la fluidez de la membrana, inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos (inhibición de la topoisomerasa y dihidrofolato reductasa) (Gradišar, Pristovšek & Jerala, 2007) y 3) inhibición del metabolismo energético, inhibiendo la enzima ATP sintasa (Chinnam *et al.*, 2010), también se ha demostrado el efecto de los flavonoides sobre la inhibición de la síntesis de la pared celular, inhibiendo la enzima D-alanina-D-alanina ligasa (Wu *et al.*, 2008) y de la membrana celular, inhibiendo las enzimas FabG, FabI, FabZ, Rv0636 y KAS III (Cushnie & Lamb, 2011), los principales flavonoides causantes de este daño son flavonas, flavonoles, flavanonas, antocianidinas y flavanos (Kchaou *et al.*, 2016). Otro compuesto fenólico encontrado en el extracto de durazno son los taninos y también se ha confirmado su efecto antimicrobiano, su mecanismo de acción es debido a su interacción con la membrana celular y con la inhibición de las proteasas, en el transporte celular a través de la membrana y su adhesión con proteínas lo que induce cambios morfológicos en las bacterias (Kchaou *et al.*, 2016).

CONCLUSIONES

Los resultados de nuestra investigación indican los primeros estudios sobre el contenido de fitoquímicos y el potencial nutraceutico de la variedad de durazno criolla cultivada en Zacatecas, estos resultados sugieren la considerable cantidad de fitoquímicos presentes en el fruto, específicamente compuestos fenólicos, que pueden ser considerados como una buena fuente para aplicaciones médicas y alimentarias. Los fitoquímicos contenidos en el durazno pueden ser usados como una fuente natural de antioxidantes, además de inhibir la actividad ECA, por lo que podría considerarse al durazno como una de las frutas con potencial antihipertensivo, aunque son necesarios estudios *in vivo*, para comprobar su real eficacia, así mismo los extractos de durazno presentaron actividad antimicrobiana contra cuatro cepas bacterianas de interés en alimentos, esto es importante, ya que en la actualidad la industria de los alimentos está en la búsqueda de compuestos antimicrobianos de origen natural y evitar los sintéticos.

LITERATURA CITADA

- Adom, K. K., & Liu, R. H. (2002). Antioxidant activity of grains. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(21), 6182-6187.
- Álvarez-Suarez, J. M., Giamperi, F., Tulipani, S., Casoli, T., Di Stefano, G., González-Paramás, A. M., & Battino, M. (2014). One-month strawberry-rich anthocyanin supplementation ameliorates cardiovascular risk, oxidative stress markers and platelet activation in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 289-294.

- Alves, R. E., de Brito, E. S., Rufino, M. S., & Sampaio, C. G. (2008). Antioxidant activity measurement in tropical fruits: A case study with acerola. *Acta Horticulturae*, 773, 299-305.
- Al-Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134(3), 244-248.
- Arakawa, H., Maeda, M., Okubo, S., & Shimamura, T. (2004). Role of hydrogen peroxide in bactericidal action of catechin. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 27(3), 277-281.
- Arion, C. M., Tabart, J., Kevers, C., Niculaua, M., Filimon, R., Beceanu, D., & Dommes, J. (2014). Antioxidant potential of different plum cultivars during storage. *Food Chemistry*, 146(1), 485-491.
- Awad, M.A., de Jager, A., & van Westing, L.M. (2000). Flavonoid and chlorogenic acid levels in apple fruit: characterisation of variation. *Scientia Horticulturae*, 83(3-4), 249-263.
- Bashir, H.A., & Abu-Goukh, A.B.A. (2003). Compositional changes during guava fruit ripening. *Food Chemistry*, 80(4), 557-563.
- Battino, M., Beekwilder, J., Denoyes-Rothan, B., Laimer, M., McDougall, G. J., & Mezzetti, B. (2009). Bioactive compounds in berries relevant to human health. *Nutrition Reviews*, 67(1), S145-S150.
- Belhadj, F., Somrani, I., Aissaaoui, N., Messaoud, C., Boussaid, M., & Marzouki, M. N. (2016). Bioactive compounds contents, antioxidant and antimicrobial activities during ripening of *Prunus persica* L. varieties from the North West of Tunisia. *Food Chemistry*, 204, 29-36.
- Ben Ahmed, C., Ben Rouina, B., Sensoy, S., & Boukhriss, M. (2009). Saline water irrigation effects on fruit development, quality, and phenolic composition of virgin olive oils, cv. Chemlali. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(7), 2803-2811.
- Borges-Argaéz, R., Canche-Chay, C.I., Peña-Rodríguez, L.M., Said-Fernández, S., & Molina-Salinas, G.M. (2007). Antimicrobial activity of *Diospyros anisandra*. *Fitoterapia*, 78(5), 370-372.
- Campos, D., Noratto, G., Chirinos, R., Arbizu, C., Roca, W., & Cisneros-Zevallos, L. (2006). Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(10), 1481-1488.
- Cardador-Martínez, A., Loarca-Piña, G., & Ooman, B.D. (2002). Antioxidant activity in common beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24), 6975-6980.
- Cheplick, S., Kwon, Y.I., Bhowmik, P., & Shetty, K. (2010). Phenolic-linked variation in strawberry cultivars for potential dietary management of hyperglycemia and related complications of hypertension. *Bioresource Technology*, 101(1), 404-413.
- Chinnam, N., Dadi, P.K., Sabri, S., Ahmad, M., Kabir, M.A., & Ahmad, Z. (2010). Dietary bioflavonoids inhibit *Escherichia coli* ATP synthase in a differential manner. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46(5), 478-486.
- Chua, M.T., Tung, Y.T., & Chang, S.T. (2008). Antioxidant activities of ethanolic extracts from twigs of *Cinnamomum osmophleum*. *Bioresource Tehnology*, 99(6), 1918-1925.
- Clerici, M.T., & Carvalho-Silva, L.B. (2011). Nutritional bioactive compounds and technological aspects of minor fruits grown in Brazil. *Food Research International*, 44(7), 1658-1670.
- Corral-Aguayo, R.D., Yahia, E.M., Carillo-Lopez, A., & González-Aguilar, G. (2008). Correlation between some nutritional components and the total antioxidant capacity measured with six different assays in eight horticultural crops. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(22), 10498-10504.
- Crecente-Campo, J., Nunes-Damaceno, M., Romero-Rodríguez, M. A., & Vázquez-Oderiz, M. L. (2012). Color, anthocyanin pigment, ascorbic acid and total phenolic compound determination in organic versus conventional strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch, cv Selva). *Journal of Food Composition and Analysis*, 28(1), 23-30.

- Cushnie, T.T., & Lamb, A.J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99-107.
- Del Bubba, M., Giordani, E., Pippucci, L., Cincinelli, A., Checchini, L., & Galvan, P. (2009). Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(7-8), 668-677.
- Espina, L., Somolinos, M., Lorán, S., Conchello, P., García, D., & Pagán, R. (2011). Chemical composition of commercial citrus fruit essential oils and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes. *Food Control*, 22(6), 896-902.
- Fernández, K., & Labra, J. (2013). Simulated digestion of proanthocyanidins in grape skin and seed extracts and the effects of digestion on the angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity. *Food Chemistry*, 139(1-4), 196-202.
- Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I., & Chun, O.K. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 1043-1048.
- Fox, A. J., Del Pozo-Insfran, D., Lee, J. H., Sargent, S. A., & Talcott, S. T. (2005). Ripening-induced chemical and antioxidant changes in bell peppers as affected by harvest maturity and postharvest ethylene exposure. *HortScience*, 40(3), 732-736.
- Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J.M., & Battino, M. (2014). Strawberry and human health: Effects beyond antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(18), 3867-3876.
- Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., & Kader, A.A. (2002). Antioxidant Capacities, Phenolic Compounds, Carotenoids, and Vitamin C Contents of Nectarine, Peach, and Plum Cultivars from California. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4976-4982.
- Gradišar, H., Pristovšek, P., & Jerala, R. (2007). Green Tea Catechins Inhibit Bacterial DNA Gyrase by Interaction with Its ATP Binding Site. *Journal of Medicinal Chemistry*, 50(2), 264-271.
- Hagerman, A.E., & Butler, L.G. (1991). Tannins and lignins. In G.A. Rosenthal, & M.R. Berenbaum. *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites* (Second ed., pp. 355-388). Elsevier.
- Häring, D.A., Suter, D., Amrhein, N., & Lüscher, A. (2007). Biomass allocation is an important determinant of the tannin concentration in growing plants. *Annals of Botany*, 99(1), 111-120.
- Herrera Chale, F.G., Ruiz Ruiz, J.C., Acevedo Fernández, J.J., Betancur Ancona, D.A., & Segura Campos, M.R. (2014). ACE inhibitory, hypotensive and antioxidant peptide fractions from *Mucuna pruriens* proteins. *Process Biochemistry*, 49(10), 1691-1698.
- Hu, K., Dars, A.G., Liu, Q., Xie, B., & Sun, Z. (2018). Phytochemical profiling of the ripening of Chinese mango (*Mangifera indica* L.) cultivars by real-time monitoring using UPLC-ESI-QTOF-MS and its potential benefits as prebiotic ingredients. *Food Chemistry*, 256(1), 171-180.
- Ignant, I., Volf, I., & Popa, V.I. (2011). A critical review of methods for characterization of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- Kchaou, W., Abbes, F., Manzour, R.B., Blecker, C., Attia, H., & Besbes, S. (2016). Phenolic profile, antibacterial and cytotoxic properties of second grade date extract from Tunisian cultivars (*Phoenix dactylifera* L.). *Food Chemistry*, 194(1), 1048-1055.
- Kessy, H.N., Wang, K., Zhao, L., Zhou, M., & Hu, Z. (2018). Enrichment and biotransformation of phenolic compounds from litchi pericarps with angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibition activity. *LWT-Food Science and Technology*, 87, 301-309.
- Kim, D.O., Jeong, S.W., & Lee, C.Y. (2003). Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3), 321-326.

- Kim, H., Moon, J.Y., Kim, H., Lee, D.S., Cho, M., Choi, H.K., & Cho, S. K. (2010). Antioxidant and antiproliferative activities of mango (*Mangifera indica* L.) flesh and peel. *Food Chemistry*, 121(2), 429-436.
- Koleckar, V., Kubikova, K., Rehakova, Z., Kuka, K., Jun, D., Jahodar, L., & Opletal, L. (2008). Condensed and hydrolysable tannins as antioxidants influencing the health. *Medicinal Chemistry*, 8(5), 436-447.
- Kristl, J., Slekovec, M., Tojnko, S., & Unuk, T. (2011). Extractable antioxidants and non-extractable phenolics in the total antioxidant activity of selected plum cultivars (*Prunus domestica* L.): Evolution during on-tree ripening. *Food Chemistry*, 125(1), 29-34.
- Kurz, C., Carle, R., & Schieber, A. (2008). Characterization of cell wall polysaccharide profiles of apricots (*Prunus armeniaca* L.), peaches (*Prunus persica* L.) and pumpkins (*Cucurbita* sp.) for the evaluation of fruit product authenticity. *Food Chemistry*, 106(1), 421-430.
- Lacaille, M.A., Franck, U., & Wagner, H. (2001). Search for potential angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitors from plants. *Phytomedicine*, 8(1), 47-52.
- Landete, J.M. (2012). Updated knowledge about polyphenols: Functions, bioavailability, metabolism, and health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52(10), 936-948.
- Laurent, S. (2017). Antihypertensive drugs Review. *Pharmacological Research*, 124, 116-125.
- Liu, H., Cao, J., & Jiang, W. (2015). Evaluation and comparison of vitamin C, phenolic compounds, antioxidant properties and metal chelating activity of pulp and peel from selected peach cultivars. *LWT-Food Science and Technology*, 63(2), 1042-1048.
- Määttä-Riihinen, K.R., Kamal-Eldin, A., Mattila, P.H., González-Paramás, A.M., & Törrönen, A.R. (2004). Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(14), 4477-4486.
- McDougall, G.J., Kulkarni, N.N., & Stewart, D. (2009). Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase activity *in vitro*. *Food Chemistry*, 115(1), 193-199.
- Mohsen, S.M., & Ammar, A.S. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, 595-598.
- Mokrani, A., & Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, 162(13), 68-76.
- Noratto, G., Porter, W., Byrne, D., & Cisnero-Zevallos, L. (2014). Polyphenolics from peach (*Prunus persica* var. *rich* Lady) inhibit tumor growth and metastasis of MDAMB-435 breast cancer cells *in vivo*. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 25(7), 796-800.
- Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Alvarez, L. (2010). Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin and cyanidin-3-Osambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1), 7-10.
- Oliveira, D.A., Salvador, A.A., Smania Jr, A., Smania, E.F., Maraschin, M., & Ferreira, S.R. (2013). Antimicrobial activity and composition profile of grape (*Vitis vinifera*) pomace extracts obtained by supercritical fluids. *Journal of Biotechnology*, 164(3), 423-432.
- Park, Y.S., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Suhaj, M., Cvikrová, M., & Gorinstein, S. (2011). Comparison of the contents of bioactive compounds and the level of antioxidant activity in different kiwifruit cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7), 963-970.
- Park, Y.S., Namiesnik, J., Vearasilp, K., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Barasch, D., & Gorinstein, S. (2014). Bioactive compounds and the antioxidant capacity in new kiwi fruit Cultivars. *Food Chemistry*, 165, 354-361.
- Prior, R.L., & Gu, L. (2005). Occurrence and biological significance of proanthocyanidins in the American diet. *Phytochemistry*, 66(18), 2264-2280.
- Prior, R.L., & Wu, X. (2013). Diet Antioxidant Capacity Relationships to Oxidative Stress and Health. *American Journal of Biomedical Sciences*, 5(2), 126-139.

- Prior, R.L., & Wu, X. (2013). Diet antioxidant capacity: Relationships to oxidative stress and health. *American Journal of Biomedical Sciences*, 5(2), 126-139.
- Puerta-Gomez, A.F., & Cisneros-Zevallos, L. (2011). Postharvest studies beyond fresh market eating quality: Phytochemical antioxidant changes in peach and plum fruit during ripening and advanced. *Postharvest Biology and Technology*, 60(3), 220-224.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rizwana, H., Al Otibi, F., & Al-Malki, N. (2019). Chemical composition, FTIR studies and antibacterial activity of *Passiflora edulis* f. *edulis* (Fruit). *Journal of Pure & Applied Microbiology*, 13(4), 2489-2498.
- Saidani, F., Giménez, R., Aubert, C., Chalot, G., Betrán, J.A., & Gorgocena, Y. (2017). Phenolic, sugar and acid profiles and the antioxidant composition in the peel and pulp of peach fruits. *Journal of Food Composition and Analysis*, 62, 126-133.
- Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A.M., & Saura-Calixto, F. (2009). Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(52), S310-S329.
- SIAP. (2018, November 30). Anuario de la producción agrícola: Zacatecas Anuario Estadístico. Retrieved from Anuario de la producción agrícola: Zacatecas Anuario Estadístico: http://nube.siap.gob.mx/cierre_agricola/
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Surveswaran, S., Cai, Y.Z., Corke, H., & Sun, M. (2007). Systematic evaluation of natural phenolic antioxidant from 133 Indian medicinal plants. *Food Chemistry*, 102(3), 938-953.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., & Byrne, D. H. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675.
- van Acker, S.A., de Groot, M.J., van den Berg, D.J., Tromp, M.N., den Kelder, G.D.O., van der Vijgh, W.J., & Bast, A. (1996). A quantum chemical explanation of the antioxidant activity of flavonoid. *Chemical Research in Toxicology*, 9(8), 1305-1312.
- Vázquez-Carrillo, M.G., Aparicio-Eusebio, L.A., Salinas-Moreno, Y., Buendía-Gonzalez, M.O., & Santiago-Ramos, D. (2018). Nutraceutical, Physicochemical, and Sensory Properties of Blue Corn polvorones, a Traditional Flour-Based Confectionery. *Plant Foods for Human Nutrition*, 73, 321-327.
- Velderrain-Rodríguez, G.R., Acevedo-Fani, A., González-Aguilar, G.A., & Martín-Belloso, O. (2019). Encapsulation and stability of a phenolic-rich extract from mango peel within water-in-oil-in-water emulsions. *Journal of Functional Foods*, 56, 65-73.
- Wang, L., Saito, M., Tatsumi, E., & LI, L. (2003). Antioxidative and Angiotensin I-Converting Enzyme Inhibitory Activities of Sufu (Fermented Tofu) Extracts. *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, 37(2), 129-132.
- Wang, Y., Chun, O.K., & Song, W.O. (2013). Plasma and dietary antioxidant status as cardiovascular disease risk factors: A review of human studies. *Nutrients*, 5(8), 2969-3004.
- Wanger, A. (2007). Disk diffusion test and gradient methodologies. In R. Schwalbe, L. Steele-Moore, & A. C. Goodwin. *Antimicrobial susceptibility testing protocols* (pp. 53-73). New York: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Weber, D., & Grune, T. (2012). The contribution of beta-carotene to vitamin A supply of humans. *Molecular Nutrition & Food Research*, 56(2), 251-258.
- Wilson, J., Hayes, M., & Carney, B. (2011). Angiotensin-I-converting enzyme and prolyl endopeptidase inhibitory peptides from natural sources with a focus on marine processing by-products. *Food Chemistry*, 129(2), 235-244.

Recibido:
19/julio/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- Wu, D., Kong, Y., Han, C., Chen, J., Hu, L., Jiang, H., & Shen, X. (2008). D-alanine:D-alanine ligase as a new target for the flavonoids quercetin and apigenin. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 32(5), 421-426.
- Xu, B.J., & Chang, S.K. (2007). A Comparative Study on Phenolic Profiles and Antioxidant Activities of Legumes as Affected by Extraction Solvents. *Journal of Food Science*, 72(2), 5159-5166.
- Xu, B.J., Yuan, S.H., & Chang, S.K. (2007). Comparative Analyses of Phenolic Composition, Antioxidant Capacity, and Color of Cool Season Legumes and Other Selected Food Legumes. *Journal of Food Science*, 72(2), S167-S177.
- Zarai, Z., Kadri, A., Chobba, I. B., Mansour, R.B., Bekir, A., Mejdoub, H., & Gharsallah, N. (2011). The *in vitro* evaluation of antibacterial, antifungal and cytotoxic properties of *Marrubium vulgare* L. essential oil grown in Tunisia. *Lipids in Health and Disease*, 10(1), 1-8.

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE ÁRBOLES ENDÉMICOS (*Magnolia* spp.) DE MÉXICO CONTRA LA PLAGA MOSCA DE LA FRUTA Y ESTUDIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR

EVALUATION OF EXTRACTS OF ENDEMIC TREES (*Magnolia* spp.) IN MEXICO AGAINST THE FRUIT FLY PEST AND PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL STUDY

Vásquez-Morales, S.G.; E.A. Alvarez-Vega; D. A. Infante-Rodríguez; J.P. Huchin-Mian y M. Pedraza-Reyes.

EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE ÁRBOLES ENDÉMICOS (*Magnolia* spp.) DE MÉXICO CONTRA LA PLAGA MOSCA DE LA FRUTA Y ESTUDIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR.

EVALUATION OF EXTRACTS OF ENDEMIC TREES (*Magnolia* spp.) IN MEXICO AGAINST THE FRUIT FLY PEST AND PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL STUDY.



EVALUACIÓN DE EXTRACTOS DE ÁRBOLES ENDÉMICOS (*Magnolia* spp.) DE MÉXICO CONTRA LA PLAGA MOSCA DE LA FRUTA Y ESTUDIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR.

EVALUATION OF EXTRACTS OF ENDEMIC TREES (*Magnolia* spp.) IN MEXICO AGAINST THE FRUIT FLY PEST AND PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL STUDY.

Vásquez-Morales, S.G.;
E.A. Alvarez-Vega;
D. A. Infante-Rodríguez;
J.P. Huchin-Mian
y M. Pedraza-Reyes.

EVALUACIÓN DE
EXTRACTOS DE ÁRBOLES
ENDÉMICOS (*Magnolia* spp.)
DE MÉXICO CONTRA LA
PLAGA MOSCA DE LA
FRUTA Y ESTUDIO
FITOQUÍMICO
PRELIMINAR.

EVALUATION OF
EXTRACTS OF ENDEMIC
TREES (*Magnolia* spp.) IN
MEXICO AGAINST THE
FRUIT FLY PEST AND
PRELIMINARY
PHYTOCHEMICAL STUDY.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 167-182. Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.11

S.G. Vásquez-Morales / sg.vasquez@ugto.mx

Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas,
Universidad de Guanajuato, Noria Alta SN, Noria Alta, AP 36050,
Guanajuato, Gto., México.

E.A. Alvarez-Vega

Licenciatura Biología Experimental, División de Ciencias Naturales y Exactas,
Universidad de Guanajuato, Noria Alta SN, Noria Alta, AP 36050,
Guanajuato, Gto., México.

D.A. Infante-Rodríguez

Instituto de Ecología A.C., Red de Ecología Funcional. Carretera Antigua a Coatepec
351, El Haya, AP 91070, Xalapa, Veracruz, México.

J. P. Huchin-Mian

M. Pedraza-Reyes

Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas,
Universidad de Guanajuato, Noria Alta SN, Noria Alta, AP 36050,
Guanajuato, Gto., México.

RESUMEN: La plaga mosca de la fruta, ocasionada por Tefritidos, afecta gravemente a los cultivos frutales en el mundo. El manejo integrado de la plaga incluye la aspersión de insecticidas sintéticos de amplio espectro. Debido a los efectos negativos a largo plazo del uso de insecticidas sintéticos, se han propuesto extractos botánicos como nuevas alternativas ecológicas. En este estudio, se evaluó el potencial insecticida de *Magnolia perezfarrerae*, *M. pugana* y *M. vovidesii* contra *Anastrepha ludens* y *A. obliqua* mediante bioensayos de alimentación en individuos adultos, mezcla de azúcar y extractos crudos de sarcotesta. Se realizaron perfiles químicos cualitativos para explorar la composición de los extractos crudos etanólicos de sarcotesta de cuatro especies de *Magnolia* con efectividad insecticida, mediante cromatografía en capa fina usando siete sistemas de polaridad. Además, se identificaron grupos de metabolitos secundarios mediante análisis cualitativos. La efectividad insecticida de los extractos de *Magnolia* fue mayor al 93% contra *A. ludens* en la primera dilución, por el contrario, la efectividad contra *A. obliqua* fluctuó desde el 66% de *M. perezfarrerae* hasta 92% de *M. vovidesii*. Los extractos de *Magnolia* mostraron una amplia diversidad de compuestos de diferentes polaridades. Además, se detectó la presencia de alcaloides, flavonoides y fenoles en todas las especies de *Magnolia*. Las propiedades insecticidas de *Magnolia* pueden contribuir al manejo integrado de *Anastrepha*.

Palabras clave: bioactividad, metabolitos secundarios, mosca mexicana de la fruta, Pesticidas botánicos.

ABSTRACT: The fruit fly pest caused by Tephritidae severely affects fruit crops in the world. Integrated pest management includes the spraying of synthetic broad-spectrum insecticides. Due to the long-term negative effects of the use of synthetic insecticides,

botanicals extracts have been proposed as new ecological alternatives. In the study, the insecticide potential of *Magnolia perezfarrerae*, *M. pugana* and *M. vovidesii* was tested against *Anastrepha ludens* and *A. obliqua* through feeding bioassays, mixture of sugar and crude extracts of sarcotesta. In addition, qualitative chemical profiles were carried out to explore the composition of insecticide-effectiveness ethanol crude extracts of sarcotesta of four species of *Magnolia*. Qualitative chemical profiles were performed using thin layer chromatography based on seven polarity systems. Moreover, secondary metabolite clusters were identified through qualitative analyses. The insecticide-effectiveness of *Magnolia* extracts was higher than 93% against *A. ludens* in the first dilution, whereas the effectiveness against *A. obliqua* ranged from 66% *M. perezfarrerae* to 92% *M. vovidesii*. The extracts of *Magnolia* showed a wide variety of compounds with different polarity. Furthermore, the presence of alkaloids, flavonoids and phenols was detected in all species of *Magnolia*. The insecticide properties of *Magnolia* can contribute to the integrated management of *Anastrepha*.

Key words: bioactivity, secondary metabolites, mexican fruit fly, botanical pesticides.

INTRODUCTION

The fruit fly pest from the Tephritidae family severely affects fruit crops all around the world. The Tephritids, called true fruit flies, consist of 4,700 species located throughout the temperate, tropical and subtropical regions of the world (Norrbom *et al.*, 2012). There are specifically about 250 species in the Americas which are spread all the way from the south of the United States to the north of Argentina, including the Caribbean islands (Hernández-Ortiz *et al.*, 2010). The genus *Anastrepha* Schiner is endemic to the Americas and four species are of economic and quarantine importance due to their high preferred range for cultivated and wild hosts; *e.g.* *A. ludens*, *A. obliqua*, *A. serpentina* y *A. striata* (Hernández-Ortiz *et al.*, 2010; SENASICA, 2021). Their preferred hosts include up to 330 species belonging to 48 families, including Anacardiaceae, Cucurbitaceae, Myrtaceae, Rosaceae, Rutaceae, and Sapotaceae (Hernández-Ortiz, 1993; Hernández-Ortiz *et al.*, 2010).

The integrated management of the fruit fly pest caused by *Anastrepha* has been implemented since 1992 through the National Program and the National Campaign Against Fruit Flies (NCFE), under an international agreement between Mexico, Guatemala, and the United States (Montoya *et al.*, 2010). The program is based on the implementation of phytosanitary measures to control, suppress, and eradicate fruit flies. The monitoring system consists of trapping and detecting larvae in fruits, and the control methods are based on the collection and destruction of infested fruits (mechanical control), spraying of specific baits (synthetic pesticides mixed with hydrolyzed protein; chemical control), and massive releases of sterile flies (sterile insect technique; autocidal control), and natural enemies in priority zones (biological control) (Miyatake, 2011; Montoya *et al.*, 2010; SENASICA, 2021).

The national fruit fly campaign reported that 52% of Mexican territory was a fly free zone (SENASICA, 2021). In the remaining areas the pest persists, and the use of chemical control continues, based on organophosphate insecticides such as Malathion (2-[[dimethoxyphosphorothioyl]sulfanyl]butanedioate, diethyl), which has a broad-spectrum toxicity (SENASICA, 2019). This synthetic insecticide is highly neurotoxic, and its chronic exposure induces oxidative stress in mammals (Ali & Ibrahim, 2018; Delgado *et al.*, 2006) and morphological anomalies in early stages of amphibians (Krishnamurthy & Smith, 2011). Also, physiological alterations and protein reduction have been reported in fish (Singh *et al.*, 2004), imbalance in the abundance and composition of species in aquatic ecosystems (Smith *et al.*, 2018), as well as resistance in pest insects (Hsu & Feng, 2006; Jyoti *et al.*, 2014; Magaña *et al.*, 2008).

Alternatives such as botanical pesticides have been suggested as a way of complementing integrated pest management and reducing the harmful effects of synthetic pesticides (Diaz-

Fleischer *et al.*, 2017). Botanical pesticides derived from plants have agrochemical potential, because they are selective (*i.e.*, for target insects), biodegradable and harmless to the environment (Amoabeng *et al.*, 2019; Sarkar & Kshirsagar, 2014). In the case of fruit fly pest, various studies have focused on assessing insecticides botanicals. The ethanolic extracts of *Annona mucosa* had an 80% mortality against *Anastrepha fraterculus* adults a LC_{50} 728.36 mg L^{-1} (Stupp *et al.*, 2020). Similarly, the extracts (MeOH-PE) of the fruit of *Citrus aurantium* had a 76% effectiveness in olive fruit fly adults (*Bactrocera oleae*) (Siskos *et al.*, 2009).

The Magnoliaceae family is known worldwide for having bioactive compounds, secondary metabolites, with applications in the pharmaceutical, biotechnological, and agri-food industries (Chen *et al.*, 2019; Lee *et al.*, 2011; Poivre & Duez, 2017). Several species of this family have broad-spectrum inhibitory activity against viruses (Fang *et al.*, 2015), bacteria (Jacobo-Salcedo *et al.*, 2011; B. Wu *et al.*, 2018), human pathogenic fungi (Bang *et al.*, 2000), fungi and plant pathogens (Lin *et al.*, 2019; H. Wu *et al.*, 2018), nematodes (Hong *et al.*, 2007), and arthropods (Kelm *et al.*, 1997; Miyazawa *et al.*, 1994; Yang *et al.*, 2015).

It has been shown that several species of *Magnolia* have bioinsecticidal effects on pest insects. The lignans of the *M. fargesii* flowers, which inhibit the larval growth of *Drosophila melanogaster*, stand out among the reported compounds (Miyazawa *et al.*, 1994). Active and isolated compounds (Costunolide, geranial, methyl and isomethyl eugenol, neral, partenolide, and trans-anethole) from different vegetative structures of *Magnolia salicifolia*, induced 100% larval mortality of the *Aedes aegypti* (Kelm *et al.*, 1997). In a similar way, crude ethanolic extracts from different vegetative structures of *M. dealbata*, and *M. schiedeana*, had insecticidal potential against the *Anastrepha ludens* fruit fly. In particular, sarcotesta showed the highest insecticidal potential, which reached 96% and 64%, respectively (Flores-Estévez *et al.*, 2013; S. Vásquez-Morales *et al.*, 2015). Therefore, it is essential to assess the insecticidal effect of a greater number of *Magnolia* species and to expand insecticide bioassays for a greater number of *Anastrepha* species. The objectives of the present study were: 1) To determine the insecticide-effectiveness of crude ethanolic extracts of sarcotesta of *Magnolia perezfarrerae*, *M. pugana* and *M. vovidesii* against adults of *Anastrepha ludens* and *A. obliqua*, 2) To identify the presence of secondary metabolite clusters through qualitative chemical analyses. To this aim, we focused on a system of experimentation of pest feeding assay to based extracts crude of sarcotesta of *Magnolia*, in addition identify the groups of secondary metabolites using thins layer chromatography.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

Four endemic *Magnolia* species of Mexico were analyzed. *Magnolia perezfarrerae* is naturally distributed in state of Chiapas, *M. pugana* in state of Jalisco, *M. schiedeana* (Schltdl.) and *M. vovidesii* in state of Veracruz. Magnolias are evergreen trees, except *M. vovidesii* which is a deciduous tree. The tree height varies between 15 to 25 m, it has a rough cracked greyish bark covered with lichens; glabrous, elliptic, oblong or obovate leaves, with pubescence only on the underside. Flowers white or creamy; in particular, *M. vovidesii* have pink dots inside them, during the first hours of their opening. The fruit is a dehiscent ellipsoid polyfollicle, containing between 15 to 115 seeds, depending on the species. The physical and climate features of the collection sites are described in Table 1. The *M. perezfarrerae* was determinate in voucher No. 23948 of herbarium CH – El Colegio de la Frontera Sur. *M. pugana* and *M. vovidesii* in process of determination in herbarium XAL – Instituto de Ecología A.C. Further information on taxonomic aspects and collection sites are described in previous research (S. G. Vásquez-Morales *et al.*, 2017; S. G. Vásquez-Morales & Ramírez-Marcial, 2019; Vázquez-García *et al.*, 2002).

Table 1. Characteristics of collection sites in Mexico.

Species	<i>M. perezfarrerae</i>	<i>M. pugana</i>	<i>M. schiedeana</i> ^b	<i>M. vovidesii</i>
Polyfollicles Collection	March 3rd, 2018	March 19th, 2018 and May 17th, 2019	July 10th, 2018	August 17th, 2018
Sites (Municipality)	Ocuilapa de Juárez (Ocozocoautla de Espinosa)	CUCBA ^a (Zapopan)	La Martinica (Banderilla)	Coyopolan (Ixhuacán de los Reyes)
Latitude (N)	16°50' 57''	20° 44' 51''	19° 34' 55''	19° 21' 59''
Longitude (W)	93° 24' 35''	103° 30' 46''	96°56' 55''	97°04' 05''
Altitude (masl)	959	1 670	1 451	1 570
Mean annual temperature (°C)	22	23.5	18	18
Mean annual rainfall (mm)	1 000	906	1 451	1 807

^aCentro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (CUCBA) of University of Guadalajara.

^bDue to the shortage of *M. schiedeana* seeds, only qualitative chemical tests were assessed.

Laboratory insects

Sterile laboratory flies *Anastrepha ludens* (Loew) and *Anastrepha obliqua* (Macquart), from 6 to 15 days of age were used in the bioassays. Flies are mass-produced at Planta MoscaFrut in Metapa de Domínguez, Chiapas, Mexico. These flies are irradiated with Cobalt 60 isotopes at a dose rate of 70 Gy/min (Montoya *et al.*, 2010). Later, they are transferred by air, in pupal stage. The pupae were kept in wooden cages (approximately 25 g on cage) and covered with a cotton mesh of about 900 m³, under laboratory conditions, that is, at a temperature of 25 °C ± 1 °C, a relative humidity of 70 ± 30% and a 12-h photoperiod. *Ad libitum*, they were given purified water (in a container with cotton to prevent them from drowning) and food (table sugar) until they underwent bioassays.

Crude extracts of *Magnolia*

The seeds of each *Magnolia* species were extracted from the polyfollicles; then, their sarcotesta (red outer seedcoat) was manually removed. The sarcotesta of each species was placed separately in paper bags and kept for 72 h in a drying oven (Mermmet Incubador IN30; Germany) at 40 °C for total dehydration. Subsequently, it was grinded in a mortar until pulverization. The preparation of each *Magnolia* extract consisted of 50 g of pulverized sarcotesta and 250 mL of ethanol 96% (1:5 w.v⁻¹) were added. For each species, six crude *Magnolia* extracts were prepared and cold-stored (4 °C) for 72 h. Afterwards, the solvent was removed from each extract and the solvent volume was concentrated in a rotary evaporator (Buchi, Model R-300; Switzerland), set at 40 °C, with a 1.8 m³/h final vacuum (absolute) and a 5 ± 2 mbar vacuum capacity, until a final extract volume of 10 mL to 22.5 mL was obtained, with an interval of yielder of 2 mg/mL⁻¹ to 4.5 mg/mL⁻¹.

Following the same method, six crude extracts of stem, leaves, and flowers of *Chrysanthemum grandiflorum* Dum. Cours., were obtained. These extracts were used as positive control for their insecticide activity as they contain pyrethroids (Haouas *et al.*, 2012). The *C. grandiflorum* was purchased at “Mercado Embajadoras, Guanajuato City, Mexico”. Concentrated crude extracts of *Magnolia* and *Chrysanthemum* were stored at 4 °C, in the dark, until evaluation.

Treatments and bioassays

The experimental units were cages (wooden structures covered with cotton meshes of approximately 900 m³) with fifty adult flies (25 females and 25 males) of *Anastrepha ludens* and *A. obliqua*. To ensure an adequate intake of the treatments, the flies were deprived of food (table sugar) and kept hydrated with purified water 24 h before each bioassay. For each *Magnolia* species, reduced crude extracts of sarcotesta were analyzed in three dilutions (0.2, 0.02, 0.002 mg/g) in three different cohorts of each species of *Anastrepha*. Each bioassay

assessed five treatments: 1) 1 g of table sugar mixed with 2 mL of ethanol solution 96% (Negative Control), 2) 1 g of table sugar mixed with 2 mL of reduced crude extract of *Chrysanthemum grandiflorum* at 0.2 mg/g (Positive Control), 3) 1 g of table sugar mixed with 2 mL of reduced crude extract of sarcotesta of *Magnolia* at 0.2 mg/g (Dilution 1), 4) 1 g of table sugar mixed with 2 mL of reduced crude extract of sarcotesta of *Magnolia* at 0.02 mg/g (Dilution 2), and 5) 1 g of table sugar mixed with 2 mL of reduced crude extract of sarcotesta of *Magnolia* at 0.002 mg/g (Dilution 3). The treatments were applied on 0.07 g of cotton to reduce adherence and facilitate its consumption. For each *Magnolia* species, three bioassays were performed, on *A. ludens* and *A. obliqua*, with five replicates per treatment. For each bioassay, daily mortality was recorded for a period of five consecutive days.

Qualitative chemical profiles determination using TLC

Thin layer chromatography (TLC) experiments were performed using the following polarity systems (v/v): i) hexane (100%), ii) hexane-acetonitrile (75:25%), iii) hexane-acetonitrile (50:50%), iv) ethyl acetate (100%), v) acetonitrile-methanol (50:50%), vi) ethanol (100%), vii) methanol (100%). To this end, 1 mL of each crude extract of sarcotesta (*Magnolia perezfarrerae*, *M. vovidesii*, *M. pugana* and *M. schiedeana*) was dissolved in 1 mL of each solvent tested, and 10 µL of each sample was applied on silica gel aluminum TLC plates, coated with fluorescent indicator F254 (Merck KEGaA, 64271; Darmstadt Germany). The plates were developed in the different solvents systems for 10 minutes and finally were revealed using *p*-anisaldehyde (98%). The retention factor (Rf) was estimated for each visible spot, using the equation $Rf = dR/dFM$, where *dR* is the distance travelled by the extract and *dFM* is the distance travelled by the solvent.

For each qualitative test, 1 mL samples of ethanolic extracts of sarcotesta were used. Each test was performed in triplicate according to standard procedure (Domínguez, 1973; Zhang *et al.*, 2019). In these assays, alkaloids, coumarins, flavonoids, phenols, saponins, steroids and terpenes were screened (Table 2).

Table 2. Methodology used to identify secondary metabolites groups by qualitative test.

Group	Methodology	Positive test	References
Alkaloids	Dragendorff's reagent of Merck	Turbidity or precipitate formation	Domínguez, 1973 Mora-Arango <i>et al.</i> , 2012
Coumarins	Standard procedure with sodium hydroxide	Green, red, or yellow fluorescence	Domínguez, 1973 Mora-Arango <i>et al.</i> , 2012
Flavonoids	Shinoda's test	Orange, pink, red, or violet coloration	Mora-Arango <i>et al.</i> , 2012 Zhang <i>et al.</i> , 2019
Phenols	Standard procedure with iron chloride	Black, blue, or green coloration	Domínguez, 1973 Mora-Arango <i>et al.</i> , 2012 Zhang <i>et al.</i> , 2019
Saponins	Standard procedure with distilled water	Abundant foam was formed and remained stable at least for 5 min	Domínguez, 1973 Mora-Arango <i>et al.</i> , 2012 Zhang <i>et al.</i> , 2019
Steroids and terpenes	Standard procedure with acetic anhydride and sulfuric acid	Blue, green, red, or violet coloration	Domínguez, 1973 Mora-Arango <i>et al.</i> , 2012 Zhang <i>et al.</i> , 2019
Tannins	Gelatin-salt reagent	Turbidity or precipitate formation	Domínguez, 1973 Mora-Arango <i>et al.</i> , 2012 Zhang <i>et al.</i> , 2019

Statistical Analysis

A completely randomized design was used in all bioassays. The data was analyzed with an analysis of variance (ANOVA, one-way) followed by a LS Means difference Tukey HSD post-hoc test in order to find the effect of the treatments in comparison with the controls in R package Version 3.3.1. (R Core Team, 2013). The natural mortality rate was corrected with the modified formula of Abbott $CM = (1 - (X - Y)/(50 - Z)) \times 100$ (Abbott, 1925), where CM is the corrected mortality expressed as a percentage, X is the number of flies per experimental unit, Y is the average number of flies killed during treatment, and Z is the average number of dead flies in the negative control, which were later converted to square root. The survival analysis was performed under the Kaplan-Meier method followed by pairwise comparisons using Log-Rank test, in an R package Version 3.3.1 (R Core Team, 2013).

RESULTS

The ethanolic crude extracts of *Magnolia* presented a high mortality against *Anastrepha ludens* and *A. obliqua* adults. More precisely, the extract of sarcotesta of *M. perezfarrerae*, in the first dilution (0.2 mg/g), had an insecticide effectiveness of 95% against *A. ludens* ($F= 12.24$, $df= 3$, $P<0.05$) and of 66% against *A. obliqua* ($F= 4.88$, $df= 3$, $P=0.03$). These results did not show a significant difference with those shown by the extract prepared with *Chrysanthemum grandiflorum* (Table 3). Regarding the ethanolic extract of *M. pugana*, in the first dilution (0.2 mg/g), there was an effectiveness of 93% against *A. ludens* ($F= 1.65$, $df= 3$, $P=0.25$) and of 91% against *A. obliqua* with no significant difference between treatments ($F= 0.80$, $df= 3$, $P=0.52$). Regarding the extract from *M. vovidesii*, in this study it was only tested against *A. obliqua* and showed an effectiveness of 92% in the first dilution (0.2 mg/g) with no significant difference with the extract of *C. grandiflorum* ($F= 13.75$, $df= 3$, $P<0.05$; Table 3).

Table 3. Insecticide-effectiveness of crude extracts of sarcotesta of *Magnolia* against *Anastrepha* adults in three dilutions, 0.2 mg/g (D1), 0.02 mg/g (D2), and 0.002 mg/g (D3) with negative (NC= Ethanol 96%) and positive control (PC= *Chrysanthemum grandiflorum*). Mortality percentage and Abbott indices. Active extracts are presented in bold. Mean \pm SD. Bars that do not share the same letter are significantly different from controls ($P<0.05$).

Treatments	<i>A. ludens</i>		<i>A. obliqua</i>	
	% mortality	Abbott index	% mortality	Abbott index
<i>M. perezfarrerae</i>				
NC	36.26 \pm 20.5c		44.33 \pm 10.8b	
PC	97.86 \pm 3a	97.37 \pm 3.4a	68.8 \pm 39.3a	54.87 \pm 48.3ab
D1	97.6 \pm 1a	95.69 \pm 2.5a	82.26 \pm 11.4a	66.09 \pm 24.2a
D2	67.6 \pm 16.4b	48.92 \pm 24.7ab	74.93 \pm 10.3a	54.07 \pm 15.7ab
D3	40.66 \pm 24.4c	14.32 \pm 15.2b	34 \pm 13.2b	0 \pm 0b
<i>M. pugana</i>				
NC	33.86 \pm 11.5b		35.46 \pm 10.5c	
PC	97.6 \pm 2.8a	93.91 \pm 8a	73.6 \pm 43.3ab	65.01 \pm 56.3a
D1	95.6 \pm 5.1a	93.73 \pm 7.5a	95.06 \pm 5.9a	91.74 \pm 10.8a
D2	63.6 \pm 31.2b	44.62 \pm 49.1a	78.8 \pm 23.9ab	63.3 \pm 43.0a
D3	66.4 \pm 25.3b	44.12 \pm 46.7a	60.8 \pm 29.8bc	36.10 \pm 50.0a
<i>M. vovidesii</i>				
NC			35.86 \pm 2.2c	
PC			98.26 \pm 1.8a	97.31 \pm 2.7a
D1			95.06 \pm 3.2a	92.26 \pm 5.1a
D2			92.13 \pm 7.5a	87.83 \pm 11.3a
D3			55.73 \pm 10.2b	30.53 \pm 18.7b

The Kaplan-Meier survival analysis demonstrated that crude extracts of *Magnolia* have a high insecticide-effectiveness from day two to five days of exposure and that there is a significant difference between treatments in *A. ludens* (*M. perezfarrerae* $P < 0.05$; *M. pugana* $P < 0.05$), and *A. obliqua* (*M. perezfarrerae* $P < 0.05$; *M. pugana* $P < 0.05$; *M. vovidesii* $P < 0.05$) (Fig. S1). It is worth mentioning that the extracts of *M. perezfarrerae* and *M. pugana* in the first dilution (D1) showed lower survival of *A. obliqua* in comparison with *C. grandiflorum* (CP; Fig. S1A, B).

TLC profiling of *Magnolia* extract in the different solvent systems indicated the presence of diverse types of phytochemicals as a complex matrix. In general, the number of spots found in some of the mean polarity solvents was more varied than those spots observed in the low polar and polar solvent systems (Fig. 1).

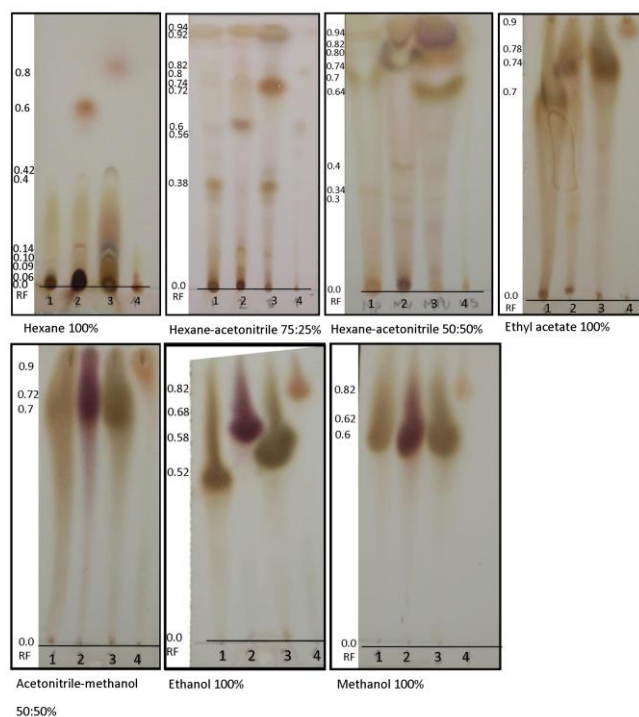


Fig. 1. Thin layer chromatography (TLC), revealed with p-anisaldehyde 98 %, of crude extracts of sarcotesta of *Magnolia* in seven solvent systems. *M. perezfarrerae* (1), *M. vovidesii* (2), *M. pugana* (3) and *M. schiedeana* (4). The distance travelled by the compound on the plate (Rf).

We observed that diverse phytochemicals on samples traveled different distances up the TLC plate depending on the solvent system chosen. The retention factors (Rf) for each solvent system are detailed in Table S1, and solvent systems are sorted in ascending order. Variations in Rf values of the phytochemicals reflect an idea about their polarity. For example, compounds with high Rf values in less polar solvent have low polarity and with fewer Rf values have high polarity. On the TLC plate using hexane (100%) as the mobile phase was observed a good separation of low polarity compounds only for *M. vovidesii* (Rf=0.6) and *M. pugana* (Rf= 0.8) extracts.

In this study, sarcotesta extracts of the four *Magnolia* species present a greater amount of compounds of medium polarity. A solvent combination such as hexane-acetonitrile (75:25%) and hexane-acetonitrile (50:50%) were good solvent systems that moves different compounds of the mixture off the baseline compared to Ethyl acetate and Acetonitrile-methanol (50:50%).

Using hexane-acetonitrile (75:25%) were identified two compounds in *M. perezfarrerae* (Rf= 0.38, 0.92), in *M. vovidesii* were identified four compounds (Rf= 0.60, 0.74, 0.82, 0.94), in *M. pugana* were identified three compounds (Rf= 0.38, 0.72, 0.92), and were identified two compounds in *M. schiedeana* (Rf= 0.56, 0.80).

Using hexane-acetonitrile (50:50%) were identified three compounds in *M. perezfarrerae* (Rf= 0.34, 0.70, 0.94), in *M. vovidesii* were identified four compounds (Rf=0.30, 0.40, 0.74, 0.82), in *M. pugana* were identified four compounds (Rf= 0.30, 0.64, 0.74, 0.80), and were identified two compounds in *M. schiedeana* (Rf= 0.60, 0.82).

On the other hand, in the mobile phases of higher polarity with solvents such as ethanol and methanol, we do not observe a good separation of compounds that migrated up the TLC plate, and some of them have similar Rf values. This information will drive future experiments in a selection of the appropriate solvent system for further separation, isolation, and identification of compounds from these plant extracts of *Magnolia* spp.

For the first time, the presence of alkaloids, flavonoids, and phenols in the four species of *Magnolia* endemic to Mexico is reported on qualitative phytochemical analyses. On the contrary, the tannin test was negative in all species. Extracts of *M. perezfarrerae* and *M. pugana* showed a high content of alkaloids, steroids, and terpenes. A medium amount of the three metabolites was detected in *M. vovidesii*. A low alkaloid content was detected in *M. schiedeana*; however, the test for steroids and terpenes was negative. A low content of coumarins, which were absent in the other analyzed plant species, was detected in the extracts of *M. perezfarrerae* and *M. pugana*. A high flavonoid content was found in *M. pugana*, a medium concentration in *M. vovidesii* and *M. schiedeana*, and low concentration in *M. perezfarrerae*. High levels of phenolic compounds were found in *M. schiedeana*, a medium amount in *M. perezfarrerae*, and a low amount in species of *M. pugana* and *M. vovidesii*. The test for saponins was positive only in extracts of *M. perezfarrerae*, but a low content of these compounds was found (Table 4).

Table 4. Qualitative analysis of secondary metabolites in ethanolic extracts of sarcotesta of *Magnolia*. Symbols (+), (++) , (+++), indicate a low, medium, or high content or the absence (-) of this type of metabolites.

Species	Alkaloids	Coumarins	Flavonoids	Phenols	Tannins	Saponins	Steroids and terpenes
<i>M. perezfarrerae</i>	+++	+	+	++	-	+	+++
<i>M. pugana</i>	+++	+	+++	+	-	-	+++
<i>M. vovidesii</i>	++	-	++	+	-	-	++
<i>M. schiedeana</i>	+	-	++	+++	-	-	-

DISCUSSION

Magnolias have a high insecticide potential against Tephritidae. Among botanical pesticides there is a wide range of effectiveness that is determined by the botanical species, its vegetative structures, and the target pest species (Haouas *et al.*, 2012; Hernández-Carlos & Gamboa-Angulo, 2019). In this study, it was observed that extracts of sarcotesta of *M. perezfarrerae* and *M. pugana* had more than 93% of insecticide-effectiveness against *A. ludens* and up to 91% against *A. obliqua*. This corresponds to the effectiveness shown by other species of Magnolias located in Mexican territory. In a preliminary study the insecticidal potential of *M. dealbata*

(currently *M. vovidesii*) against *A. ludens* adults was recorded, with an effectiveness range of 19% to 96%, dry sarcotesta manifested itself as the vegetative structure with the highest effectiveness (Flores-Estévez *et al.*, 2013). Likewise, the vegetative structures of *M. schiedeana* showed an effectiveness of 0.08 % for the flower and up to 64 % for the sarcotesta of its seeds against *A. ludens* adults (S. Vásquez-Morales *et al.*, 2015).

Magnolias are known to have secondary metabolites with multiple biological effects (Lee *et al.*, 2011; Sarker *et al.*, 2002). This study confirmed qualitative that the assessed endemic species of Mexico contained alkaloids, flavonoids, phenols, and steroids or terpenes, consistent with chemical profiles reported for the Magnoliaceae family (Sánchez-Velásquez *et al.*, 2016; Sarker *et al.*, 2002). For example, the bark of *M. officinalis* has been reported to be a rich source of alkaloids (Yan *et al.*, 2013), and the seeds of *M. grandiflora* contain alkaloids, saponins, and terpenes (Thakur & Sidhu, 2013). It is interesting to mention that *M. perezfarrerae*, *M. pugana* and *M. vovidesii* stood out for their high toxicity against fruit flies, *Anastrepha* spp; *M. perezfarrerae* distinguished itself for its high content of alkaloids, steroids, and terpenes, whereas *M. pugana* and *M. vovidesii* stood out for their high content of alkaloids, steroids, terpenes, and flavonoids (Table 4).

In nature terpenes are important compounds for plant defense mechanisms against herbivores and it has been suggested that they can be developed as biopesticides (Isman, 2000). Besides their effect on Diptera such as mosquitoes (Maheswaran & Ignacimuthu, 2012) and houseflies (Rossi & Palacios, 2013) has been reported. Several alkaloids have been reported as highly toxic to insects due to their effect on acetylcholinesterase receptors and sodium channels (Albuquerque *et al.*, 2009; Crossthwaite *et al.*, 2017). Our results preliminary suggest that the metabolites groups identified in the assayed Magnolias may contribute to the insecticidal effects reported for the fruit fly; nevertheless, studies of structure elucidation and chemical quantification of the major compounds in the extracts of sarcotesta of *Magnolia* spp are required.

Likewise, plants produce phenolic and flavonoid compounds as response mechanisms against herbivorous insects and plant pathogens (Ahmed *et al.*, 2019; Bhattacharya *et al.*, 2010). Polyphenolic compounds derived from the phenylpropanoid pathway, such as lignans, honokiol and magnolol, are the main components of *Magnolia* species; they possess antiviral (Amblard *et al.*, 2006), antibacterial (Jacobó-Salcedo *et al.*, 2011; B. Wu *et al.*, 2018), fungicide (Chen *et al.*, 2019) and insecticide properties (Wang *et al.*, 2019; Yang *et al.*, 2015). Honokiol, magnolol, 5-arylbenzofuran and their derivatives showed insecticidal activity against the black bean aphid (*Aphis fabae*), the fall webworm (*Hyphantria cunea*), the moth (*Mythimna separata*), and the swallowtail butterfly (*Papilio palamedes* y *P. troilus*) (Lin *et al.*, 2019; Nitao *et al.*, 1992). Likewise, the active compounds of *M. denudata* seeds (palmitic acid, linoleic acid and honokiol) showed potent larvicidal effects in *Culex pipiens pallens* y *Aedes aegypti* (Wang *et al.*, 2019).

Alonso-Castro *et al.*, (2014) determined the presence of honokiol and magnolol in the seeds of *M. dealbata* (currently *M. vovidesii*), so it can be inferred that the ethanolic extracts of sarcotesta of *M. vovidesii*, used in this study, contain these active insecticidal compounds, because the seeds come from the same location (Table 1). In addition, phenylpropanoid (iso-methyl eugenol) and sesquiterpene lactone (Costunolide) were isolated from hexane extracts of mature fruits of *M. salicifolia*, both compounds have insecticide activity against *Aedes aegypti*. Iso-methyl eugenol and costunolide have 0.13 and 0.14 Rf, respectively, in TLC with hexane (Kelm *et al.*, 1997), hence we can extrapolate that both compounds or their derivatives may be present in the sarcotesta of *M. vovidesii* and *M. pugana* species (Fig. 1).

Several botanical and synthetic insecticides are inhibitors of acetylcholinesterase, an enzyme that inactivates the neurotransmitter excitation of acetylcholine during synapses, which leads to hyperexcitation in the insect (Hernández-Carlos & Gamboa-Angulo, 2019). It was

demonstrated that the magnaldehyde B isolated from the bark of *M. officinalis* has a potent inhibitory activity against acetylcholinesterase at IC₅₀ values of 12.63 ± 0.51 (Zhang *et al.*, 2019). Likewise, guaiacol and caffeic acid (structurally related phenol compounds of honokiol) inhibit acetylcholinesterase in *Aedes aegypti* larvae and those treated with honokiol and magnolol showed spots all over their bodies due to damage and rupture of the middle intestine with no nucleus cell organelles and severely damaged mitochondria and plasma organelles with indiscernible appearances (Nitao *et al.*, 1992).

It has been reported that the highest impact of the pest is caused by adult insects, especially females who oviposit their eggs on the fruits (Hernández-Ortiz, 1993; Montoya *et al.*, 2010). However, the control of *A. ludens* flies at third-instar larval was also studied using the aqueous extract of *Annona lutescens* stem, obtaining a 95% effectiveness at 72 h of exposure (González-Esquinca *et al.*, 2012).

CONCLUSIONS

Our study confirms the insecticide effectiveness of extracts of sarcotesta of *M. perezfarrerae*, *M. pugana* and *M. vovidesii* species against *Anastrepha ludens* and *A. obliqua* fruit fly species. The three *Magnolia* spp investigated showed differences in their phytochemical profile. The insecticide properties of *Magnolia* can contribute to the integrated management of Tephritids.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was supported by the Programa para el Desarrollo Profesional Docente (PRODEP, Folio UGTO-PTC-677), as well the second author received a scholarship for professional studies. The authors would like to thank Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) and Programa Nacional de Mosca de la Fruta, for its support in the availability and shipment of flies. We thank PhD. Miguel Ángel Muñiz Castro for his help in collecting the polyfollicles of *M. pugana* in CUCBA of University of Guadalajara. Also, our thanks to many students of social service of University of Guanajuato. We thank PhD. Virginia Flores-Morales and two reviews anonymous for the comments and suggestions that enriched this work.

LITERATURE CITED

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2), 265–267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Ahmed, M., Sikandar, A., Iqbal, M. F., Javeed, A., Ji, M., Peiwen, Q., Liu, Y., & Gu, Z. (2019). Phytochemical screening, Total phenolics and Flavonoids content and Antioxidant Activities of *Citrullus colocynthis* L. and *Cannabis sativa* L. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17, 6961–6979. https://doi.org/10.15666/aecer/1703_69616979
- Albuquerque, E. X., Pereira, E. F. R., Alkondon, M., & Rogers, S. W. (2009). Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiological Reviews*, 89(1), 73–120. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2008>
- Ali, R. I., & Ibrahim, M. A. (2018). Malathion induced testicular toxicity and oxidative damage in male mice: the protective effect of curcumin. *Egyptian Journal of Forensic Sciences*, 8(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s41935-018-0099-x>
- Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., García-Regalado, A., González-Sánchez, I., Cerbón, M. A., & García-Carrancá, A. (2014). *Magnolia dealbata* seeds extract exert cytotoxic and chemopreventive effects on MDA-MB231 breast cancer cells. *Pharmaceutical Biology*, 52(5), 621–627. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.859160>

- Amblard, F., Delinsky, D., Arbiser, J. L., & Schinazi, R. F. (2006). Facile purification of honokiol and its antiviral and cytotoxic properties. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(11), 3426–3427. <https://doi.org/10.1021/jm060268m>
- Amoabeng, B. W., Johnson, A. C., & Gurr, G. M. (2019). Natural enemy enhancement and botanical insecticide source: a review of dual use companion plants. *Applied Entomology and Zoology*, 54(1), 1–19. <https://doi.org/10.1007/s13355-018-00602-0>
- Bang, K. H., Kim, Y. K., Min, B. S., Na, M. K., Rhee, Y. H., Lee, J. P., & Bae, K. H. (2000). Antifungal activity of magnolol and honokiol. *Archives of Pharmacal Research*, 23(1), 46–49. <https://doi.org/10.1007/BF02976465>
- Bhattacharya, A., Sood, P., & Citovsky, V. (2010). The roles of plant phenolics in defence and communication during *Agrobacterium* and *Rhizobium* infection. *Molecular Plant Pathology*, no-no. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00625.x>
- Chen, Y.-H., Lu, M.-H., Guo, D.-S., Zhai, Y.-Y., Miao, D., Yue, J.-Y., Yuan, C.-H., Zhao, M.-M., & An, D.-R. (2019). Antifungal effect of magnolol and honokiol from *Magnolia officinalis* on *Alternaria alternata* causing Tobacco brown spot. *Molecules*, 24(11), 2140. <https://doi.org/10.3390/molecules24112140>
- Crossthwaite, A. J., Bigot, A., Camblin, P., Goodchild, J., Lind, R. J., Slater, R., & Maienfisch, P. (2017). The invertebrate pharmacology of insecticides acting at nicotinic acetylcholine receptors. *Journal of Pesticide Science*, 42(3), 67–83. <https://doi.org/10.1584/jpestics.D17-019>
- Delgado, E. H. B., Streck, E. L., Quevedo, J. L., & Dal-Pizzol, F. (2006). Mitochondrial respiratory dysfunction and oxidative stress after chronic malathion exposure. *Neurochemical Research*, 31(8), 1021–1025. <https://doi.org/10.1007/s11064-006-9111-1>
- Díaz-Fleischer, F., Pérez-Staples, D., Cabrera-Mireles, H., Montoya, P., & Liedo, P. (2017). Novel insecticides and bait stations for the control of *Anastrepha* fruit flies in mango orchards. *Journal of Pest Science*, 90(3), 865–872. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0834-3>
- Domínguez, X. A. (1973). Métodos de investigación fitoquímica (4ta edición). Editorial Limusa.
- Fang, C.-Y., Chen, S.-J., Wu, H.-N., Ping, Y.-H., Lin, C.-Y., Shiu, D., Chen, C.-L., Lee, Y.-R., & Huang, K.-J. (2015). Honokiol, a lignan biphenol derived from the magnolia tree, inhibits Dengue Virus Type 2 Infection. *Viruses*, 7(9), 4894–4910. <https://doi.org/10.3390/v7092852>
- Flores-Estévez, N., Vasquez-Morales, S. G., Cano-Medina, T., Sánchez-Velásquez, L. R., Noa-Carrazana, J. C., & Díaz-Fleischer, F. (2013). Insecticidal activity of raw ethanolic extracts from *Magnolia dealbata* Zucc on a tephritid pest. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 48(7), 582–586. <https://doi.org/10.1080/03601234.2013.774933>
- González-Esquinca, A. R., Luna Cazáres, L. M., Schlie Guzmán, M. A., Chacón C., I. D. la C., Laguna Hernández, G., Flores Breceda, S., & Montoya Gerardo, P. (2012). In vitro larvicidal evaluation of *Annona muricata* L., *A. diversifolia* Saff. and *A. lutescens* Saff. extracts against *Anastrepha ludens* larvae (Diptera, Tephritidae). *Interiencia*, 37(4), 284–289. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33922748008>
- Haouas, D., Cioni, P. L., ben Halima-Kamel, M., Flamini, G., & ben Hamouda, M. H. (2012). Chemical composition and bioactivities of three *Chrysanthemum* essential oils against *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Pest Science*, 85(3), 367–379. <https://doi.org/10.1007/s10340-012-0420-7>
- Hernández-Carlos, B., & Gamboa-Angulo, M. (2019). Insecticidal and nematocidal contributions of mexican flora in the search for safer biopesticides. *Molecules*, 24(5), 897. <https://doi.org/10.3390/molecules24050897>
- Hernández-Ortiz, V. (1993). Taxonomy, distribution, and natural host plants of *Anastrepha* fruit flies in Mexico. In *Fruit Flies* (pp. 31–34). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-2278-9_6

- Hernández-Ortiz, V., Guillén-Aguilar, J., & López, L. (2010). Taxonomía e identificación de moscas de la fruta de importancia económica en América. In *Moscas de la fruta: Fundamentos y procedimientos para su manejo* (pp. 49–80). S y G editores.
- Hong, L., Li, G., Zhou, W., Wang, X., & Zhang, K. (2007). Screening and isolation of a nematocidal sesquiterpene from *Magnolia grandiflora* L. *Pest Management Science*, 63(3), 301–305. <https://doi.org/10.1002/ps.1337>
- Hsu, J., & Feng, H. (2006). Development of resistance to Spinosad in oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) in laboratory selection and cross-resistance. *Journal of Economic Entomology*, 99(3), 931–936. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-99.3.931>
- Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8–10), 603–608. [https://doi.org/10.1016/S0261-2194\(00\)00079-X](https://doi.org/10.1016/S0261-2194(00)00079-X)
- Jacobo-Salcedo, M. del R., Gonzalez-Espindola, L. A., Alonso-Castro, A. J., Gonzalez-Martinez, M. del R., Domínguez, F., & Garcia-Carranca, A. (2011). Antimicrobial activity and cytotoxic effects of *Magnolia dealbata* and its active compounds. *Natural Product Communications*, 6(8), 1934578X1100600. <https://doi.org/10.1177/1934578X1100600818>
- Jyoti, Singh, N. K., Singh, H., & Rath, S. S. (2014). Malathion resistance in *Rhipicephalus* (Boophilus) *microplus* from Ludhiana district, Punjab. *Journal of Parasitic Diseases*, 38(4), 343–346. <https://doi.org/10.1007/s12639-013-0322-5>
- Kelm, M. A., Nair, M. G., & Schutzki, R. A. (1997). Mosquitocidal compounds from *Magnolia salicifolia*. *International Journal of Pharmacognosy*, 35(2), 84–90. <https://doi.org/10.1076/phbi.35.2.84.13279>
- Krishnamurthy, S. v., & Smith, G. R. (2011). Combined effects of malathion and nitrate on early growth, abnormalities, and mortality of wood frog (*Rana sylvatica*) tadpoles. *Ecotoxicology*, 20(6), 1361–1367. <https://doi.org/10.1007/s10646-011-0692-3>
- Lee, Y.-J., Lee, Y. M., Lee, C.-K., Jung, J. K., Han, S. B., & Hong, J. T. (2011). Therapeutic applications of compounds in the Magnolia family. *Pharmacology & Therapeutics*, 130(2), 157–176. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2011.01.010>
- Lin, D., Yan, Z., Yi, Y., Li, K., Ye, J., Hu, A., Long, C., & Liu, A. (2019). Structural modification, fungicidal and insecticidal activity of 5-arylbenzofuran neolignan from *Magnolia officinalis*. *Phytochemistry Letters*, 30, 53–57. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.01.016>
- Magaña, C., Hernández-Crespo, P., Brun-Barale, A., Couso-Ferrer, F., Bride, J.-M., Castañera, P., Feyereisen, R., & Ortego, F. (2008). Mechanisms of resistance to malathion in the medfly *Ceratitis capitata*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38(8), 756–762. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2008.05.001>
- Maheswaran, R., & Ignacimuthu, S. (2012). A novel herbal formulation against dengue vector mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Parasitology Research*, 110(5), 1801–1813. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2702-z>
- Miyatake, T. (2011). Insect quality control: synchronized sex, mating system, and biological rhythm. *Applied Entomology and Zoology*, 46(1), 3–14. <https://doi.org/10.1007/s13355-010-0017-7>
- Miyazawa, M., Ishikawa, Y., Kasahara, H., Yamanaka, J., & Kameoka, H. (1994). An insect growth inhibitory lignan from flower buds of *Magnolia fargesii*. *Phytochemistry*, 35(3), 611–613. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90572-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90572-7)
- Montoya, P., Toledo, J., & Hernández, E. (2010). Moscas de la fruta: Fundamentos y procedimientos para su manejo. S y G Editores.
- Mora-Arango, C. L., Galeano-Jaramillo, E., & Osorio-Durango, E. (2012). *Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia I*.
- Nitao, J. K., Johnson, K. S., Scriber, J. M., & Nair, M. G. (1992). *Magnolia virginiana* Neolignan compounds as chemical barriers to swallowtail butterfly host use. *Journal of Chemical Ecology*, 18(9), 1661–1671. <https://doi.org/10.1007/BF00993237>
- Norrbom, A. L., Kerytkowsky, C. A., Zucchi, R. A., Uramoto, K., Venable, G. L., McCormick, J., & Dallwitz, M. J. (2012, April). *Anastrepha and Toxotrypana: descriptions*,

- illustrations, and interactive keys, version 9th . Description Language for Taxonomy. <https://www.delta-intkey.com/anatox/index.htm>
- Poivre, M., & Duez, P. (2017). Biological activity and toxicity of the Chinese herb *Magnolia officinalis* Rehder & E. Wilson (Houpo) and its constituents. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 18(3), 194–214. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1600299>
- R Core Team. (2013). *R: A language and environment for statistical computing* (Version 3.3.1). R. Foundation for Statistical Computing.
- Rossi, Y. E., & Palacios, S. M. (2013). Fumigant toxicity of *Citrus sinensis* essential oil on *Musca domestica* L. adults in the absence and presence of a P450 inhibitor. *Acta Tropica*, 127(1), 33–37. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.03.009>
- Sánchez-Velásquez, L. R., Pineda-López, M. del R., Vásquez-Morales, S. G., & Avendaño-Yáñez, M. de la L. (2016). Ecology and conservation of endangered species: the case of Magnolias. In *Endangered species: Threats, Conservation and Future Research* (pp. 63–84). Nova Science Publisher, Inc.
- Sarkar, M., & Kshirsagar, R. (2014). Botanical pesticides: Current challenges and reverse pharmacological approach for future discoveries. *Journal of Biofertilizers & Biopesticides*, 05(02). <https://doi.org/10.4172/2155-6202.1000e125>
- Sarker, S. D., Latif, S., Stewart, M., & Nahar, L. (2002). Phytochemistry of the genus *Magnolia*. In *Magnolia. The genus Magnolia* (pp. 21–74). Taylor & Francis.
- SENASICA. (2019). *Manual técnico para las operaciones de campo de la Campaña Nacional contra Mosca de la Fruta*. Sanidad Vegetal. Campaña Nacional Contra Moscas de La Fruta (CNMF), Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), Gobierno Federal, México. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/501537/CIRCULAR-114-OF-09309-Manual_control_qu_mico_anexo_1.pdf
- SENASICA. (2021). *Quinto informe mensual*. Sanidad Vegetal. Campaña Nacional Contra Mosca de La Fruta (CNMF), Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER), Gobierno Federal, México. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/647179/Informe_mensual_CNMF_Mayo.pdf
- Singh, S. K., Tripathi, P. K., Yadav, R. P., Singh, D., & Singh, A. (2004). Toxicity of malathion and carbaryl pesticides: Effects on some biochemical profiles of the freshwater fish *Colisa fasciatus*. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 72(3), 592–599. <https://doi.org/10.1007/s00128-004-0285-4>
- Siskos, E. P., Konstantopoulou, M. A., & Mazomenos, B. E. (2009). Insecticidal activity of *Citrus aurantium* peel extract against *Bactrocera oleae* and *Ceratitis capitata* adults (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, 133(2), 108–116. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2008.01312.x>
- Smith, G. R., Krishnamurthy, S. V. B., Burger, A. C., & Rettig, J. E. (2018). Effects of malathion and nitrate exposure on the zooplankton community in experimental mesocosms. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(10), 9992–9997. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1311-0>
- Stupp, P., Rakes, M., Oliveira, D. C., Martins, L. N., Geisler, F. C. S., Ribeiro L. P., Nava D. E., Bernardi D. (2020). Acetogenin-based formulated bioinsecticides on *Anastrepha fraterculus*: toxicity and potential use in insecticidal toxic baits. *Neotropical Entomology*, 49, 292-301. <https://doi.org/10.1007/s13744-019-00747-9>
- Thakur, S., & Sidhu, M. (2013). Phytochemical screening of leaves and seeds of *Magnolia grandiflora* L. *Der Pharmacia Lettre*, 5, 278.
- Vásquez-Morales, S. G., & Ramírez-Marcial, N. (2019). Seed germination and population structure of two endangered tree species: *Magnolia perezfarrerae* and *Magnolia sharpii*. *Botanical Sciences*, 97(1), 2. <https://doi.org/10.17129/botsci.1977>
- Vásquez-Morales, S. G., Sánchez-Velásquez, L. R., Pineda-López, M. del R., Díaz-Fleischer, F., Flores-Estévez, N., & Viveros-Viveros, H. (2017). Moderate anthropogenic disturbance does not affect the demography of *Magnolia schiedeana*, an endangered species from Mexico. *Flora*, 234, 77–83. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2017.07.005>
- Vásquez-Morales, S., Norma, F.-E., Sánchez-Velásquez, L., María del Rosario, P.-L., Viveros-Viveros, H., & Díaz-Fleischer, F. (2015). Bioprospecting of botanical insecticides: The

Recibido:
19/julio/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- case of ethanol extracts of *Magnolia schiedeana* Schltl. applied to a Tephritid, fruit fly *Anastrepha ludens* Loew. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 3, 1–5.
- Vázquez-García, J., Carvajal, S., & Hernandez-Lopez, L. (2002). *Magnolia pugana* (Magnoliaceae): Una nueva combinación en el complejo *M. pacifica*. *Novon A Journal for Botanical Nomenclature*, 12, 137–141. <https://doi.org/10.2307/3393253>
- Wang, Z., Perumalsamy, H., Wang, X., & Ahn, Y.-J. (2019). Toxicity and possible mechanisms of action of honokiol from *Magnolia denudata* seeds against four mosquito species. *Scientific Reports*, 9(1), 411. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36558-y>
- Wu, B., Fu, S., Tang, H., Chen, K., Zhang, Q., Peng, A.-H., Ye, H.-Y., Cheng, X.-J., Lian, M., Wang, Z., & Chen, L.-J. (2018). Design, synthesis and antibacterial evaluation of honokiol derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 28(4), 834–838. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.06.022>
- Wu, H., Liu, T., Zhang, Z., Wang, W., Zhu, W., Li, L., Li, Y., & Chen, X. (2018). Leaves of *Magnolia liliflora* Desr. as a high-potential by-product: Lignans composition, antioxidant, anti-inflammatory, anti-phytopathogenic fungal and phytotoxic activities. *Industrial Crops and Products*, 125, 416–424. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.023>
- Yan, R., Wang, W., Guo, J., Liu, H., Zhang, J., & Yang, B. (2013). Studies on the alkaloids of the bark of *Magnolia officinalis*: Isolation and on-line analysis by HPLC-ESI-MSn. *Molecules*, 18(7), 7739–7750. <https://doi.org/10.3390/molecules18077739>
- Yang, C., Zhi, X., Li, J., Zha, J., & Xu, H. (2015). Natural products-based insecticidal agents 20. Design, synthesis and insecticidal activity of novel honokiol/magnolol azo derivatives. *Industrial Crops and Products*, 76, 761–767. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.08.003>
- Zhang, M., Han, Z., Zhang, L., Luo, Y., & Ma, L. (2019). Phytochemical screening and analysis of amino acids of *Magnolia officinalis* seeds. In *International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 1 International Journal of Research in Pharmacy and Pharmaceutical Sciences: Vol. Accepted*. www.pharmacyjournal.in

Supplementary material

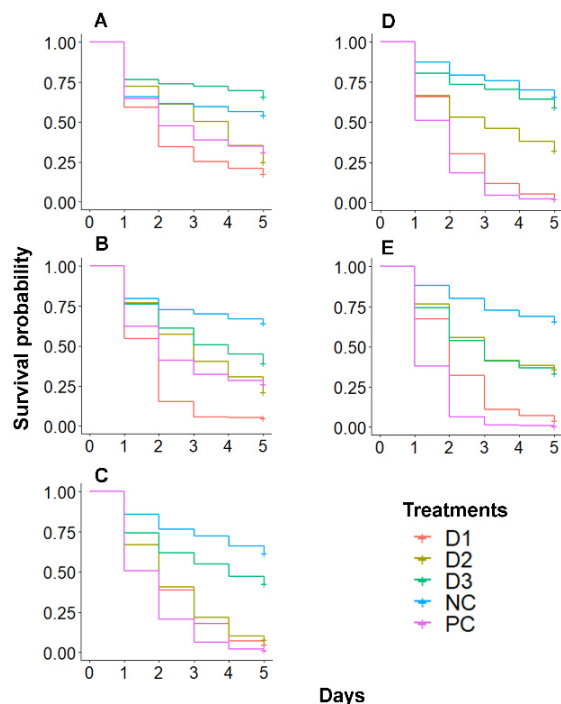


Fig. S1. Kaplan-Meier survival plot for *A. ludens* (right) and *A. obliqua* (left) exposed to ethanolic extracts of *M. perezfarrerae* (A, D), *M. pugana* (B, E) and *M. vovidesii* (C) in three dilutions, 0.1 mgmL^{-1} (D1), 0.01 mgmL^{-1} (D2) and 0.001 mgmL^{-1} (D3) with negative (NC= Ethanol 96%) and positive control (PC= *C. grandiflorum*).

Table S1. The retention factor (Rf) for each of *Magnolia* spp in different solvent systems, solvents are sorted in ascending order.

Polarity	Solvent	Proportion (%)	Retention factor (Rf)				
			<i>M. perezfarrerae</i>	<i>M. vovidesii</i>	<i>M. pugana</i>	<i>M. schiedeana</i>	
Low polarity	Hexane	100	0.09	0.14	0.10	0.06	
			0.40	0.40	0.14		
			0.60	0.42	0.80		
Mean polarity	Hexane-acetonitrile	75:25	0.38	0.60	0.38	0.56	
			0.92	0.74	0.72		
	Hexane-acetonitrile	50:50	50:50	0.34	0.30	0.30	0.60
				0.70	0.40	0.64	
				0.94	0.74	0.74	
				0.82	0.80	0.82	
Ethyl acetate	100	100	0.70	0.74	0.78	0.90	
			0.70	0.72	0.72		
High polarity	Methanol	100	0.52	0.68	0.58	0.82	
			0.60	0.60	0.62		

CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS, NUTRICIONALES Y NUTRACEÚTICAS DE FRUTOS DE CHILE X´CATIK, DULCE Y SU HÍBRIDO F1 (*Capsicum annum* L.)

PHENOTYPIC, NUTRITIONAL AND NUTRACEUTICAL TRAITS IN FRUITS OF X´CATIK, SWEET CHILI PEPPER AND ITS F1 HYBRID (*Capsicum annum* L.)

Mis-Valdez, Y.A.; M. J. Hernández Pinto; R. Garruña; K. B. Medina Dzul y R. H. Andueza-Noh.

CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS, NUTRICIONALES Y NUTRACEÚTICAS DE FRUTOS DE CHILE X´CATIK, DULCE Y SU HÍBRIDO F1 (*Capsicum annum* L.)

PHENOTYPIC, NUTRITIONAL AND NUTRACEUTICAL TRAITS OF X´CATIK CHILI FRUITS, SWEET AND ITS F1 HYBRID (*Capsicum annum* L.)



CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS, NUTRICIONALES Y NUTRACEÚTICAS DE FRUTOS DE CHILE X'CATIK, DULCE Y SU HÍBRIDO F1 (*Capsicum annuum* L.)

PHENOTYPIC, NUTRITIONAL AND NUTRACEUTICAL TRAITS OF X'CATIK CHILI FRUITS, SWEET AND ITS F1 HYBRID (*Capsicum annuum* L.)

Mis-Valdez, Y.A.;
M. J. Hernández Pinto;
R. Garruña;
K. B. Medina Dzul
y R. H. Andueza-Noh.

CARACTERÍSTICAS
FENOTÍPICAS,
NUTRICIONALES Y
NUTRACEÚTICAS DE
FRUTOS DE CHILE
X'CATIK, DULCE Y SU
HÍBRIDO F1 (*Capsicum
annuum* L.)

PHENOTYPIC,
NUTRITIONAL AND
NUTRACEUTICAL TRAITS
OF X'CATIK CHILI
FRUITS, SWEET AND ITS F1
HYBRID
(*Capsicum annuum* L.)

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 183-195. Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.12

Y. A. Mis-Valdez

M. J. Hernández Pinto

División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/
Instituto Tecnológico de Conkal.

Av. Tecnológico s/n. CP 97345, Conkal, Yucatán, México.

R. Garruña

CONACYT-Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Conkal.

Av. Tecnológico s/n. CP 97345, Conkal, Yucatán, México.

K. B. Medina Dzul

División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/
Instituto Tecnológico de Conkal.

Av. Tecnológico s/n. CP 97345, Conkal, Yucatán, México.

R. H. Andueza-Noh / r_andueza81@hotmail.com

CONACYT-Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Conkal.

Av. Tecnológico s/n. CP 97345, Conkal, Yucatán, México.

RESUMEN: México es el centro de domesticación y diversidad genética de *Capsicum annuum* L., lo que ha permitido el desarrollo de una amplia diversidad de variedades locales de chile entre las que se encuentran el chile x'catik y el chile dulce. Como resultado de la cruce de estos dos genotipos se obtiene un híbrido que localmente se conoce con el nombre de "chile bobo". En la actualidad se tiene poca información sobre las características fenotípicas, contenido nutricional y propiedades nutraceuticas de estos tres genotipos. El objetivo de este trabajo fue evaluar las características fenotípicas, nutricionales y nutraceuticas en frutos de chile x'catik, chile dulce y su híbrido F1. Se utilizó un diseño completamente al azar con 10 repeticiones. Se evaluaron variables fenotípicas, nutricionales y nutraceuticas. Los resultados mostraron que los frutos de chile x'catik, presentaron mayor longitud y grosor de pericarpio con forma cónica alargada. Los frutos de chile dulce fueron redondos con hendiduras irregulares. El híbrido F1 presentó forma oblonga alargada. Respecto a las características nutricionales y nutraceuticas, el chile x'catik obtuvo el mayor contenido de cenizas (8.18 %) y proteína (8.90 %), alto contenido de fenoles totales (456.35 ± 8.71 mg EAG 100 g^{-1}) y mayor contenido de capsaicina ($791.9.0 \pm 31.84$ mg kg^{-1}) y dihidrocapsaicina (262.45 ± 22.17 mg kg^{-1}). El chile dulce destacó por su contenido de fibra cruda (17.75 %) y el híbrido F1 por su mayor contenido de hierro (85 mg kg^{-1}) y alto contenido de flavonoides totales (330.01 ± 36.33 mg EQ 100 g^{-1}). Los genotipos de chile evaluados poseen alto contenido de proteína, fibra, grasas, carbohidratos y son fuente rica de metabolitos secundarios, por lo que, la implementación de estos genotipos en áreas de cultivo sería favorable para los agricultores de la región.

Palabras clave: *Capsicum annuum*, composición nutrimental, antioxidantes, capsaicinoides, flavonoides.

ABSTRACT: Mexico is the center of domestication and genetic diversity of *Capsicum annuum* L., which has led to the development of a wide diversity of chili pepper landraces that includes the x'catik and sweet chili pepper. As result of the spontaneous cross between these genotypes, a hybrid locally named as "bobo chili" is obtained. However, in these three genotypes the phenotypic traits, nutritional content and nutraceutical properties is lacking. The aim of this study was to evaluate the phenotypic, nutritional and nutraceutical traits in fruits of the x'catik pepper, sweet pepper and its F1 hybrid (bobo chili). A completely randomized design with 10 repetitions was used. Phenotypic, nutritional and nutraceutical variables were measured. The results showed that fruits of x'catik chili pepper had the higher length and pericarp thickness with elongated conical shape; the fruits of sweet chili pepper were round with irregular indentations. The F1 hybrid (bobo chili) had an elongated oblong shape. Regarding to the nutritional and nutraceutical traits the x'catik chili pepper had the highest ash content (8.18%) and protein (8.90%), high content of total phenols (456.35 ± 8.71 mg EAG 100 g^{-1}) and the major content of capsaicin ($791.9.0 \pm 31.84$ mg kg^{-1}) and dihydrocapsaicin (262.45 ± 22.17 mg kg^{-1}). The sweet chili pepper highlighted by its raw fiber content (17.75%) and the F1 hybrid had the higher iron content (85 mg kg^{-1}) and higher content of flavonoids (330.01 ± 36.33 mg EQ 100g^{-1}). The genotypes of chili pepper evaluated have a high content of protein, fiber, fat, carbohydrates and they are a rich source of secondary metabolites, therefore, the implementation of these genotypes in cultivated areas would be favorable for farmers in the region.

Key words: *Capsicum annuum* L, nutritional composition, antioxidants, capsaicinoids, flavonoids.

INTRODUCCIÓN

México posee una amplia diversidad de especies domesticadas de importancia comercial y alimenticia. Una de las principales especies es *Capsicum annuum*, cuyo centro de domesticación ha sido establecido en el noreste y centro-este de México (Kraft *et al.*, 2014), donde presenta una gran diversidad fenotípica y genética que involucra tanto formas cultivadas como silvestres. *C. annuum*, es la especie de chile más cultivada y diversa en México. En la península de Yucatán *C. annuum* se considera una de las hortalizas de mayor importancia económica, es altamente cultivada y presenta una amplia diversidad de morfo-tipos (Hernández *et al.*, 2001; López *et al.*, 2019; Castillo-Aguilar *et al.*, 2021), que se ve reflejada en diferentes tamaños, formas, colores y pungencia (contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina); los frutos de *C. annuum* se caracterizan por su contenido de minerales, proteínas, fibras, compuestos antioxidantes como son los flavonoides, compuestos fenólicos, carotenoides, ácido ascórbico, vitamina A y capsaicinoides (Sun *et al.*, 2007; Leja *et al.*, 2008; Mertz *et al.*, 2009; López *et al.*, 2019).

La hibridación dentro del género *C. annuum* ocurre de manera natural y puede darse por cruzamiento intra-específico e inter-específico (Onus y Pickersgill, 2004; Pérez *et al.*, 2009), esta característica ha sido aprovechada por los fito-mejoradores para la obtención de genotipos de alto rendimiento, calidad de fruto y nuevas variedades con mejores atributos. En la península de Yucatán se siembran conjuntamente las variedades locales de chile x'catik y chile dulce en huertos de traspatio y en las milpas, como resultado de la polinización natural entre estos dos genotipos se obtiene el híbrido F1 que localmente se conoce con el nombre de "chile bobo" (Cázares *et al.*, 2005; López *et al.*, 2019), cuyos frutos no han sido aprovechados por desconocimiento de las bondades y propiedades que puede aportar en la alimentación.

Se han realizado estudios para caracterizar las variedades locales de chile x'catik y chile dulce con base en la evaluación de características morfológicas, agronómicas y moleculares (Ix-Nahuat *et al.*, 2013; Castillo-Aguilar *et al.*, 2019; López *et al.*, 2019). Sin embargo, hasta el momento no existen estudios que involucren la caracterización del chile híbrido F1 que se obtiene de estos dos genotipos, que permitan conocer sus características fenotípicas y los

beneficios nutrimentales que puede aportar en la dieta diaria, aspectos que convertirían a este nuevo morfo-tipo de chile en una alternativa de producción económicamente rentable. Considerando lo mencionado anteriormente, el objetivo de este trabajo fue determinar las características fenotípicas, nutricionales y nutraceuticas de frutos de chile x'catik, chile dulce y su híbrido F1 (*Capsicum annuum* L.).

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La presente investigación se realizó en el área experimental del Instituto Tecnológico de Conkal, localizado en Conkal, Yucatán, México a 21°15' LN y 83°32' LO, a una altura de 8 msnm, con un clima tipo AWO, considerado como cálido subhúmedo con una precipitación media anual de 984.4 mm y temperatura media anual de 26.8 °C (García, 2004).

Establecimiento del cultivo, diseño experimental y evaluación fenotípica

Las semillas de chile dulce, chile x'catik y su híbrido F1, fueron donadas por Hernández (2019) quién desarrollo el híbrido de chile bobo en el área experimental del Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán. El experimento se dividió en dos etapas, la primera etapa consistió en la evaluación de las características fenotípicas, para lo cual, se sembraron los morfo-tipos del híbrido F1 y sus parentales (chile x'catik y chile dulce) en el área de invernaderos del Instituto. La segunda etapa se desarrolló en el laboratorio de agua, suelo y planta del Instituto Tecnológico de Conkal, donde se realizó el análisis fito-químico de los frutos a los 90 días después del trasplante (ddt).

Para la obtención de las plántulas se realizó la siembra de 400 semillas de cada parental y 200 semillas del híbrido F1 en charolas de poliestireno de 200 cavidades, se utilizó como sustrato musgo canadiense (SunGro Vancouver, Canadá). El trasplante se realizó a los 35 días después de la siembra (dds) en dos parcelas por separado para evitar cruzamiento entre los parentales y el híbrido F1 (una parcela para los parentales y otra para el híbrido F1). La distancia de siembra para cada parcela fue de 0.60 m., entre plantas y entre fila 1.50 m. La fertilización se aplicó con base en la solución nutritiva de Steiner, al 25 % los primeros 30 ddt, al 50 % los siguientes 30 días y posteriormente al 100 %. El diseño experimental fue completamente al azar, con 10 repeticiones, la unidad experimental consistió en 10 plantas elegidas al azar por cada genotipo. Las variables fenotípicas evaluadas fueron: longitud del fruto (cm), diámetro de fruto (mm), grosor de pericarpio (mm) medidas con un vernier y rendimiento por planta (g planta^{-1}) medido con una balanza.

Evaluación de las características nutricionales y nutraceuticas

Para evaluar las características nutricionales y nutraceuticas, se eligieron 10 plantas al azar de cada genotipo evaluado (chile x'catik, dulce y bobo (híbrido F1)) y se tomó una muestra que consistió de 1 kg de fruto fresco con tres repeticiones, la cosecha de los frutos se realizó a los 90 días después del trasplante, en la madurez de consumo. Se seleccionaron frutos sanos y sin daño, se lavaron y se cortaron para su posterior análisis. La muestra (1kg de fruto fresco que incluyó la semilla) se dividió en dos partes iguales, la primera parte se secó en estufa de convección a 60 °C durante cuatro días y posteriormente fue molida en un molino (Ika® Werke mod Mf 10 basic) para el análisis nutrimental. La segunda parte de la muestra fue liofilizada para realizar el análisis de los compuestos nutraceuticos. Para el análisis nutrimental se utilizaron los métodos oficiales de la AOAC (2000): humedad (método 925.09), cenizas (método 923.03), proteína (método 954.01), grasas (método 920.39) y fibra cruda, determinada por el método de la bolsa de papel filtro con el analizador de fibras ANCON, el cuál utiliza digestión ácida con H_2SO_4 (1.25 %) y digestión alcalina con NaOH (1.25 %). Los carbohidratos totales se cuantificaron como elementos libres de nitrógeno (ELN) por diferencia (restando al 100 % el contenido de humedad, cenizas, proteína, fibra cruda y grasas). El factor de conversión para proteínas fue 6.25 (nitrógeno \times 6.25). Se determinaron los minerales Zn, Fe,

Ca, Na, Mg, K, por espectrofotometría de absorción atómica siguiendo la metodología propuesta por Villegas *et al.* (2006), el P se determinó por el método de molibdato de sodio por espectroscopia de Uv-Vis (Villegas *et al.*, 2006). Todas estas evaluaciones fueron realizadas por triplicado para cada genotipo evaluado.

Variables nutraceuticas

El contenido de fenoles totales se determinó con la metodología de Folin-Ciocalteu® reportado por Singleton y Rossi, (1965), para lo cual, se pesaron 0.5 g de fruto liofilizado y se le agregó 20 mL de metanol al 80%, se sonicó en un baño ultrasónico durante 15 minutos y se centrifugó a 6000 rpm durante 5 minutos. Se extrajo el sobrenadante y se pasó a un tubo de ensayo, se tomó 1 mL del extracto metanólico y se le adicionó 0.5 mL de agua desionizada, 0.25 mL de Folin-Ciocalteu® (sigma-aldrich) y 0.25 mL de carbonato de sodio (NaCO₃) al 20%, la mezcla se homogenizó en un vortex y se dejó reposar por 2 h en oscuridad, para el desarrollo de color. La lectura se hizo en un espectrofotómetro (Modelo UV2800PC UV-Visible) a una absorbancia de 765 nm. La curva calibración se realizó con una solución estándar de ácido gálico entre un rango de concentración de 25 a 200 mg L⁻¹. Los resultados se reportaron como mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra en base seca (mg EAG 100 g⁻¹). La determinación de flavonoides totales se realizó de acuerdo a Chang *et al.* (2002), se tomó 0.5 mL de extracto metanólico y se adicionó 1.5 mL de etanol al 95 %, 0.1 mL de cloruro de aluminio (AlCl₃) al 10 %, 0.1 mL de acetato de potasio (CH₃CO₂K) (1 M) y 2.8 mL de agua desionizada, se homogenizó en un vortex y se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente protegida de la luz. Finalmente, se procedió a medir la absorbancia de la muestra a 415 nm en un espectrofotómetro (Modelo UV2800PC UV-Visible). La curva de calibración se realizó con una solución estándar de quercetina entre un rango de concentración de 10 a 300 mg L⁻¹. Los resultados fueron expresados en mg equivalentes de quercetina por 100 g de muestra en base seca (mg EQ 100 g⁻¹).

La vitamina C se determinó de acuerdo a Dürüst *et al.* (1997), se pesaron 0.05 g de fruto liofilizado, se le agregaron 10 mL de ácido oxálico a la muestra, se sonicó durante 20 minutos y se centrifugó a 6000 rpm durante 5 minutos. Se extrajo el sobrenadante y se pasó a un tubo de ensayo. Se mezcló 0.500 mL de muestra con 0.500 mL de solución buffer de acetato de sodio más 4 mL de 2,6-dicloroindofenol y después de 14 segundos de la adición del 2,6-dicloroindofenol, se registró la primera lectura como L₁. Después, el espectrofotómetro de Uv-vis se ajustó nuevamente a cero con una mezcla de la solución estándar de ácido ascórbico de 2 ppm (0.500 mL), la solución buffer de acetato de sodio (0.500 mL) más 4 mL de 2,6-dicloroindofenol y se registró como L₂. Se determinó la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro (Modelo UV2800PC UV-Visible). La curva de calibración se realizó con una solución estándar de ácido ascórbico con concentraciones de 10, 20, 30, 40, 50 y 60 mg mL⁻¹. Los resultados se expresaron como mg equivalentes de ácido ascórbico por 100 g de fruto en base seca (EAA 100 g⁻¹). La medición de todas las variables nutraceuticas fue realizada por triplicado.

La capsaicina y dihidrocapsaicina se determinaron de acuerdo al método de Collins *et al.* (1995) con modificaciones menores en un matraz con 1.0 g de muestra (base seca) se le agregaron 25 mL de acetonitrilo grado HPLC, los matraces se colocaron en agitación constante con 80 °C a 160 rpm durante 4 h. La mezcla se filtró nuevamente, se aforó a 25 mL con acetonitrilo y 2 mL de la muestra y se conservaron en viales. Para la determinación y cuantificación de capsaicinoides se utilizó un equipo de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) marca PERKIN ELEMER ® modelo FLEXAR LC equipada con bomba LC de 6,000psi, detector de UV/VIS, autosampler y dispensador de disolventes. Se utilizó una columna de 25 cm de largo y 4.9 mm de diámetro de fase C18, marca SUPELCOSIL® modelo LC-18-HPLC. Se utilizó para la columna una temperatura de 25 °C, con una tasa de flujo de 1 mL•min⁻¹ y tiempo de corrida de 12 minutos, la longitud de onda de absorción se encontró entre 280 y 360 nm, la fase móvil isocrática fue con el disolvente A (75 % acetonitrilo grado HPLC) y 25 % de disolvente B (agua grado HPLC). El volumen de inyección fue de 50µL. Como estándares de

calibración se utilizaron soluciones con concentraciones de (100, 200, 300, 400 y 500 mg•L⁻¹) de capsaicina y dihidrocapsaicina.

Análisis de datos

Con los datos obtenidos se realizó una prueba de normalidad y los datos en porcentaje fueron transformados con la raíz cuadrada del arco-seno, posteriormente se realizó un análisis de varianza (ANOVA, $P \leq 0.05$) con el paquete InfoStat. Cuando se observaron diferencias estadísticas significativas se procedió a realizar una comparación de medias con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

RESULTADOS

Caracterización fenotípica

En la Figura 1, se observa la comparación de medias de las variables que resultaron con diferencias estadísticas significativas. El fruto de chile x'catik fue el de mayor longitud (15.22 cm), menor diámetro (23.28 mm) y mayor grosor de pericarpio, con frutos de forma cónica alargada en comparación con el chile dulce que presentó frutos de menor longitud (7.28 cm), mayor diámetro (62.66 mm) y forma redonda con hendiduras irregulares. El fruto de chile Bobo mostró valores de longitud y diámetro intermedios en relación con sus parentales (10.07 cm y 35.83 mm) con forma de fruto oblonga alargada. El mayor grosor del pericarpio (2.87 cm) fue observado en los frutos del chile x'catik en comparación con el chile dulce y chile bobo que fueron estadísticamente iguales ($P \leq 0.05$) (Fig. 1).

Características nutricionales de los genotipos de chile x'catik, chile dulce y chile bobo

Los resultados de las variables nutricionales (Cuadro 1) determinadas en los frutos de chile x'catik, dulce y bobo, 90 días después de la antesis, indicaron que existen diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) entre los tres genotipos. Los frutos de chile x'catik mostraron mayor contenido de cenizas y proteína cruda en comparación con el chile dulce y chile bobo. El mayor contenido de fibra cruda se observó en los frutos de chile dulce seguido por x'catik y Bobo, como se muestra en el cuadro 1.

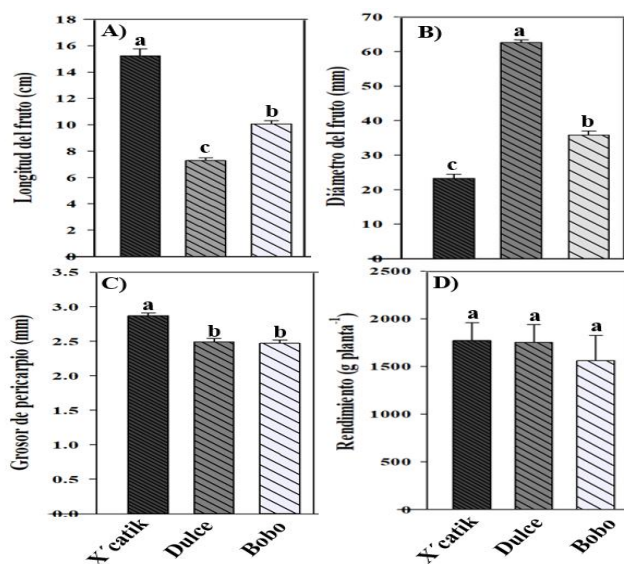


Fig. 1. Características fenotípicas y rendimiento de frutos de chile x'catik, chile dulce y chile bobo. A) longitud de fruto; B) diámetro de fruto; C) grosor del pericarpio; D) rendimiento. Los datos son medias \pm error estándar. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $\alpha = 0.05$) (n=10).

Cuadro 1. Propiedades nutricionales de frutos de chile x'catik, chile dulce y chile bobo.

Variable (%)	Chile x'catik	Chile dulce	Chile bobo
Humedad	11.03 ± 0.36 a	11.05 ± 2.00 a	12.43 ± 2.00 a
Cenizas	8.18 ± 0.11 a	6.28 ± 0.12 b	6.52 ± 0.15 b
Proteína cruda	8.90 ± 0.08 a	7.03 ± 0.09 b	6.7 ± 0.21 b
Fibra cruda	15.76 ± 0.17 b	17.72 ± 0.17 a	15.85 ± 0.24 b
Grasa cruda	5.26 ± 0.22 ab	5.61 ± 0.12 a	4.93 ± 0.01 b
ELN	50.85 ± 0.13 a	52.29 ± 1.87 a	53.42 ± 1.76 a

ELN= Elementos libres de nitrógeno. Los datos son medias ± error estándar. Letras diferentes entre filas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $\alpha = 0.05$) (n=3).

En el contenido de minerales, se observó mayor contenido de macronutrientes K, P y Mg en el chile x'catik (Cuadro 2) seguido del chile dulce y chile bobo. De todos los minerales analizados, el P fue el de mayor contenido en los tres genotipos, y Fe en el chile bobo.

Cuadro 2. Contenido de minerales (mg kg⁻¹) obtenido de frutos de chile x'catik, chile dulce y chile bobo.

Macronutrientes	Chile x'catik	Chile dulce	Chile bobo
P	3891.63 ± 154.27 a	2695.59 ± 90.61 b	3045.91 ± 96.10 b
K	27394.22 ± 1068.75 a	21216.02 ± 989.03 b	21798.05 ± 923.86 b
Mg	2277.33 ± 95.20 a	1471.30 ± 32.75 b	1505.60 ± 34.37 b
Ca	3369.85 ± 99.13 a	2124.70 ± 28.97 b	2616.92 ± 424.48 ab
Na	588.57 ± 35.35 ab	854.83 ± 123.52 a	499.25 ± 45.05 b
Micronutrientes			
Fe	55.37 ± 3.69 b	46.03 ± 1.37 b	84.10 ± 6.69 a
Zn	31.58 ± 6.79 a	26.35 ± 2.59 a	33.42 ± 7.91 a

Los datos son medias ± error estándar. Letras diferentes entre filas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $\alpha = 0.05$) (n=3).

Compuestos nutraceuticos presentes en chile x'catik, chile dulce y chile bobo

En el contenido de fenoles totales (Cuadro 3), el fruto de chile x'catik presentó el mayor valor seguido del chile dulce y chile bobo. Con respecto a los flavonoides no se observó diferencia estadística ($P \leq 0.05$) (Cuadro 3). El contenido de vitamina C resultó mayor en los frutos de chile dulce, mientras que el menor contenido de este metabolito se encontró en el chile bobo.

Cuadro 3. Contenido de compuestos nutraceuticos en frutos de chile x'catik, dulce y bobo.

Fruto	Fenoles totales (mg EAG 100g ⁻¹)	Flavonoides totales (mg EQ 100g ⁻¹)	Vitamina C (mg EAA 100g ⁻¹)
X'catik	456.35 ± 8.71 a	296.32 ± 29.73 a	7.28 ± 0.08 b
Dulce	380.28 ± 7.17 b	293.07 ± 12.03 a	10.24 ± 0.14 a
Bobo	392.43 ± 5.71 b	330.01 ± 36.33 a	4.28 ± 0.31 c

Los datos son medias ± error estándar. Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $\alpha = 0.05$) (n=3). EAG; equivalentes de ácido gálico. EQ; equivalentes de quercetina. EAA; equivalentes de ácido ascórbico.

Con respecto al contenido de los capsaicinoides (Cuadro 4) los frutos de chile x'catik presentaron el mayor contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina, seguido del chile bobo, mientras que en los frutos de chile dulce no se encontró capsaicina y dihidrocapsaicina.

Cuadro 4. Contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina (mg kg⁻¹) en frutos de chile x'catik, chile dulce y chile bobo.

Fruto	Capsaicina	Dihidrocapsaicina	SHU
X'catik	791.90 ± 31.84 a	433.28 ± 26.97 a	19725.39 a
Dulce	Nd	Nd	Nd
Bobo	262.45 ± 22.17 b	187.51 ± 12.51 b	7244.35 b

Los datos son medias ± error estándar. Letras diferentes entre columnas indican diferencias estadísticas significativas (Tukey, $\alpha = 0.05$) (n=3). Nd: no detectado. SHU; Unidades Scoville.

DISCUSIÓN

Caracterización fenotípica

Las características fenotípicas presentaron amplia variabilidad entre los tres genotipos de chile evaluados, este resultado es de esperarse debido a que los tres genotipos de chile son morfológicamente diferentes. Los resultados obtenidos de diámetro y longitud de fruto del chile dulce concuerdan con Moreno *et al.* (2011) quienes indican que el diámetro del fruto de chile dulce puede variar de 4.14 a 10.2 cm, con una longitud de 5.0 a 20.9 cm. Con respecto al grosor del pericarpio los resultados son similares a lo reportado por González *et al.* (2010) quienes mencionan que en promedio el grosor del pericarpio del chile dulce es de 3.30 y 8.93 cm. Para el chile x'catik, Rincón *et al.* (2010) reportaron una longitud promedio de 14.9 cm y un diámetro de 2.8 cm, similar a lo observado en este trabajo. Por otro lado, los resultados muestran que los frutos del híbrido F1 (chile bobo) tienen mayor longitud en comparación con los frutos del chile dulce, pero menor en comparación con los frutos de chile x'catik. Así como, un mayor diámetro en comparación con los frutos de chile x'catik. Sin embargo, el diámetro de fruto fue menor cuando se comparó con los frutos de chile dulce. Este comportamiento es de esperarse ya que, al ser resultado de la cruce de estos dos genotipos se espera encontrar un comportamiento intermedio en las variables evaluadas en comparación con sus parentales como resultado de la herencia codominante (Ayala *et al.*, 2017), teniendo como resultado variabilidad fenotípica del híbrido F1 obtenido, lo que permite expresar caracteres fenotípicos del progenitor masculino (chile x'catik) y del progenitor femenino (chile dulce) en el híbrido (chile bobo). No

se encontraron diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) en el rendimiento, por lo tanto, el cultivo de chile bobo (híbrido F1) presenta rendimiento ($1.693 \text{ g planta}^{-1}$) similar al de sus parentales lo que lo convierte en una alternativa para los productores como nuevo morfotipo de *Capsicum annum* L.

Características nutricionales de los genotipos de chile x'catik, chile dulce y chile bobo

En los resultados de las características nutraceuticas, se puede observar que el contenido de cenizas es mayor a lo reportado por el Instituto Nacional de Salud (Reyes *et al.*, 2017) en *Capsicum annum* var. *annuum* con 6.7% de cenizas, de manera similar el contenido de proteína en chile x'catik, dulce y bobo fue superior a lo reportado por Rebouças *et al.* (2013) en *Capsicum frutescens*. Un mayor contenido de cenizas en los productos consumidos podría representar un mayor aporte de minerales en el consumo de la dieta diaria del humano. Los frutos de chile x'catik, dulce y bobo son una fuente potencial de minerales por su alto contenido de cenizas. Los resultados de fibra cruda en chile x'catik, dulce y bobo son similares a lo reportado por Solís-Marroquín *et al.* (2017) en frutos de *C. annum* variedad siete caldos con valores de 16.75% de fibra cruda. El pericarpio de los frutos en *C. annum* con altas cantidades de fibra tienen un efecto fisiológico benéfico en la dieta diaria. Debido a que la fibra ayuda a la pared intestinal a liberar desechos acumulados durante la alimentación de difícil expulsión; asimismo, permite aumentar la masa fecal y reducir los riesgos carcinógenos para eliminarlos más rápidamente del organismo (Ballesteros *et al.*, 1998).

El contenido de K, P y Mg observado en los tres genotipos de chile concuerda con Chávez *et al.* (2016) quienes reportaron un mayor contenido de K ($28,527 \text{ mg kg}^{-1}$), P ($4,857 \text{ mg kg}^{-1}$) y Mg ($1,660 \text{ mg kg}^{-1}$) en cinco morfo-tipos de *C. annum* L. El P presentó mayor contenido en los tres genotipos, en este sentido Notario y Sosa-Morales (2012) mencionan que el alto contenido de P en los frutos ayuda al aprovechamiento de proteínas y carbohidratos. Los frutos de chile x'catik, dulce y bobo representan una fuente importante de aporte de Fe, resultados similares fueron determinados por Guil *et al.* (2006) en frutos de 10 variedades de pimiento (*Capsicum annum* L) con un rango de variación de 41 a 88 mg kg^{-1} de Fe. El chile bobo presentó mayor contenido de Fe, esto pudo darse como resultado de la hibridación. Jiménez *et al.* (2012) reportaron en granos de frijol tipo Rosa de Castilla (*Phaseolus vulgaris* L.) contenido de 55.5 mg kg^{-1} de Fe. Solomons *et al.* (2004) mencionaron que las cantidades relevantes para hacer aportaciones importantes a los requerimientos mínimos diarios de Fe es de 5 a 8 mg kg^{-1} , en este sentido el chile bobo podría ser una alternativa en la dieta diaria, por su aportación de Fe y macronutrientes. De Romaña *et al.* (2010) reportaron que los frutos de *Capsicum* son utilizados para la elaboración de platillos en las regiones donde se produce en forma tradicional por su contenido de Fe. El contenido de macro y micronutrientes en frutos de chile (*C. annum*) son parte de la composición del fruto y tiene una aportación importante en la alimentación diaria de las comunidades rurales ayudando a tener un mejor funcionamiento del organismo (Chávez *et al.*, 2016). Salomons *et al.* (2004) señalan que el consumo recomendable de macronutrientes como el Mg y P es de 255 a 420 y 580 a 700 mg/día respectivamente y para el caso de los micronutrientes Fe y Zn el consumo recomendable es de 5 a 8 mg/día de Fe y de 6.8 a 11 mg/día de Zn. En los resultados de este estudio se puede observar que los tres genotipos de chile evaluados duplicaron los valores de macro y micronutrientes (Mg, P Fe y Zn) recomendables para el consumo diario. Por lo tanto, se resalta la aportación potencial que tienen los frutos de chile x'catik, dulce y bobo en la dieta de los consumidores. En general, los resultados muestran que los frutos de chile bobo (híbrido F1) presentan niveles de nutrientes similares a sus parentales, por lo que puede ser considerado como una alternativa para ser incluido en el consumo de la dieta diaria por su alto contenido de nutrientes a través de la elaboración de platillos, salsas o encurtidos.

Compuestos nutraceuticos presentes en los genotipos de chile x'catik, chile dulce y chile bobo

En el contenido de fenoles totales el chile x'catik mostró el mayor valor, sin embargo, estos resultados fueron menores a lo reportado por Rodríguez *et al.* (2012) y Rochín-wong *et al.*

(2013) en frutos de chile habanero con 592 mg EAG 100 g⁻¹ y chile chiltepín con 663.26 mg EAC 100 g⁻¹, respectivamente. Marín *et al.* (2004) mencionaron que el contenido de fenoles totales disminuye a medida que avanza la madurez del fruto, lo que indica que frutos de color verde (frutos en inicio de maduración fisiológica) pueden presentar mayor contenido de fenoles totales en comparación con los frutos que presentan color amarillo, naranja o rojo característico de la madurez comercial. La diferencia en el contenido de fenoles totales en chile x'catik, dulce y bobo de manera general pudo ser debido a que los frutos analizados fueron de color rojo por lo que presentaron menor acumulación de fenoles totales. Sin embargo, por el contenido de fenoles totales observados en los frutos de chile x'catik, dulce y bobo, estos tres genotipos pueden ser considerados una fuente de metabolitos secundarios. Ananthan *et al.* (2018) mencionaron que el género *Capsicum* es una fuente importante de compuestos bioactivos o metabolitos secundarios, que aportan un beneficio a la salud adicional al nutricional cuando son consumidos como parte de la dieta diaria.

El contenido de flavonoides en chile x'catik, dulce y bobo son similares a lo reportado por Rochín-wong *et al.* (2013) en frutos de chiltepín con 360.17 mg EC 100 g⁻¹. En vitamina C, los datos obtenidos son menores a lo reportado por Vera *et al.* (2011) en frutos de *C. pubescens* (variedad "canario") con 18 % de vitamina C. Deepa *et al.* (2007) reportaron que los pimientos dulces son ricos en vitaminas, especialmente vitamina C. Sin embargo, los valores altos o bajos de vitamina C en *C. annuum* dependen del cultivar, madurez del fruto, manejo agronómico de la planta y factores climáticos (Howard *et al.*, 2000; Mozafar, 2018). En este estudio, el contenido de vitamina C en chile x'catik, dulce y bobo se reporta en frutos completamente maduros, los valores están relacionados con la etapa de madurez del fruto como menciona Álvarez *et al.* (2011). Con respecto al contenido de capsaicinoides, los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con Cazares *et al.* (2005) quienes mencionan que para los frutos de chile x'catik obtuvieron un nivel de pungencia de 23,695.0 SHU y para el chile bobo 8654.4 SHU. Sin embargo, el grado de picor varía por el grado de madurez del fruto, condiciones de crecimiento de la planta (fotoperiodo, pH del suelo, humedad, nutrientes, altitud) y el genotipo (Castillo-Aguilar *et al.*, 2021).

CONCLUSIONES

Los frutos del chile x'catik presentaron mayor longitud y grosor del pericarpio, menor diámetro y forma cónica alargada, mientras que los frutos de chile dulce presentaron una forma redonda con hendiduras irregulares. El híbrido F1 (chile bobo) presentó una forma oblonga alargada. El rendimiento alcanzado por los tres genotipos indica que la implementación de estos genotipos en las áreas de cultivo sería favorable para los productores de la región.

Los frutos de chile x'catik, chile dulce y chile bobo proporcionan un alto contenido de proteína, fibra, grasas y carbohidratos, lo que los hace candidatos a ser incluidos en la dieta diaria. El chile bobo brinda un aporte elevado de Fe (85 mg kg⁻¹) por lo tanto, su consumo puede ayudar a suplir las necesidades diarias de Fe en el humano.

Los frutos de chile x'catik, chile dulce y chile bobo son buena fuente de metabolitos secundarios por su contenido de fenoles totales, flavonoides, vitamina C y capsaicinoides.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Rincón, V. H., Torres, T. C., López, P. L., Moreno, L. L., Meraz, M. R., Mendoza, H. V., & Castillo, J. A. (2010). Los chiles de México y su distribución. *SINAREFI*, 114.
- AOAC. (2000). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 17 ed. Gaithersburg. United States of America.

- Ayala Arias, B., Mejía Carranza, J., Martínez Estrada, I., Rubí Arriaga, M. M., & Vázquez García, L. M. (2017). Caracterización morfológica de híbridos de chile manzano. 8(4), 825-836. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(4), 825-836.
- Ballesteros, V. M., Cabrera-Pacheco, R. M., Saucedo-Tamayo, M. D., & Grijalva-Haro, M. I. (1998). Consumo de fibra dietética, sodio, potasio y calcio y su relación con la presión arterial en hombres adultos normotensos. *Salud Pública de México*, 40(3), 241-247.
- Castillo-Aguilar, C. C., Arcos, M. J., Chiquini-Medina, R. A., Quej-Chi, V. H., & Lara-Reyna, J. (2019). Caracterización Varietal de Dos Ecotipos de Chile Xcat ik (*Capsicum annuum*) del Estado de Campeche. En W. CetZal-Ix, F. Casanova-Lugo, A. Chay-Canul, & M.-P. J. Froylan, *Agroecosistemas tropicales: Conservación de recursos naturales y seguridad alimentaria* (págs. 330-337). Campeche, China, México: Tecnológico Nacional de México.
- Castillo-Aguilar, C. C., Castilla, L. L., Pacheco, N., Cuevas-Bernardino, J. C., Garruña, R. R., & Andueza-Noh, R. H. (2021). Phenotypic diversity and capsaicinoid content of chilli pepper landraces (*Capsicum* spp.) from the Yucatan Peninsula. *Plant Genetic Resources*, 19(2), 159-166.
- Cázares, S. E., Ramírez-Vallejo, P., Castillo-González, F., Soto-Hernández, R. M., Rodríguez-González, M. T., & Chávez-Servia, J. L. (2005). Capsaicinoides y preferencia de uso en diferentes morfotipos de chile (*Capsicum annuum* L.) del centro-oriente de Yucatán. *Agrociencia*, 39(6), 627-638.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M., & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of food and drug analysis*, 10(3), 178-182.
- Chávez, S. J., Vera-Guzmán, A. M., Carrillo-Rodríguez, J. C., & Heredia-García, E. (2016). Variación en contenido de minerales en frutos de variedades autóctonas de chile (*Capsicum annuum* L.), cultivadas en invernadero. *Vitae*, 23(1), 48-57.
- Collins, M. D., Wasmund, L. M., & Bosland, P. W. (1995). Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high-performance liquid chromatography. *HortScience*, 30(1), 137-139.
- De Romaña, D. L., Castillo, C., & Díaz granados, D. (2010). El zinc en la salud humana-I. *Revista Chilena de nutrición*, 37(2), 234-239.
- Deepa, N., Kaur, C., George, B., Singh, B., & Kapoor, H. C. (2007). Antioxidant constituents in some sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) genotypes during maturity. *Food Science and Technology*, 40(1), 121-129.
- Dürüst, N., Sümengen, D., & Dürüst, Y. (1997). Ascorbic acid and element contents of foods of Trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(6), 2085-2087.
- García, E. (2004). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen* (5 ed.). México: Comisión Nacional para el Estudio de la Biodiversidad (CONABIO).
- González, J. I., García, I. L., Ruiz, S. C., & Orcaray, L. (2010). Pimientos California y Lamuyo: variedades y colores. *Navarra Agraria*, 32-36.
- Guil, G. J., Martínez-Guirado, C., Reboloso-Fuentes, M., & Carrique-Pérez, A. (2006). Nutrient composition and antioxidant activity of 10 pepper (*Capsicum annuum*) varieties. *European Food Research and Technology*, 224(1), 1-9.
- Hernández, P. M. (2019). Caracterización agronómica y molecular de chile bobo: híbrido originado de la cruce de x'catik y dulce (*Capsicum annuum* L.). 41. Conkal Yucatán, México: Tecnológico Nacional de México Campus Conkal.
- Hernández, V. S., Luna-Reyes, R., & Oyama, K. (2010). Genetic structure and differentiation of wild and domesticated populations of *Capsicum annuum* (Solanaceae) from Mexico. *Plant Systematics and evolution*, 226(3), 129-142.
- Howard, L. R., Talcott, S. T., Brenes, C. H., & Villalon, B. (2000). Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(5), 1713-1720.
- Ix-Nahuat, J. G., Latournerie-Moreno, L., Pech-May, A. M., Pérez-Gutiérrez, A., Tun-Suárez, J. M., Ayora-Ricalde, G., & Montes-Hernández, S. (2013). Valor agronómico de

- germoplasma de chile dulce (*Capsicum annuum* L.) en Yucatán, México. *Universidad y Ciencia*, 29(3), 231-242.
- Jiménez, H. Y., Acosta-Gallegos, J. A., Sánchez-García, B. M., & Martínez-Gamiño, M. A. (2012). Características agronómicas y contenido de Fe y Zn en el grano de frijol tipo Rosa de Castilla (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(2), 311-325.
- Kraft, K. H., Brown, C. H., Nabhan, G. P., Luedeling, E., Ruiz, J. D., d'Eeckenbrugge, G. C., & Gepts, P. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17), 6165-6167.
- Leja, M., Wyzgolik, G., & Kaminska, I. (2008). Changes of some biochemical parameters during the development of sweet pepper fruits. *Folia horticulture*, 277-283.
- López, C. L., Garruña Hernández, R., Castillo Aguilar, C. D., Martínez-Hernández, A., Ortiz-García, M. M., & Andueza-Noh, R. H. (2019). Structure and genetic diversity of nine important landraces of *Capsicum* species cultivated in the Yucatan Peninsula, México. *Agronomy*, 9(7), 376.
- Marín, A., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A., & Gil, M. I. (2004). Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(12), 3861-3869.
- Mertz, C., Gancel, A. L., Gunata, Z., Alter, P., Dhuique-Mayer, C., Vaillant, F., & Brat, P. (2009). Phenolic compounds, carotenoids and antioxidant activity of three tropical fruits. *Journal of food composition and analysis*, 22(5), 381-387.
- Moreno, P. E., Mora Aguilar, R., Sánchez del Castillo, F., & García-Pérez, V. (2011). Fenología y rendimiento de híbridos de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) cultivados en hidroponía. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 5-18.
- Mozafar, A. (2017). *Plant vitamins, agronomic, physiological, and nutritional aspects*. Boca Raton: CRC Press. doi:<https://doi.org/10.1201/9781351075800>
- Notario, C. M., & Sosa-Morales, M. E. (2012). El jitomate (*Solanum lycopersicum*): aporte nutrimental, enfermedades, postcosecha y tecnologías para su almacenamiento en fresco. *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(1), 40-53.
- Onus, A. N., & Pickersgill, B. (2004). Unilateral incompatibility in *Capsicum* (Solanaceae): occurrence and taxonomic distribution. *Annals of botany*, 94(2), 289-295.
- Pérez, G. M., González-Hernández, V. A., Peña-Lomelí, A., & Sahagún-Castellanos, J. (2009). Combining ability and heterosis for fruit yield and quality in manzano hot pepper (*Capsicum pubescens* R & P) landraces. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15(1), 103-109.
- Rebouças, T. N., Valverde, R., & Teixeira, H. L. (2013). Bromatología da pimenta malagueta in natura e processada em conserva. *Horticultura Brasileira*, 163-165.
- Reyes, G. M., Gómez-Sánchez, P. I., & Espinoza, B. C. (2017). *Tablas peruanas de composición de alimentos*. Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú: Instituto Nacional de la salud, Lima Perú.
- Rochín-Wong, C. S., Gámez-Meza, N., Montoya-Ballesteros, L. C., & Medina-Juárez, L. A. (2013). Efecto de los procesos de secado y encurtido sobre la capacidad antioxidante de los fitoquímicos del chiltepín (*Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*). *Revista mexicana de ingeniería química*, 12(2), 227-239.
- Rodríguez, M. A., Valenzuela-Solorio, A., Troncoso-Rojas, R., González-Mendoza, D., Grimaldo-Juarez, O., Aviles-Marin, M., & Cervantes-Diaz, L. (2012). Antioxidant activity and bioactive compounds of Chiltepín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) and Habanero (*Capsicum chinense*): A comparative study. *Journal of medicinal plants research*, 6(9), 1758-1763.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Solís-Marroquín, D., Lecona-Guzmán, C. A., Ruiz-Lau, N., Ocampo, P., Rodas-Trejo, J., Gonzales-Santiago, C., & Gordillo-Páez, L. (2017). Análisis bromatológico de frutos

Recibido:
19/julio/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- de chile “siete caldos” (*Capsicum annuum*) cultivados en condiciones de cielo abierto y casa sombra. *Agroproductividad*, 10(9), 34-40.
- Solomons, N. W., Kaufer-Horwitz, M., & Bermúdez, O. I. (2004). Armonización de las Recomendaciones Nutricionales para Mesoamérica: ¿Unificación regional o individualización nacional? *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 54(4), 363-373.
- Sun, T., Xu, Z., Wu, C. T., M, J., Prinyawiwatkui, W., & K, N. H. (2007). Antioxidant activities of different colored sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science*, 7(2), S98-S102.
- Vera, G. A., Chávez, J. S., Carrillo, J. R., & López, M. G. (2011). Phytochemical evaluation of wild and cultivated pepper (*Capsicum annuum* L. and *C. pubescens* Ruiz & Pav.) from Oaxaca, Mexico. *Chilean journal of agricultural research*, 71(4), 578-585.
- Villegas, W., Acereto, P., & M, V. (2006). *Análisis ultravioleta-visible; la teoría y la práctica en el ejercicio profesional*. Mérida Yucatán: Universidad Autónoma de Yucatán.

MECANISMOS DE INFECCIÓN ENDÓGENA EN FRUTOS DE CACAO CON *Moniliophthora roreri*

MECHANISMS OF ENDOGENOUS INFECTION IN COCOA FRUITS WITH *Moniliophthora roreri*

Albores Flores, V.J.; L. Gómez Rodríguez; J.A. López García y J. Grajales Conesa.

MECANISMOS DE INFECCIÓN ENDÓGENA EN FRUTOS DE CACAO CON
Moniliophthora roreri.

MECHANISMS OF ENDOGENOUS INFECTION IN COCOA FRUITS WITH
Moniliophthora roreri.



**MECANISMOS DE INFECCIÓN ENDÓGENA EN FRUTOS DE CACAO
CON *Moniliophthora roreri*****MECHANISMS OF ENDOGENOUS INFECTION IN COCOA FRUITS
WITH *Moniliophthora roreri***V. J. Albores Flores / alboresflores@gmail.com

L. Gómez Rodríguez

J.A. López García

J. Grajales Conesa

*Instituto de Biociencias, Universidad Autónoma de Chiapas.
Boulevard Príncipe Akishino sin número Colonia Solidaridad 2000,
CP 30798. Tapachula, Chiapas, México*

Albores Flores, V.J.;
L. Gómez Rodríguez;
J.A. López García
y J. Grajales Conesa.

MECANISMOS DE
INFECCIÓN ENDÓGENA EN
FRUTOS DE CACAO CON
Moniliophthora roreri

MECHANISMS OF
ENDOGENOUS INFECTION
IN COCOA FRUITS WITH
Moniliophthora roreri

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 197-209. Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.13

RESUMEN: La moniliasis, producida por el hongo *Moniliophthora roreri*, afecta a frutos de cacao en cualquier estado de desarrollo fenológico, siendo los más susceptibles a la infección los recién formados que son denominados estado infantil. La presencia de frutos de cacao enfermos en las primeras cuatro semanas de desarrollo, hace pensar que el proceso de infección se realiza en la etapa de amarre del fruto. El objetivo del presente estudio fue determinar el mecanismo de formación de frutos enfermos por infección de ovarios de flores de frutos de *Theobroma cacao* de forma endógena por el patógeno y evaluar el efecto antifúngico del extracto de polen maduro e inmaduro de flor de cacao. La investigación se realizó en una plantación de cacao tipo trinitario de la variedad Costa Rica. Se inocularon (con una solución de 1×10^6 conidios mL^{-1}) ovarios de flores de cacao antes de efectuar la polinización de forma manual. Después del amarre del fruto, las evaluaciones fueron cada tercer día (fruto de una semana) después de ser infectados, por un lapso de 30 días (10 observaciones). Se colectaron frutos cada semana a partir de la segunda semana después de la infección. Se realizó una extracción alcohólica de polen maduro e inmaduro y se realizó bioensayos contra *M. roreri*. Se encontró la presencia de síntomas a la tercera semana de desarrollo de los frutos infectados. El efecto antimicrobiano se observó más en el extracto alcohólico correspondiente al polen color beige que del amarillo. Este estudio aporta información para comprender la presencia de frutos enfermos en las primeras tres semanas del estado infantil y elucidar el proceso de infección de *M. roreri* en flores de cacao.

Palabras clave: *Moniliophthora roreri*, *Theobroma cacao*, Moniliasis, patrón de infección, polinización.

ABSTRACT: Moniliasis, produced by the fungus *Moniliophthora roreri*, affects cocoa fruits in any stage of phenological development, the newly formed ones being the most susceptible to infection, which are called the infant stage. The presence of diseased cocoa fruits in the first four weeks of development suggests that the infection process is carried out in the fruit setting stage. The objective of the present study was to determine the mechanism of formation of diseased fruits by infection of the flower ovaries of *Theobroma cacao* fruits endogenously by the pathogen and to evaluate the antifungal effect of the extract of mature and immature cocoa flower pollen. The research was carried out in a Trinitarian-type cocoa plantation of the Costa Rica variety. Ovaries of cocoa flowers were inoculated (with a solution of 1×10^6 conidia mL^{-1}) before pollinating manually. After the fruit set, the evaluations were every third day (fruit of a week) after being infected, for a period of 30 days (10 observations). Fruits were collected every week from the second week after infection. An alcoholic

extraction of mature and immature pollen was carried out and bioassays against *M. roreri* were carried out. The presence of symptoms was found at the third week of development of the infected fruits. The antimicrobial effect was observed more in the alcoholic extract corresponding to beige pollen than yellow. This study provides information to understand the presence of diseased fruits in the first three weeks of the infant stage and to elucidate the infection process of *M. roreri* in cocoa flowers.

Key words: *Moniliophthora roreri*, *Theobroma cacao*, Moniliasis, infection pattern, pollination.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) de importancia agroalimentaria, por ser fuente comercial para la elaboración de chocolate y manteca, que derivan de sus semillas (Sánchez *et al.*, 2019), produce sus flores en el tronco principal y en ramas laterales durante todo el año. Las flores son hermafroditas de ovario supero y nacen agrupadas en sectores denominados cojines florales. El botón floral se abre en un periodo de 25 a 30 días después de su emergencia y su apertura inicia por la tarde, para que a la mañana siguiente esté completamente viable para la polinización. La flor que no es fecundada se cae del árbol en un periodo de 48 horas (Batista, 2009). La polinización es entomófila realizada por dípteros de la familia *Ceratopogonidae* destacándose el género *Forcipomyia* ssp. (Alvarado Aguayo *et al.*, 2018, Adjalo & Oduro, 2013) los cuales son atraídas por el color de los estaminodios y transfieren el polen de las anteras al estigma, penetrando la flor sin ninguna dificultad.

Los frutos de cacao, son el resultado de la maduración del ovario en la fecundación de la flor. Posterior a ello, el desarrollo del fruto y la diferenciación de la estructura que conforma el fruto de cacao, se presenta en las 18 semanas siguientes (Ten Hoopen *et al.*, 2013, Rangel-Fajardo *et al.*, 2012, Cerri & Reale, 2020). Los frutos formados posteriores a la antesis floral, que son infectados por *M. roreri*, no culminan su desarrollo. La pérdida de frutos de cacao se presenta en las primeras doce semanas de desarrollo, oscila entre 60 y 80%, donde la causa principal es la infección de patógenos fúngicos (Phillips-Mora & Wilkinson, 2007, Torres de la Cruz *et al.*, 2013, Espinosa-García *et al.*, 2015).

La moniliasis del cacao, considerada como la enfermedad fúngica más perjudicial, provoca pérdidas económicas para los productores de cacao (Correa Álvarez *et al.*, 2014). *Moniliophthora roreri* es considerado el agente causal de esta enfermedad e infecta específicamente a frutos en diferentes estados fenológicos de desarrollo (Phillips-Mora *et al.*, 2005).

Basado en observaciones generales a plantaciones de cacao establecidas, la presencia de frutos enfermos de moniliasis posterior al amarre de los frutos y en las primeras cuatro semanas de desarrollo del fruto (Phillips-Mora & Wilkinson, 2007), hace pensar que el proceso de infección con conidios de *M. roreri* se llevó a cabo en la etapa de fecundación del óvulo durante la polinización y que el proceso de incubación recurrente fue de tres semanas.

Los objetivos de este trabajo de investigación fueron determinar el mecanismo de formación de frutos enfermos en las primeras etapas fenológicas con infección endógena de ovarios de flores de *Theobroma cacao*, con *M. roreri* y el efecto antifúngico del extracto de polen de flor de cacao.

MATERIALES Y MÉTODOS

Establecimiento del experimento. La investigación se realizó en una plantación productiva de cacao de tipo trinitario de la variedad Costa Rica (información proporcionada por el productor),

ubicada en el Municipio de Cacahoatán, Chiapas a 461 msnm cuyas coordenadas geográficas son N14°54.539 W092°10.897. Está en una zona que es templado - húmedo, con nubosidad variante donde la temperatura oscila de 17 a 33 °C, con una precipitación al año de 304 mm. Con árboles que oscilan de 17 años de edad (todos clones) con una distancia de siembra de 2 x 2.5 m (información proporcionada por el productor), acompañados de árboles maderables.

Infección de la flor de cacao, con *Monillioththora roreri*. Para el inóculo se utilizó una cepa clasificada como GNov32 de *M. roreri* proporcionada por el Instituto de BioCiencias. Se utilizaron 21 árboles en etapa de floración (antes de la antesis) en los cuales se seleccionaron flores semi-abiertas receptoras las cuales fueron protegidas para evitar fecundación y contaminación por esporas, y se seleccionó flores donadoras. Se establecieron ocho tratamientos (Cuadro 1). Los ovarios de las flores receptoras se inocularon con conidios de *Moniliophthora roreri* $1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ utilizando una micropipeta (Fig. 1-Izquierda). A cada una de las flores receptoras se le aplicó 20 μL de la solución de conidios, posteriormente se polinizaron de forma manual (Figura 1-Derecha). Se seleccionó la flor donadora con un polen viable de color amarillo crema (menor madurez) o amarillo (maduro). Se quitaron los sépalos y pétalos para que las anteras quedarán libres. Posterior a la inoculación (5 min), las anteras fueron frotadas en el ovario para la colocación de granos de polen sobre la flor receptora. Para evitar contaminación de polen extraño se encerró la flor en un dispositivo transparente, amarrado con listón al tronco o ramas de cada planta procurando no dañar las flores. En la parte apical del dispositivo se colocó una tela, malla tipo mosquitera para permitir el paso del oxígeno, luz y agua que procediera del ambiente, evitando que estas se almacenarán en el dispositivo, y evitar que insectos interfirieran en la polinización. Se monitorean cada semana para revisar la presencia de fruto y determinar que existió fecundación.

Cuadro 1. Tratamientos establecidos en campo.

Tratamientos	Condición	Polinización	Código
1	Inoculación	Con polen crema*	IPC
2	No inoculación	Con polen crema	SPC
3	Inoculación	Con polen amarillo **	IPA
4	No inoculación	Con polen amarillo	SPA
5	Inoculación	No polinización	ISP
6	No inoculación	No polinización	SIP

*: Menor grado de madurez, **: Mayor grado de madurez



Fig. 1: Inoculación (Izquierda) y polinización (Derecha) de flores de cacao.

Se determinó el tiempo en que se presentó el primer síntoma en los frutos de cacao, por cada tratamiento, denominado tiempo de incubación (Ti) y la incidencia inicial (Yo). La incidencia de la enfermedad para cada edad (semanas) de la fruta se calculó según la fórmula de incidencia, donde I: es incidencia, nFE: es número de frutos enfermos y nFT: es el total de frutos.

Efecto de antifúngico del extracto alcohólico del polen. Para determinar si el polen que fecunda la flor de cacao tiene alguna propiedad inhibitoria hacia la espora de *M. royeri*, se estableció lo siguiente: se colectaron flores abiertas del campo con estaminodios cerrados (CER, condición donde no se puede polinizar el ovario) y flores abiertas con estaminodios abiertos (AB, condición donde se puede polinizar el ovario) (Fig. 2). Se colectó el polen de cada condición de la flor, el cual fue de color crema (CREM) y amarillo (AMARI), se presentan en el cuadro 2. Estos se almacenaron en tubos Eppendorf con 1 mL de alcohol al 70% y se macero con un agitador de vidrio. En medio de cultivo con ADP a pH de 6 en cajas Petri, se colocaron 100 μ L de la solución alcohólica de polen por mL de medio. Se realizó por triplicado y a cada placa se inoculó con 1×10^6 conidios mL⁻¹ del hongo GNov32 *M. royeri*., proporcionado por el cepario del Instituto de Biociencias. Se midió diariamente el crecimiento de la colonia con un vernier.



Fig. 2. Flor de cacao con estaminodios abiertos (izquierda) y estaminodios cerrados (derecha).

Cuadro 2. Tratamientos establecidos para determinar el efecto antifúngico del extracto de polen en el crecimiento de *M. royeri* (AB: abiertos, CER: cerrados, CREM: crema, AMARI: amarillo).

Estaminodios	Color de polen
AB	CREM
AB	AMARI
CER	CREM
CER	AMARI

Análisis estadístico. Se realizó un análisis de varianza a las variables amarre de frutos, incidencia, Y_o , T_i e inhibición microbiana, y donde se observaron diferencias se realizó una comparación de medias por Tukey ($\alpha=0.05$). Se aplicó una prueba de “t Student” ($p= 0.05$) en tratamientos donde existieron frutos enfermos. Se utilizó el software Infostat v. 2015.

RESULTADOS

El grado de madurez del polen en el proceso de fecundación de ovarios de cacao, es un factor importante para el amarre de frutos ($F: 6.34, p<0.0138$), tal como se observa en el cuadro 3. El valor obtenido de fecundación de flores en los tratamientos 2 y 4, muestra que el polen amarillo sin presencia de inóculo

genera un 8.5% de frutos comparado con el valor de 3.66% del polen crema (una diferencia de 4.84 % entre ellos). En flores inoculadas y con polinización, el amarre de frutos fue de 7.69% con polen amarillo y de 2.92 con polen crema (una diferencia de 4.77 % entre ellos). La presencia de inóculo de *M. royeri* en la entrada del ovario, no interfirió en el amarre de los frutos (F: 0.54, p=0.4646, cuadro 4).

Cuadro 3. Porcentaje de fecundación e incidencia de las flores evaluadas por tratamientos.

Tratamientos	N° F	% Fe total	% I total	TEPS (s)
IPC	205	2.92 b*	33.33	3 y 4
SPC	273	3.66 b	0	
IPA	195	7.69 a	40.0	2, 3 y 4
SPA	200	8.5 a	0	
ISP	205	0	0	
SIP	273	0	0	

F: Flores, Fe: Fecundación, I: Incidencia de frutos enfermos, TEPS: Tiempo en expresarse el primer síntoma, s: semanas. *letras iguales no hay diferencias significativas.

Cuadro 4. Análisis de varianza de frutos amarrados en la polinización manual, por tipo de polen. No se incluyó a los testigos por falta de valores.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3.82	3	1.27	2.52	0.0639
Tipo polen	3.2	1	3.2	6.34	0.0138
Condición	0.27	1	0.27	0.54	0.4646
Tipo polen*condición	0.34	1	0.34	0.68	0.4126
Error	40.42	80	0.51		
Total	44.24	83			

Condición: inoculación y no inoculación.

La presencia de frutos enfermos en el primer estado fenológico (jóvenes-infantil, Fig. 3) es el resultado de la presencia de conidios de *M. royeri* en la entrada del ovario antes de realizar el proceso de fecundación. La sanidad fue mayor en frutos sin inocular (Cuadro 3, porcentaje de incidencia). El tratamiento polinizado con polen crema presentó un 6.67 % menos incidencia que el tratamiento polinizado con polen amarillo. Acorde a la comparación realizada entre el tipo de polen ($t: -1.58, p=0.1217$), se determinó que no afecta al proceso de infección de *M. royeri* en la etapa de amarre del fruto.

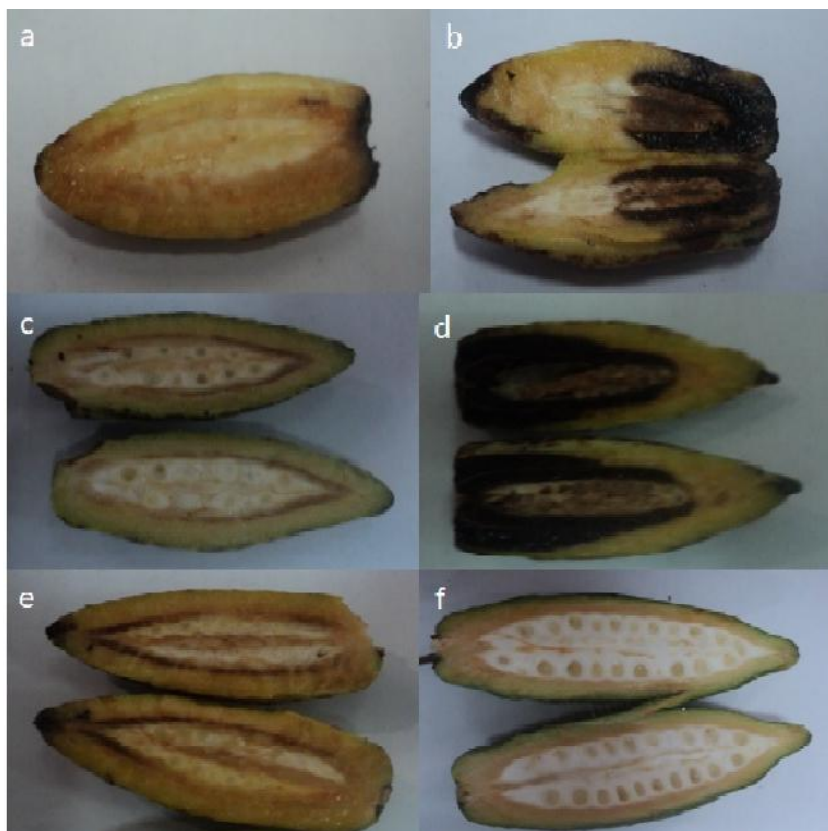


Fig. 3. Frutos jóvenes - infantiles enfermos de los tratamientos inoculados (I) y no inoculados (S) de las flores de cacao polinizadas con polen (P) de color crema (C) e amarillo (A) (a: IPC a la 3ra semana; b: IPA a la 3ra semana; c: SPC a la 4ª semana; d: IPA a la 3ra semana; e: IPC a la 4ª semana y f: SPA a la 5ª semana).

La presencia de síntomas en todos los frutos analizados, fue la generación de un color amarillo seguido de una necrosis cercana al pedúnculo o en la parte apical de los frutos infantiles, observado a partir de la tercera y cuarta semana de desarrollo (Cuadro 3). En frutos con síntoma externo, el análisis de daño al tejido interno expuso una necrosis u oxidación del tejido que se origina en el interior del fruto correspondiente a la zona del ápice y cercana al pedúnculo, que avanza al exterior (Fig. 3a, b, d y e). Con lo anterior se proponen los sitios donde se estaciona el conidio después que acompaña (adherido) al tubo germinativo en el proceso de fecundación en el ovario (Fig. 4). Es probable que posterior a la germinación de los conidios se da el avance del micelio en el tejido conforme se desarrolla del fruto.

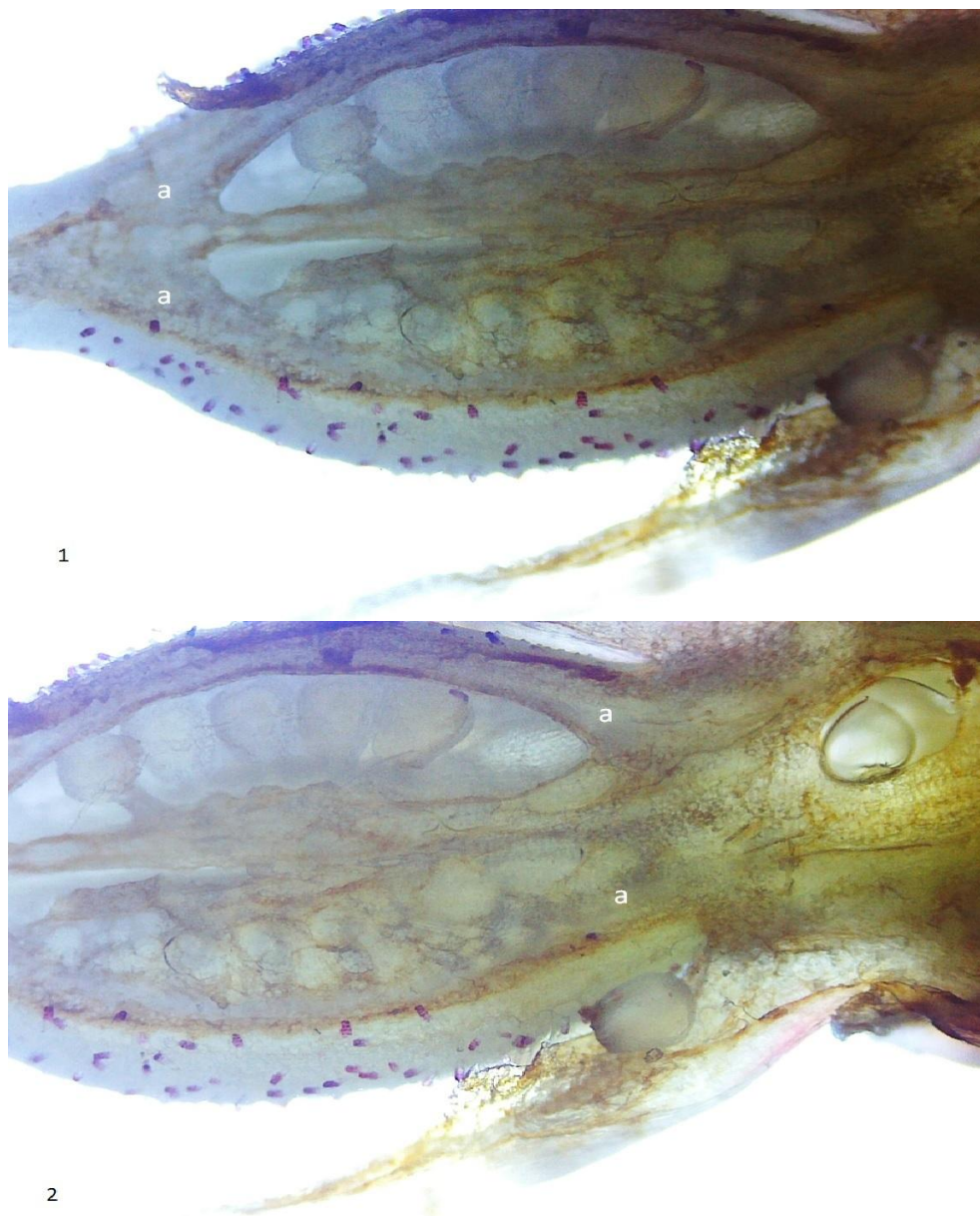


Fig. 3. Esquema de sitios donde se estaciona la espora de *M. roreri* en el ovario de la flor de *Theobroma cacao*. (1: Próximo al cuello de entrada, 2: en la base del ovario, a: zona donde queda la espora de *M. roreri*).

Efecto de antifúngico del extracto alcohólico del polen

Existió un retraso en el crecimiento micelial de *M. roreri* a la exposición de extractos alcohólicos para ambos tipos de polen de flores con estaminodios cerrados (F: 5626.75, $p < 0.0001$, cuadro 5), a diferencia del polen de flores con estaminodios abiertos (Fig. 4). El extracto de polen de flor de cacao que mayor efecto inhibitorio ejerció en el crecimiento de la colonia de *M. roreri*, fue el amarillo (F: 85.98, $p < 0.0001$). El retraso observado de cuatro días en la formación de la colonia de *M. roreri*, con extractos de polen de flores con estaminodios cerrados, se traduce a que existió un efecto fungistático.

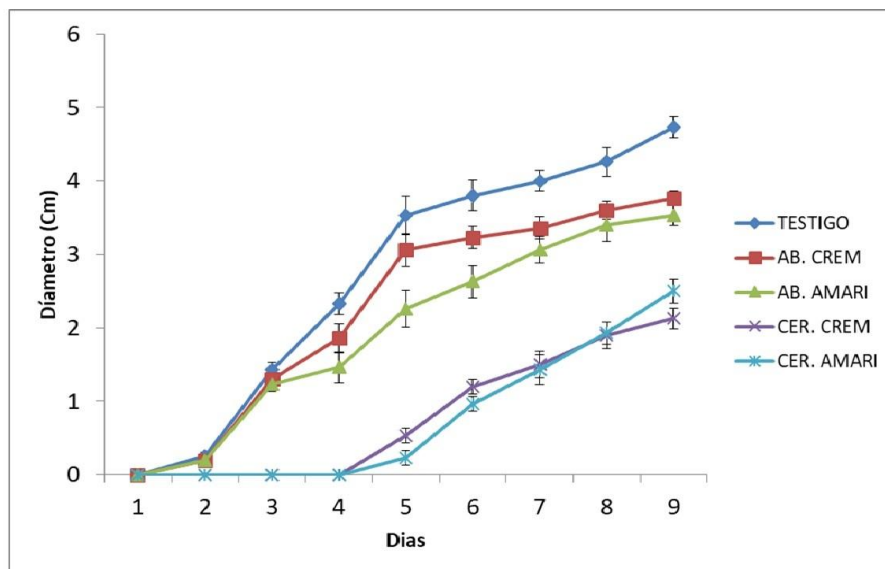


Fig. 4. Cinética de crecimiento de colonia de *M. royeri* en presencia de extractos alcohólicos de polen de flores de cacao, alfa = 0.05. (AB: estaminodios abiertos, CER: estaminodios cerrados, CREM: crema y AMARI: amarillo).

Cuadro 5. Análisis de varianza del efecto inhibitorio de los extractos alcohólicos a *M. royeri*.

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	292.89	44	6.66	919.31	<0.0001
Condición	81.48	2	40.74	5626.75	<0.0001
Tipo de polen	0.62	1	0.62	85.98	<0.0001
Días	184.88	8	23.11	3191.64	<0.0001
Condición*Tipo de polen	0.45	1	0.45	62.66	<0.0001
Condición*Días	24.23	16	1.51	209.13	<0.0001
Tipo de polen*Días	0.96	8	0.12	16.53	<0.0001
Condición*Tipo de polen*Días.	0.26	8	0.03	4.54	0.0001
Error	0.65	90	0.01		
Total	293.54	134			

DISCUSIÓN

La generación de frutos enfermos de cacao en las primeras semanas de desarrollo, fueron ocasionados por la infección de ovarios maduros con conidios de *M. royeri* durante el proceso de polinización. La presencia de frutos de cacao enfermos en las primeras semanas de desarrollo coinciden con lo reportado por Phillips-Mora *et al.*, 2005, Phillips-Mora *et al.*, 2006,

Sánchez-Mora & Garcés-Fiallos, 2012. La presencia de frutos enfermos en las primeras semanas, podría explicarse por la infección constante en el proceso de polinización que mantiene la prevalencia de la enfermedad en estas edades de desarrollo.

El tiempo de incubación que tuvo *M. roreri* desde la fecundación del ovario y que generó los síntomas de la moniliasis en los frutos ya formados (osciló de 2 a 4 semanas), depende de la capacidad del conidio para germinar y de la capacidad para penetrar la pared del ovario durante el proceso de transformación a fruto (amarre). El tiempo de incubación de dos semanas difiere de lo reportado por Sánchez-Mora & Garcés-Fiallos, (2012) quienes indican que el tiempo mínimo es de tres semanas. La diferencia en el tiempo de incubación podría explicarse por las características del tejido, donde posiblemente entre menos diferenciación presente existirá un menor el tiempo de incubación.

Nosotros proponemos, basados en los resultados obtenidos, que la infección del ovario de la flor de cacao, durante el proceso de polinización, sucedió cuando el estigma fue contaminado por conidios de *M. roreri*. La llegada de estos conidios al estigma, podría llevarse a cabo de forma natural por el viento e insectos que visitan la flor (Torres de la Cruz *et al.*, 2013, Adjaloo & Oduro, 2013), o incluso llegar el polen ya contaminado (Bucio Villalobos *et al.*, 2010).

La infección interna probablemente se debió a que los conidios viajaron adheridos al tubo polínico y según el movimiento de estos últimos, el rozamiento con las paredes internas del ovario provoca el desprendimiento del mismo (este evento sucede por cada tubo polínico que fecunda a cada óvulo, acorde al proceso de fecundación descrito por Somarriba Chávez *et al.*, 2010).

Proponemos, basados en los resultados obtenidos que la necrosis interna del fruto en estado juvenil (ápice y cercano al pedúnculo) se relaciona con el alojamiento de los conidios en el ovario durante el proceso de fecundación de los óvulos en el amarre del fruto. Los conidios alojados en la base del lóculo, que provocan mayor daño al fruto, presentan mayor frecuencia comparado con los que se alojaron en la zona próxima a la entrada de los lóculos. La presencia de daño en la parte próxima al pedúnculo del fruto podría explicarse por el efecto de gravedad que atrae a los conidios desprendidos del tubo polínico al fondo del lóculo y probablemente el tegumento interno que cubre a los óvulos y a los lóculos, no permiten la adherencia de los conidios durante el proceso de fecundación. El daño interno (necrosis) del fruto de cacao es ocasionada por el desarrollo de *M. roreri* avanzando del interior al exterior del pericarpio, descrito por Bailey *et al.*, (2013). Esta necrosis interna se presenta en todas las edades de desarrollo con posterior indicativo de síntoma externo y en algunas ocasiones no se expresa síntoma externo (Sánchez-Mora & Garcés-Fiallos, 2012, Phillips-Mora & Wilkinson, 2007).

La infección con conidios de *M. roreri* en el proceso de polinización y fertilización del ovario de la flor del cacao, no impide la fecundación de los óvulos y la formación del fruto de cacao. Las propiedades que pueda contener el polen maduro, no afectan la germinación del conidio ni tampoco lo inactivan. Lo anterior se traduce a que conforme presenta más grado de madurez el polen de la flor de cacao, menores compuestos con actividad antifúngica contiene, similar a lo observado por Albores-Flores *et al.*, (2021), donde los extractos de polen estudiados ejercieron un efecto antifúngico mínimo del 16% y máximo del 65% sobre el crecimiento del hongo *Colletotrichum gloeosporioides*. La calidad del polen y del proceso de polinización es un factor que favorece la fecundación de las flores de cacao (Frimpong-Anin *et al.*, 2014), donde probablemente la contaminación microbiana podría ser favorecida por los vectores que lo transportan, tal como lo explica Laraba *et al.*, (2019). La relación de la pérdida de frutos de cacao en las primeras semanas de desarrollo no depende en su totalidad por infección de *M. roreri*, siendo la falta de nutrientes en el árbol el otro factor que provoca pérdida de frutos recién formados (Frimpong-Anin *et al.*, 2014).

CONCLUSIONES

La presencia de conidios de *M. roreri* en el proceso de polinización de flores de cacao y el grado de madurez del polen utilizado en el proceso de la fecundación de los ovarios influyen directamente en la presencia de frutos enfermos.

Con el polen de color amarillo, el de mayor madurez, se generó necrosis en los frutos juveniles de cacao una semana antes que en los frutos generados por la fecundación de flores con polen color crema (menor madurez).

El polen proveniente de flores con estaminodios cerrados, independiente del color, ejerció un efecto reductor en el desarrollo del crecimiento de micelio de *M. roreri*, a diferencia del polen proveniente de flores con estaminodios abiertos.

LITERATURA CITADA

- Adjaloo, M. K., & Oduro, W. (2013, February 27). Insect assemblage and the pollination system in Cocoa (*Theobroma cacao* L). *Journal of Applied Biosciences*, 62, 4582 - 4594. DOI:10.4314/JAB.V62I0.86070
- Albores-Flores, V. J., Saavedra-Camacho, E., López-García, J. A., Grajales-Conesa, J., & Córdova-Albores, L. C. (2021, Enero 07). Caracterización fisicoquímica, actividad antioxidante y antifúngica de agregado de polen de tres especies de abejas (Apidae: Meliponini) provenientes del Soconusco, Chiapas. *Revista mexicana de fitopatología*, 39(1), 41-60. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2009-4>
- Alvarado Aguayo, A., Carrera Maridueña, M., & Morante Cajilema, J. (2018, Octubre). Importancia de la Mosquilla *Forcipomyia* spp. en la polinización y producción del cultivo de cacao. *Revista Desarrollo Local Sostenible*. <https://www.eumed.net/rev/delos33/cultivo-cacao.html/hdl.handle.net/20.500.11763/delos33cultivo-cacao>
- Bailey, B. A., Crozier, J., Sicher, R. C., Strem, M. D., Melnick, R., Carazzolle, M. F., Costa, G. G. L., Pereira, G. A. G., Zhang, D., Maximova, S., Gultinan, M., & Meinhardt, L. (2013, January). Dynamic changes in pod and fungal physiology associated with the shift from biotrophy to necrotrophy during the infection of *Theobroma cacao* by *Moniliophthora roreri*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 81, 84-96. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2012.11.005>
- Batista, L. (2009). *Guía Técnica: El Cultivo de Cacao* (1st ed., Vol. 1). Teófilo Suriel. <http://www.cedaf.org.do/publicaciones/guias/download/cacao.pdf>
- Bucio Villalobos, C. M., López Preciado, G., Martínez Jaime, O. A., & Torres Morales, J. J. (2010). Micoflora asociada a granos de polen recolectados por abejas domésticas (*Apis mellifera* L). *Nova scientia*, 2(4), 93-103. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-07052010000200006
- Cerri, M., & Reale, L. (2020). Anatomical traits of the principal fruits: An overview. *Scientia Horticulturae*, 270, 109390. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109390>
- Correa Álvarez, J., Castro Martínez, S., & Coy, J. (2014). Estado de la moniliasis del cacao causada por *Moniliophthora roreri* en Colombia. *Acta Agronómica*, 63(4), 388-399. <http://dx.doi.org/10.15446/acag.v63n4.42747>
- Espinosa-García, J. A., Uresti-Gil, J., Vélez-Izquierdo, A., Moctezuma-López, G., Inurreta-Aguirre, H. D., & Góngora-González, S. F. (2015). Productividad y rentabilidad potencial del cacao (*Theobroma cacao*) en el trópico mexicano. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(5), 1051-1063. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342015000500012

Recibido:
19/julio/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- Frimpong-Anin, K., Adjaloo, M. K., Kwapong, P. K., & Oduro, W. (2014, March 2). Structure and Stability of Cocoa Flowers and Their Response to Pollination. *Journal of Botany*, 2014(2), 1-6. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/513623>
- Laraba, I., Kim, H.-S., Busman, M., O'Donnell, K., Felker, F., Aime, M., Koch, R., & Wurdack, K. (2019). *Fusarium xyrophilum*, sp. nov., a member of the *Fusarium fujikuroi* species complex recovered from pseudoflowers on yellow-eyed grass (*Xyris* spp.) from Guyana. *Mycología*, 112(1), 1-13. <http://dx.doi.org/10.1080/00275514.2019.1668991>
- Phillips-Mora, W., Castillo, J., Krauss, U., Rodríguez, E., & Wilkinson, M. J. (2005). Evaluation of cacao (*Theobroma cacao*) clones against seven Colombia isolates of *Moniliophthora roreri* from four pathogen genetic groups. *Plant Pathology*, 54(4), 483-490. [10.1111/j.1365-3059.2005.01210.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2005.01210.x)
- Phillips-Mora, W., Coutiño, A., Ortiz, C. F., López, A. P., Hernández, J., & Aime, M. C. (2006). First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in México. *Plant Pathology*, 55(4), 584. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01418.x>
- Phillips-Mora, W., & Wilkinson, M. J. (2007). Frosty pod of cacao: a disease with a limited geographic range but unlimited potential for damage. *Phytopathology*, 97(12), 1644 – 1647. [10.1094/PHYTO-97-12-1644](https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-12-1644)
- Rangel-Fajardo, M. A., Zavaleta-Mancera, H. A., Córdova-Tellez, L., López-Andrade, A. P., Delgado-Alvarado, A., Vidales-Fernández, I., & Villegas-Monter, A. (2012, Septiembre). Anatomía e histoquímica de la semilla del cacao (*Theobroma cacao* L.) criollo mexicano. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(3), 189-197. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000300002
- Sánchez, V., Zambrano, J., & Iglesias, C. (2019). *Capítulo 1. Diagnóstico y perspectiva de la cadena de valor del cacao en América Latina y el Caribe*. (1st ed., Vol. 1). Hugo Sánchez, V., Iglesias, C., Luis Zambrano, J. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/5382>
- Sánchez-Mora, F. D., & Garcés-Fiallos, F. R. (2012, Septiembre). *Moniliophthora roreri* (Cif. y Par.) Evans *et al.* en el cultivo del cacao. *Scientia Agropecuaria*, 3(3), 249-258. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2012.03.06>
- Somarriba Chávez, E., Cerda Bustillos, R., Astorga Domian, C., Quesada Chaverri, F., & Vásquez Morera, N. (2010). *Reproducción sexual del cacao*. (1st ed.). Marilyn Villalobos Rodríguez y Shirley Orozco Estrada. https://www.worldcocoaoundation.org/wp-content/uploads/files_mf/somarribachavez_2010genomicsphysiologysexualreproductionno.1spanish6.7mb.pdf
- Ten Hoopen, G. M., Deberdt, P., Mbenoum, M., & Cilas, C. (2013). Modelling cacao frosty pod growth: implications for disease control. *Annals of Applied Biology*, 160(3), 260 - 272. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.2012.00539.x>
- Torres de la Cruz, M., Ortiz García, C. F., Téliz Ortiz, D., Mora Aguilera, A., & Nava Díaz, C. (2013). Efecto del Azoxystrobin Sobre *Moniliophthora roreri*, Agente Causal de la Moniliasis del Cacao (*Theobroma cacao*). *Revista mexicana de fitopatología*, 31(1), 65-69. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092013000100007

EFFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.)

EFFECTS OF *Bacillus subtilis* STRAINS GBO3 AND IN937b ON THE GROWTH OF CORN (*Zea mays* L.)

Gutiérrez-Calvo, A.E.; A. Gutiérrez Estrada; C.L. Miceli-Méndez y M.A. López-Miceli.

EFFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.).

EFFECTS OF *Bacillus subtilis* STRAINS GBO3 AND IN937b ON THE GROWTH OF CORN (*Zea mays* L.).



EFFECTOS DE *Bacillus subtilis* CEPAS GBO3 y IN937b EN EL CRECIMIENTO DE MAÍZ (*Zea mays* L.).**EFFECTS OF *Bacillus subtilis* STRAINS GBO3 AND IN937b ON THE GROWTH OF CORN (*Zea mays* L.).****A.E. Gutiérrez-Calvo**

Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

A. Gutiérrez Estrada

Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Chiapas

C.L. Miceli-Méndez/ clara.miceli@unicach.mx**M.A. López-Miceli**

Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas

Gutiérrez-Calvo, A.E.;
A. Gutiérrez Estrada;
C.L. Miceli-Méndez
y M.A. López-Miceli.EFFECTOS DE *Bacillus subtilis*
CEPAS GBO3 y IN937b EN
EL CRECIMIENTO DE
MAÍZ (*Zea mays* L.).EFFECTS OF *Bacillus subtilis*
STRAINS GBO3 AND IN937b
ON THE GROWTH OF
CORN (*Zea mays* L.).

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 211-218. Enero 2022

DOI:

10.18387/polibotanica.53.14

RESUMEN: La utilización de agroquímicos sintéticos para la producción de maíz (*Zea mays* L.) genera riesgos a la salud, además de: interrupción del ciclo ecológico natural de los nutrientes, contaminación ambiental y destrucción de comunidades biológicas. Por ello, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar los efectos de las cepas GBO3 y IN937b de *Bacillus subtilis* en el crecimiento de plantas de *Z. mays*. Durante el experimento se realizaron tres inoculaciones de las cepas, una el día de la siembra, otras a los 15 días y la última en los 30 días posteriores. Ambas cepas se inocularon a concentraciones de 1×10^7 UFC•mL⁻¹ y 1×10^8 UFC•mL⁻¹, evaluándose cinco tratamientos: cuatro tratamientos experimentales y un testigo, con 18 repeticiones cada uno, utilizando una semilla por repetición. Los tratamientos que contenían las cepas GBO3 a 10^8 UFC•mL⁻¹ y IN937b a 10^7 UFC•mL⁻¹ de *B. subtilis* presentaron los efectos más significativos en el crecimiento del *Z. mays* para un peso total de 11.29 g en ambos tratamientos, y 6.58 g para el testigo. Así mismo, la totalidad de los tratamientos experimentales incrementaron significativamente la biomasa de las plantas, (Valor $p \leq 0.05$ en el test de Kruskal-Wallis) aplicado debido a la falta de homogeneidad de varianza. Los resultados obtenidos demostraron diferencias significativas en la capacidad de las cepas para estimular positivamente el crecimiento en *Z. mays*.

Palabras clave: Biofertilizante, rizobacterias, PGPR, rizosfera, crecimiento.

ABSTRACT: The use of synthetic fertilizers for production of corn (*Zea mays* L.) generates health risks, interruption of natural ecological cycle of nutrients, environmental contamination and destruction of biological communities, therefore, the present research aimed to evaluate the effects of *Bacillus subtilis* strains GBO3 and IN937b on the growth of maize plants. During the experiment, three inoculations of the strains were carried out, one on the day of sowing, others more at 15 and 30 days later, both strains were tested at concentrations of 1×10^7 CFU•mL⁻¹ and 1×10^8 CFU •mL⁻¹, evaluating five treatments, four experimental treatments and one control, each with 18 repetitions, using one seed per repetition, for a total of 90 experimental units, the treatments containing the GBO3 strains at 10^8 CFU •mL⁻¹ and IN937b at 10^7 CFU •mL⁻¹ of *B. subtilis* showed effects more marked in growing of *Z. mays*, with a total weight of 11.29 g in both treatments, and 6.58 g in the control treatment, likewise, all the experimental treatments significantly increased biomass and plant development, agree with Kruskal-Wallis test ($p \leq 0.05$) applied for non-homogeneous variances, the results of this research showed that the strains have the ability to stimulate positively the growth *Z. mays*.

Key words: Rhizobacteria; *Zea mays*; *Bacillus subtilis*; Plant growth promoting bacteria.

INTRODUCCIÓN

Z. mays es uno de los cereales más cultivados en el mundo (Agbodjato *et al.*, 2018), y debido a ello, existe una alta demanda del grano, lo cual ha derivado en prácticas de cultivo asociadas al uso intensivo de productos agroquímicos sintéticos, que a su vez, han generado una disminución de la fertilidad del suelo (Amogou *et al.*, 2018), contaminación ambiental, riesgos a la salud, interrupción del ciclo ecológico natural de los nutrientes y la destrucción de comunidades biológicas (Bhardwaj *et al.*, 2017).

Tomando en consideración estas problemáticas, durante los últimos años se han desarrollado e implementado diversas técnicas y prácticas que promueven la restauración del equilibrio biológico de los suelos, una de estas alternativas es el uso de rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal (*Plant growth promoting rhizobacteria*, PGPR), que producen alteraciones de toda la comunidad microbiana en el nicho de la rizósfera a través de la producción de diversas sustancias (Kloepper *et al.*, 1980). aportando beneficios como, tolerancia al estrés por sequía, salinidad y biótico, además de incrementar la absorción de nutrientes, mejorar la tasa de germinación, estimular el crecimiento de las plantas mediante producción de fitohormonas, mejora del suelo, biorremediación de metales pesados y contaminantes, además de modular los metabolitos secundarios de las plantas (Basu *et al.*, 2021).

Las PGPR actúan directamente sobre las plantas facilitando la adquisición de recursos como nitrógeno, fósforo y minerales esenciales a través de la fijación biológica de nitrógeno, la solubilización de fosfato y el secuestro de hierro por el sideróforo, respectivamente, o modulando los niveles de hormonas vegetales como auxinas, giberelinas (GA), citoquininas (CK) y óxido nítrico (NO), o bien, de manera indirecta con la competencia en la rizósfera, la resistencia sistémica inducida (ISR) y biosíntesis de fitohormonas relacionadas con el estrés como el ácido jasmónico (JA), cadaverina (Cad) o con el catabolismo del etileno como la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa (Parray *et al.*, 2016).

En este sentido, se han realizado diversos trabajos sobre el efecto de las PGPR en *Z. mays*, Kumar *et al.*, (2020) evaluaron el efecto de las nanopartículas de plata y *Bacillus cereus* LPR2 sobre el crecimiento de *Z. mays* determinaron que ambos pueden ser empleados como bioinoculantes y estimulantes del crecimiento y, *B. cereus* LPR2 como un inhibidor de crecimiento de patógenos, por su parte Ferreira *et al.*, (2018) realizaron un estudio sobre el efecto de *B. subtilis* en la mejora a la tolerancia del *Z. mays* a la sequía, analizando cuatro niveles de salinidad, encontraron que la salinidad influye negativamente en el crecimiento de *Z. mays*, sin embargo, la inoculación de *B. subtilis* mejora el crecimiento de las plantas en condiciones de salinidad al igual disminuye los daños bioquímicos. Mientras que, (Ahmad *et al.*, 2019), empleó *Bacillus aryabhatai* S10 y *Bacillus subtilis* ZM63 como bioinoculantes en frijol y *Z. mays*, encontrando que ambas cepas aumentan el crecimiento de las plantas y el estado nutricional.

Considerando lo antes mencionado, y bajo la hipótesis de que el uso de las cepas GBO3 o IN937b de *B. subtilis* promueven la organogénesis en plantas de *Z. mays*, la presente investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto de *B. subtilis* en el crecimiento de *Z. mays*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal y microorganismos

El presente trabajo se desarrolló en dos fases, durante la primera fase se realizó la reactivación de las cepas de IN937b y GBO3 de *B. subtilis* en agar de soya tripticaseína (TSA - tryptic soy agar) a una temperatura de 20 °C durante 24 horas (h), y posteriormente, se cultivaron colonias aisladas en caldo soya tripticaseína (TSB - tryptic soy broth) durante 24 h a 28 °C en un agitador orbital a 150 rpm, luego las células se cosecharon por centrifugación a 8000 x g y se

resuspendieron en agua destilada estéril a una concentración 1×10^7 UFC•mL⁻¹ y 1×10^8 UFC•mL⁻¹ (Pulido Jiménez, 2016), previo a la inoculación en una variedad criolla de *Z. mays* L. llamada Campeón, de la región Frailesca, Chiapas, México. La determinación de la población bacteriana se realizó con la técnica del Número Más Probable (NMP) (Ranganayaki *et al.*, 2006). Las cepas fueron donadas por el Laboratorio del Departamento de Entomología y Patología Vegetal de la Universidad de Alburn Estados Unidos.

Tratamientos

Para la determinación de los tratamientos se empleó un diseño de bloques al azar, para cinco tratamientos, cuatro de ellos experimentales y un testigo, cada tratamiento constó de 18 repeticiones, el experimento tuvo una duración de 40 días contados a partir de la siembra de las semillas. Los procesos de preparación del inóculo, desinfección de semilla e inoculación se describen mas adelante.

Tabla 1. Tratamientos para la determinación del efecto de la aplicación de las cepas IN937b y GBO3 de *B. subtilis* en plantas de *Z. mays*.

Tratamientos	<i>Bacillus subtilis</i>	Concentraciones	Unidades Experimentales
T1	GB03	10^7 UFC•mL ⁻¹	18
T2	GB03	10^8 UFC•mL ⁻¹	18
T3	IN937b	10^7 UFC•mL ⁻¹	18
T4	IN937b	10^8 UFC•mL ⁻¹	18
T5	TESTIGO	Agua destilada	18

Las soluciones bacterianas se aplicaron en tres fases, la primera fue la inoculación previa a la siembra de las semillas, la segunda 15 días posteriores a la siembra, ésto durante la etapa de trasplante a macetas y la tercera fue 30 días posteriores a la siembra, los procedimientos de inoculación, siembra y trasplante se detallan más adelante.

Desinfección e inoculación de la semilla

Se realizó la selección de semillas de tamaño similar, para posteriormente desinfectarlas mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio comercial (Cloralex®) al 6% durante 2 min, en agitación constante para favorecer el contacto del agente de esterilización. Una vez finalizada la agitación se retiró el hipoclorito de sodio por decantación, y se realizaron tres lavados con agua destilada estéril con una duración de 1 min cada uno (Canto-Martín *et al.*, 2004; Reyes *et al.*, 2008).

Una vez desinfectadas las semillas, se sumergieron en 500 mL de la solución bacteriana o en agua destilada de acuerdo al tratamiento, durante 20 min, posterior a ello las semillas se sembraron a 3 cm de profundidad en charolas de germinación de 70 cavidades (cavidad 6 cm de diámetro por 15 cm de profundidad) con 1 semilla por cavidad; el sustrato empleado fue Peat moss (Premier®) previamente esterilizado en autoclave a 15 PSI durante 15 minutos y humedecido con agua corriente, finalizada la siembra se agregaron 5 mL de la solución respectiva al tratamiento de cada semilla. Las charolas se llevaron a un invernadero tipo capilla de 9 m de ancho, con una altura de 3 m al canalón y 4.5 m al zenit con cubierta plástica y malla sombra del 40%, con una temperatura máxima de 30°C, una mínima de 20 °C y humedad relativa del 65%, las charolas se colocaron en estructuras metálicas que las mantuvieron separadas del suelo, el riego se realizó manualmente hasta el trasplante (Canto-Martín *et al.*, 2004; García-Olivares *et al.*, 2007).

Trasplante

A los 15 días posteriores a la siembra, las plantas de *Z. mays* se trasplantaron a macetas de plástico de 20 cm de diámetro por 15 cm de profundidad, el sustrato empleado consistió en 50% de Peat moss (Premier®) y 50% de tierra negra previamente esterilizados en autoclave a 15 PSI durante 15 minutos (Sánchez-López *et al.*, 2012).

Al momento del trasplante las raíces de cada planta fueron sumergidas durante 1 min en la solución respectiva a su tratamiento; una vez trasplantadas se aplicaron 10 mL de solución correspondiente junto al tallo. Las macetas se colocaron en estructuras metálicas en invernadero y se regaron manualmente de forma homogénea con 300 mL de agua por unidad experimental, con un intervalo de 3 días; 15 días después del trasplante se aplicaron 10 mL de la solución del tratamiento correspondiente.

Una vez finalizado el periodo de 40 días posteriores a la siembra de las semillas, se retiraron manualmente las plantas de las macetas y removieron los restos de sustrato sacudiendo las raíces cuidadosamente, para posteriormente medir los siguientes parámetros (Tabla 2).

Tabla 2. Parámetros y criterios de medición del crecimiento en *Z. mays* L.

Parámetros	Método
1.- Longitud del tallo/parte aérea (cm)	Se midió desde la base del tallo hasta el ápice de la hoja más nueva, con un vernier digital Traceable®
2.- Longitud de raíz (cm)	Se midió desde la base de las raíces hasta la punta de la raíz más larga, con un vernier digital Traceable®
3.- Diámetro del tallo (cm)	Se midió el diámetro basal del tallo con un vernier digital Traceable®
4.- Peso fresco del tallo/parte aérea (g)	Se determinó pesando el tallo con sus hojas en una balanza analítica Ohaus®.
5.- Peso fresco de la raíz (g)	Se determinó retirando los residuos de sustrato del sistema radical para después pesar todas las raíces en una balanza analítica Ohaus®.
6.- Peso Total (g)	Se determinó pesando la parte aérea y el sistema radical de cada planta con una balanza analítica Ohaus®.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de Kruskal-Wallis ($p \leq 0.05$) debido a que no presentaban homogeneidad de varianza, aunado a lo anterior se aplicó un contraste múltiple de rangos LSD mediante el programa Statgraphics Centurion XV.

RESULTADOS

En el presente estudio se observó que las cepas *B. subtilis* GBO3 y IN937b presentan efectos sobre el crecimiento general de plántulas de *Z. mays* (Tabla 3), obteniéndose pesos de raíz de 7.3 y 6.67 g para los tratamientos 2 y 3, respectivamente (cepas GBO3 1×10^8 UFC•mL⁻¹ y IN937b 1×10^7 UFC•mL⁻¹), superando los 3.54 g del testigo, si bien existió un mayor peso en las raíces de las plántulas, esto no se vio reflejado en su longitud ($P=0.2532$).

En lo referente al peso del tallo, la totalidad de los tratamientos experimentales presentaron una media significativamente superior al testigo siendo los tratamientos 2 y 3 los de mayor peso con 3.99 y 4.62 g, respectivamente, mientras que el testigo presentó un peso de 3.04 g, por otra parte para el diámetro del tallo el único tratamiento estadísticamente diferente del testigo fue el tratamiento 3, con un promedio de 0.6 cm, que representa un incremento del 20% respecto al tratamiento testigo, los resultados obtenidos muestran además un incremento en el peso total, siendo los tratamientos 2 y 3 los mayores, ambos con 11.29 g, mismos que equivalen a un incremento del 72% respecto a los 6.58 g del testigo (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto de las cepas GBO3 y IN937b de *B. subtilis* en el crecimiento de plantas de *Z. mays*.

Tratamiento	Longitud de raíz (mm)	Peso de raíz (g)	Longitud de tallo (mm)	Diámetro de tallo (mm)	Peso de tallo (g)	Peso total (g)
T1	67.92±20.84 a	6.03±2.36 bc *	18.6±1.98 ab	0.51±0.08 a	3.8 ±1.13 b*	9.84±3.23 b*
T2	82.75±17.77 c	7.3±2.02 c *	21.6±3.86 cd	0.54±0.07 ab	3.99±0.84 bc*	11.29±2.34 b*
T3	75.96±13.67 bc	6.67±1.39 bc *	23.67±3.15 d*	0.6±0.06 b*	4.62±0.65 c*	11.29±1.57 b*
T4	78.17±21.08 bc	5.95±1.37 b *	16.51±3.44 a*	0.51±0.09 a	3.95±0.97 b*	9.91±2.05 b*
T5	73.03±18.32 bc	3.54±1.41 a	19.97±4.18 bc	0.5±0.05 a	3.04±0.67 a	6.58±1.79 a

Medias con letras diferentes pertenecen a grupos estadísticamente heterogéneos (Tukey, $\alpha=0.05$). Los valores después del signo \pm corresponden a la desviación estándar de la media. * Diferencias estadísticamente significativas con respecto al testigo, mediante contraste múltiple de Duncan.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos señalan que las cepas *B. subtilis* GBO3 y IN937b, presentan efecto sobre el peso de las raíces de *Z. mays*, obteniéndose un peso significativamente mayor ($P=5.5 \times 10^{-6}$), sin embargo en la longitud de la raíz no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P=1.661$). El incremento en peso de la raíz coincide con los resultados reportados por Rodríguez-Hernández *et al.*, (2020) quienes obtuvieron un mayor peso fresco, ésto podría deberse a que de acuerdo con lo referido por García *et al.*, (2015) las cepas tienen la capacidad de solubilizar fosfatos, produciendo un aumento en el crecimiento y el contenido de fósforo en los tejidos de las plantas. Otros estudios han caracterizado bacterias endofíticas de raíces de *Z. mays* entre ellas *Bacillus* sp. cuyas cepas presentan características positivas en la fijación de nitrógeno mediante la caracterización del gen 16S rDNA, donde cuatro cepas presentan características positivas para la producción de nitrógeno (Rodríguez-Hernández *et al.*, 2020).

Por otra parte la cepa GBO3 ha sido reportada como una cepa con la capacidad de producir compuestos orgánicos implicados en la interrupción de la producción de etileno mediante la enzima 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) desaminasa, (Choudhary *et al.*, 2011), la interrupción en la producción del etileno permite mejorar el crecimiento general de las plantas al aumentar su capacidad de fitoextracción y mejorar la movilidad de los metales pesados y aumentar su biodisponibilidad mediante la liberación de agentes quelantes, acidificación, solubilización de fosfato y cambios redox (Parray *et al.*, 2016), además de evitar la generación de etileno y con ello los procesos de senescencia derivados del mismo. Por lo que, la inhibición del etileno es en sí un estímulo para el crecimiento. Por tanto, el incremento general del peso de la planta es el resultado de este conjunto de estímulos.

Lo anterior concuerda con lo observado en otros órganos, ya que el crecimiento de las plantas inoculadas fue mayor en la longitud ($P=1.4 \times 10^{-5}$), diámetro ($P=1.9 \times 10^{-5}$) y peso de los tallos ($P=1.9 \times 10^{-5}$). Estos resultados concuerdan con lo reportado por García *et al.*, (2015), quienes lograron incrementar la longitud y peso seco del tallo de *Z. mays* mediante el empleo de especies del género *Bacillus*. De igual manera Rojas-Badía *et al.*, (2020), emplearon cepas de *Bacillus* en *Z. mays* obteniendo plantas con mayor vigor.

Uno de los compuestos más importantes para la obtención de plantas vigorosas es el nitrógeno, en este sentido se ha demostrado que los efectos benéficos de los microorganismos rizosféricos están relacionados con la fijación del mismo, en el caso del género *Bacillus*, se consideran fijadores de dinitrógeno, por lo que se utilizan en la promoción del crecimiento de plantas de maíz, además, Rojas *et al.* (2016) demostraron que la totalidad de las cepas de *Bacillus* de su estudio presentaron capacidad para crecer en medios carentes de nitrógeno y fijarlo, permitiendo así obtener plantas más vigorosas.

CONCLUSIONES

A nivel de invernadero las inoculaciones de *B. subtilis* cepas GBO3 y IN937b presentan efectos estimuladores en el crecimiento de plantas de *Z. mays*, de la variedad Campeón de la región Frailesca, Chiapas, México incrementando el peso total, el peso fresco en raíz y la longitud, diámetro y peso fresco en tallo. Siendo cepas promisorias para la promoción del crecimiento vegetal.

LITERATURA CITADA

- Agbodjato, A. N., Noumavo, A. P., Amogou, O., Adoko, M., Dagbenonbakin, G., Falcon-Rodriguez, A., De La Noval Pons, M. B., Adjanohoun, A., & Baba-Moussa, L. (2018). Impact de l'utilisation des Rhizobactéries Promotrices de la Croissance des Plantes (PGPR) en combinaison avec le chitosane sur la croissance et le rendement du maïs (*Zea mays* L.) sur sol ferrallitique au Sud-Bénin. *Microbiological Research*, 4(0), 395–407.
- Ahmad, M., Adil, Z., Hussain, A., Mumtaz, M. Z., Nafees, M., Ahmad, I., & Jamil, M. (2019). Potential of phosphate solubilizing bacillus strains for improving growth and nutrient uptake in mungbean and maize crops. *Pakistan Journal of Agricultural Sciences*, 56(2), 283–289. <https://doi.org/10.21162/PAKJAS/19.7285>
- Amogou, O., Dagbénonbakin, G., Agbodjato, N. A., Noumavo, P. A., Salami, H. A., Valère, S., Aguegue, R. M., Assogba, S. A., Djihal, K. F., & Adjanohoun, A. (2018). Influence of Isolated PGPR Rhizobacteria in Central and Northern Benin on Maize Germination and Greenhouse Growth. *American Journal of Plant Sciences*, 9(13), 27775–2793.
- Basu, A., Prasad, P., Das, S. N., Kalam, S., Sayyed, R. Z., Reddy, M. S., & Enshasy, H. El. (2021). Plant growth promoting rhizobacteria (Pgpr) as green bioinoculants: Recent developments, constraints, and prospects. *Sustainability (Switzerland)*, 13(3), 1–20. <https://doi.org/10.3390/su13031140>
- Bhardwaj, G., Shah, R., Joshi, B., & Patel, P. (2017). Klebsiella pneumoniae VRE36 as a PGPR isolated from *Saccharum officinarum* cultivar Co99004. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(01), 047–052.
- Canto-Martín, J. C., Medina-Peralta, S., & Morales Avelino, D. (2004). Efecto de la inoculación con *Azospirillum* sp. en plantas de chile habanero (*Capsicum chinense* Jacquin). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 4, 21–27.
- Choudhary, D. K., Sharma, K. P., & Gaur, R. K. (2011). Biotechnological perspectives of microbes in agro-ecosystems. *Biotechnol Lett*, 33, 1905–1910.

Recibido:
31/marzo/2021

Aceptado:
4/enero/2022

- Ferreira, N. C., Mazzuchelli, R. de C. L., Pacheco, A. C., de Araujo, F. F., Antunes, J. E. L., & de Araujo, A. S. F. (2018). *Bacillus subtilis* improves maize tolerance to salinity. *Ciencia Rural*, 48(8), 6–9. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170910>
- García-olivares, J., Moreno-Medina, V., Rodríguez-Luna, I., Mendoza-Herrera, A., & Mayek-Pérez, N. (2007). Efecto de cepas de *Azospirillum brasilense* en el crecimiento y rendimiento de maíz. *Fitotec*, 30(3), 305–310.
- García, R. A., Lovaisa, N. C., & Ulla, E. L. (2015). Aislamiento y caracterización de bacterias solubilizadoras de fosfatos del Noroeste Argentino y su efecto en la promoción de crecimiento en maíz (*Zea mays* L.). *Revista Agronómica Del Noroeste Argentino*, 35(1), 13–28.
- Kloepper, J., Schroth, M., & T, M. (1980). “Effects of rhizosphere colonization by plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield”. *Phytopathology*. *Phytopathology*, 70, 1078–1082.
- Kumar, P., Pahal, V., Gupta, A., Vadhan, R., Chandra, H., & Dubey, R. C. (2020). Effect of silver nanoparticles and *Bacillus cereus* LPR2 on the growth of *Zea mays*. *Scientific Reports*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77460-w>
- Parry, J. A., Jan, S., Kamili, A. N., Qadri, R. A., Egamberdieva, D., & Ahmad, P. (2016). Current Perspectives on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(3), 877–902. <https://doi.org/10.1007/s00344-016-9583-4>
- Pulido Jiménez, A. C. (2016). *Evaluación del efecto de Bacillus subtilis EA-CB0575 en la promoción de crecimiento de Zea mays y Solanum lycopersicum a nivel de invernadero* [Universidad EAFIT]. <http://hdl.handle.net/10784/9735>
- Ranganayaki, N., Tilak, K., Manoharachary, C., & Mukerji, K. (2006). Methods and Techniques for Isolation, Enumeration and Characterization of Rhizosphere Microorganisms. In K. Mukerji, C. Manoharachary, & J. Singh (Eds.), *Microbial Activity in the Rhizosphere* (pp. 17–38). Springer.
- Reyes, I., Alvarez, L., El-Ayoubi, H., & Valery, A. (2008). Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimentón y maíz. *Bioagro*, 20(1), 37–48.
- Rodríguez-Hernández, M. G., Gallegos-Robles, M. Á., Rodríguez-Sifuentes, L., Fortis-Hernández, M., Guadalupe Luna-Ortega, J., & González-Salas, U. (2020). Native *Bacillus* spp. Strains as sustainable alternative in the yield of corn forage. *Terra Latinoamericana*, 38(2), 323–331. <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.690>
- Rojas-Badía, M. M., Bello-González, M. A., Ríos-Rocafull, Y., Lugo-Moya, D., & Rodríguez Sánchez, J. (2020). Utilización de cepas de *Bacillus* como promotores de crecimiento en hortalizas comerciales. *Acta Agronómica*, 69(1), 54–60. <https://doi.org/10.15446/acag.v69n1.79606>
- Rojas, M. M., Tejera, B., Bosh, D. M., Ríos, Y., Rodríguez, J., & Heydrich, M. (2016). Potencialidades de cepas de *Bacillus* para la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.). *Cuban Journal of Agricultural Science*, 50(3), 485–496.
- Sánchez-López, D. B., Gómez-Vargas, R. M., Garrido-Rubiano, M. F., & Bonilla-Buitrago, R. R. (2012). Inoculación con bacterias promotoras de crecimiento vegetal en tomate bajo condiciones de invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 3(7), 1401–1405.

**CONHECIMENTO BOTÂNICO
TRADICIONAL DE MATEIROS EM
COMUNIDADES RURAIS DA REGIÃO DA
SERRA DAS ALMAS, PARANÁ - BR**

**CONOCIMIENTO BOTÁNICO TRADICIONAL
DE SILVICULTORES EN COMUNIDADES
RURALES DE LA REGIÓN SERRA DAS
ALMAS, PARANÁ – BR**

**TRADITIONAL BOTANICAL KNOWLEDGE
OF MATEIROS IN RURAL COMMUNITIES IN
THE SERRA DAS ALMAS REGION, PARANÁ - BR**

Ferreira Clarindo, M.; A. Staniski y J. Strachulski.

CONHECIMENTO BOTÂNICO TRADICIONAL DE MATEIROS EM
COMUNIDADES RURAIS DA REGIÃO DA SERRA DAS ALMAS, PARANÁ – BR.

CONOCIMIENTO BOTÁNICO TRADICIONAL DE SILVICULTORES EN
COMUNIDADES RURALES DE LA REGIÓN SERRA DAS ALMAS, PARANÁ – BR.

TRADITIONAL BOTANICAL KNOWLEDGE OF MATEIROS IN RURAL
COMMUNITIES IN THE SERRA DAS ALMAS REGION, PARANÁ – BR.



CONHECIMENTO BOTÂNICO TRADICIONAL DE MATEIROS EM COMUNIDADES RURAIS DA REGIÃO DA SERRA DAS ALMAS, PARANÁ - BR

CONOCIMIENTO BOTÁNICO TRADICIONAL DE SILVICULTORES EN COMUNIDADES RURALES DE LA REGIÓN SERRA DAS ALMAS, PARANÁ – BR.

TRADITIONAL BOTANICAL KNOWLEDGE OF MATEIROS IN RURAL COMMUNITIES IN THE SERRA DAS ALMAS REGION, PARANÁ – BR.

Ferreira Clarindo, M.;
A. Staniski
y J. Strachulski.

CONHECIMENTO
BOTÂNICO TRADICIONAL
DE MATEIROS EM
COMUNIDADES RURAIS DA
REGIÃO DA SERRA DAS
ALMAS, PARANÁ - BR

CONOCIMIENTO
BOTÂNICO TRADICIONAL
DE SILVICULTORES EN
COMUNIDADES RURALES
DE LA REGIÓN SERRA DAS
ALMAS, PARANÁ – BR.

TRADITIONAL BOTANICAL
KNOWLEDGE OF
MATEIROS IN RURAL
COMMUNITIES IN THE
SERRA DAS ALMAS
REGION, PARANÁ – BR.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 219-238. Enero 2022

DOI:
10.18387/polibotanica.53.15

M. Ferreira Clarindo / maxclarindo@hotmail.com

A. Staniski

J. Strachulski

Universidade Estadual de Ponta Grossa
Centro, Ponta Grossa, Brasil

RESUMO: Este artigo tem por objetivo central analisar os conhecimentos botânicos tradicionais de mateiros em três comunidades rurais inseridas em uma região socialmente identificada como Serra das Almas, Estado Paraná – Brasil. A região estudada está posicionada dentro do Bioma Mata Atlântica, em local de ocorrência da Floresta Ombrófila Mista Montana a Floresta com Araucária. Nela, há comunidades faxinalenses, remanescentes quilombolas e pequenos agricultores disputando espaço em meio ao avanço do agronegócio na região. Valendo-se da técnica da bola de neve, foram realizadas entrevistas semiestruturadas com total de cinco pessoas de três comunidades da região. Após as entrevistas, realizou-se a coleta de material botânico por meio da turnê guiada pelos diversos estágios sucessionais da mata. Foram coletadas 103 espécies, as quais foram identificadas junto ao herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Os dados revelam que as comunidades em questão têm seus modos de vida indissociáveis da natureza. Detectou-se que além da apropriação material há também a simbólica, em face das múltiplas validades conferidas às espécies vegetais da região: alimentares, religiosas, de cura, para construção de artefatos, dentre outras. São outras cognições perpetuando-se e que podem contribuir para suplantar a crise do modelo civilizatório no contexto de modernidades múltiplas e para reflexionar a devastação da natureza, se tiverem suas significações ampliadas.

Palavras-chave: Conhecimentos tradicionais; Floresta de Araucárias; Mateiros; Benzedeiras.

ABSTRACT: This article analyzes the traditional botanical knowledge of foresters in three rural communities located in a region socially identified as Serra das Almas, Paraná State – Brazil. The studied region is located within the Atlantic Forest Biome, in a place of occurrence of the Montana Mixed Ombrophilous Forest to Araucaria Forest. In it, there are *faxinalense* communities, *quilombola* remnants and small farmers vying for space amid the advance of agribusiness in the region. Using the snowball technique, semi-structured interviews were carried out with a total of five people from three communities in the region. After the interviews, botanical material was collected through a guided tour through the various stages of the forest 103 species were collected, which were identified at the herbarium of the State University of Ponta Grossa. The data reveal that the communities in question have their ways of life inseparable from nature. It was detected that, in addition to material appropriation, there is also a symbolic one, given the multiple validity given to plant species in the region: food, religious, healing, for the construction of artifacts, among others. There are other cognitions perpetuating them and that can contribute to overcoming the crisis of the

civilization model in the context of multiple modernities and to reflecting on the devastation of nature, if their meanings are expanded.

Keywords: Traditional knowledge; Araucaria Forest; Foresters; *Benzedeiras*.

RESUMEN: Este artículo analiza el conocimiento botánico tradicional de los forestales en tres comunidades rurales ubicadas en una región socialmente identificada como Serra das Almas, Estado de Paraná - Brasil. La región estudiada se encuentra dentro del Bioma del Bosque Atlántico, en un lugar de ocurrencia del Bosque Mixto Ombrófilo de Montana al Bosque de Araucaria. En él, hay comunidades *faxinalenses*, remanentes quilombolas y pequeños agricultores que compiten por el espacio en medio del avance de la agroindustria en la región. Mediante la técnica de bola de nieve se realizaron entrevistas semiestructuradas a un total de cinco personas de tres comunidades de la región. Luego de las entrevistas, se recolectó material botánico a través de una visita guiada por las distintas etapas del bosque. Se recolectaron 103 especies, las cuales fueron identificadas en el herbario de la Universidad Estatal de Ponta Grossa. Los datos revelan que las comunidades en cuestión tienen sus formas de vida inseparables de la naturaleza. Se detectó que, además de la apropiación material, también existe una simbólica, dada la múltiple validez que se le da a las especies vegetales en la región: alimenticia, religiosa, curativa, para la construcción de artefactos, entre otras. Hay otras cogniciones que se perpetúan y que pueden contribuir a superar la crisis del modelo de civilización en el contexto de múltiples modernidades y a reflexionar sobre la devastación de la naturaleza, si se amplían sus significados.

Palabras clave: conocimiento tradicional; Bosque de Araucarias; Silvicultores; *Benzedeiras*.

INTRODUÇÃO

Este artigo tem por objetivo central analisar os conhecimentos botânicos tradicionais de mateiros em comunidades rurais da região da Serra das Almas, Paraná – Brasil. Os estudos que abordam os saberes ecológicos tradicionais, como os de mateiros, caboclos, caipiras, entre outros, se inserem no âmbito das etnociências (em especial da etnobotânica) que busca delimitar como objeto de estudo os sistemas de classificações vernaculares de natureza. Os dados aqui relacionados são um compêndio de diferentes trabalhos desenvolvidos pelos autores entre os anos de 2014 e 2016 nas comunidades em epígrafe e que ainda não haviam sido reunidos e publicados. Trata-se de uma junção teórico-prática de um “almanaque” de saberes vernaculares, que tem por palco a relação sociedade/natureza, cuja apresentação se dá coordenada pelo olhar da ciência geográfica.

Conforme (Sturtevant, 1964, p. 475-476) “[...] etnobotânica é uma concepção cultural específica sobre o mundo vegetal [...]” com modos particulares de classificar seu universo material e social. Cada indivíduo apresenta uma forma de se relacionar com o ambiente em que vive, é influenciado por vários fatores que são tanto culturais, advindos dos costumes e transmissão de conhecimentos como também físicos, características singulares de relevo, clima, vegetação. Na mesma linha, Oliveira *et. al.* (2009) ao retratarem o avanço das pesquisas etnobotânicas no Brasil no período entre 1968 e 2007 apontam para a interdisciplinaridade da temática e chancelam que no país, tal qual ocorre com os demais países em desenvolvimento, os estudos acompanham a diversidade cultural, relacionando-se com o saber-fazer da população. Destarte, a etnobotânica é, por excelência, um campo interdisciplinar que coloca em órbita diferentes áreas do saber por meio da perspectiva cultural, especialmente interessado nos saberes tradicionais.

Segundo Diegues e Arruda (2000, p. 30) o conhecimento tradicional pode ser “definido como o conjunto de saberes e um saber-fazer a respeito do mundo natural, sobrenatural, transmitido oralmente de geração em geração”. Esse saber-fazer está ligado a um conjunto de conhecimentos advindos do senso comum e das relações sociais. Resulta dos vínculos de

solidariedade, está em constante transformação, pois é enriquecido com as experiências individuais. Assim, o conhecimento tradicional atua em escalas: cultural (saber total), regional (território), comunitária (espaço apropriado por comunidade), doméstica (familiar) e individual (Toledo; Barrera-Bassols, 2008).

Referem-se a um complexo campo de relações sobre elementos naturais, sua dinâmica, seu potencial utilitário. Oliveira *et al.* (2009) apõem também que os saberes etnobotânicos servem às comunidades periféricas como uma potente ferramenta para geração de renda e aprimoramento da sustentabilidade ambiental. Assim, tais comunidades valem-se de estratégias que manipulam a paisagem natural, por meio dos diversos usos de espécies nativas ligadas às relações sociais, como: as festividades, sistemas de troca, costumes repassados ao longo das gerações. (Toledo; Barrera-Bassols, 2008). Em síntese, esses “[...] conhecimentos têm um valor substancial para clarificar as formas como os produtores tradicionais percebem, concebem e conceituam os recursos, paisagens.” (Toledo *et al.*, 2008, p. 35).

Destaca-se a importância destes conhecimentos na manutenção das áreas florestadas e manejo das espécies. Conforme análise de áreas de diferentes comunidades tradicionais, Moro *et al.* (2018) concluem que a conservação de criadouros comunitários colabora para a conservação do Bioma da Mata Atlântica.

Nas comunidades de onde provêm os mateiros estudados, dentre as principais atividades que garantem a sobrevivência, elas adotam um peculiar modelo de agricultura familiar, quando evidenciam que suas relações com a natureza é mais que uma questão de sobrevivência, é uma relação de pertencimento com a paisagem. Dentre os moradores, se destacam alguns atores sociais de grande relevância para toda a região. Alguns são conhecidos como benzedores, associados ao ‘dom’ da medicina popular. Outros se destacam pelas habilidades em se locomover em meio à mata, alguns em encontrar solos férteis para cultivo, outros ainda na coleta e preparo de medicinais, outros sabem em que período e qual a melhor madeira para construir casas, artefatos etc.

Conhecendo as plantas, esses agentes, aqui denominados mateiros, atuam também como médicos populares em suas comunidades. Estes atores sociais reúnem especialidades de benzedor, mateiro e vidente - prática em que é necessário possuir um dom específico (conferido por forças sobrenaturais) de modo que esse saber só é transmitido para as pessoas que sejam identificadas com esse dom (Borchardt; Colvero, 2013).

Caracterização da área estudada

A Região da Serra das Almas se encontra dentro do Bioma Mata Atlântica, em local de ocorrência da Floresta Ombrófila Mista Montana a Floresta com Araucária (VELOSO *et al.*, 1991). Pode apresentar variadas fisionomias devido aos diferentes estágios sucessionais que envolvem toda a área estudada, condicionados à diversidade geológica, pedológica, de relevo e de uso (Moro; Lima, 2012).

A denominação Região Serra das Almas tem a origem associada à paisagem em uma área que se encontra o limite dos municípios na zona rural de Palmeira, Campo Largo e Ponta Grossa, entre o Primeiro e Segundo Planalto no Estado do Paraná e situada nas proximidades da Escarpa Devoniana. Serra das Almas é como as pessoas denominam a região em que se inserem, sem uma razão histórica para tal.

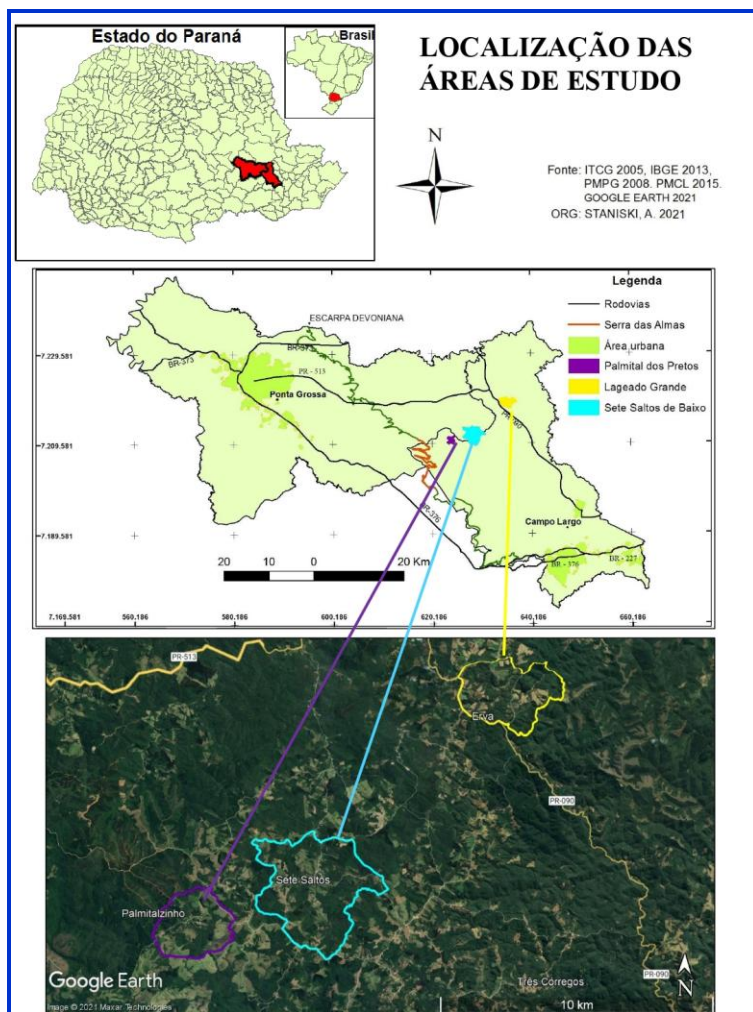


Fig. 1. Localização da área de estudo.

As comunidades do Faxinal Sete Saltos de Baixo, localizada no município de Ponta Grossa e a comunidade Lageado Grande, localizada no município de Campo Largo, apresentam como característica espaços de uso coletivo, a área de criadouro de animais, onde estão também as moradias e os remanescentes da vegetação (Lowen Sahr; Iegelski, 2003). O criadouro é separado por valos e cercas das áreas de plantar, constituídas por parcelas de terras particulares com cultivo de milho, feijão, mandioca e outros gêneros alimentícios (Lowen Sahr; Iegelski, 2003). A comunidade Quilombola Palmital dos Pretos, localizada no município de Campo Largo, encontra-se em área íngreme, relativamente distante das demais, da qual retiram seu sustento da agricultura de subsistência (Celinski, 2010). Não há dados demográficos precisos da área em questão, haja vista que o último CENSO foi realizado no ano de 2010 e há um acentuado êxodo rural ocasionado especialmente pela expansão do agronegócio na região. Desta forma, os mais jovens da região pendem a migrar para a cidade em busca de trabalho.

MATERIAIS E MÉTODOS

Após o contato inicial com os moradores das comunidades da região da Serra das Almas e a indicação dos potenciais informantes, foram realizadas as entrevistas semiestruturadas. A partir de cada entrevistado, foram citados outros nomes para serem entrevistados, inclusive

envolvendo o intercâmbio com pessoas de comunidades distintas. Fala-se da técnica conhecida como bola de neve, quando as citações prosseguem até que as histórias comecem a se repetir, dando-se por exauridas as fontes de pesquisa. (Bailey, 1994 *apud* Albuquerque *et al.*, 2010).

Realizou-se também o emprego das etnometodologias conjugadas com algumas das ferramentas do Diagnóstico Rural Participativo – DRP (Verdejo, 2006), como o diagrama de Venn, a matriz de priorização de problemas, a construção de representações cartográficas com os entrevistados, a Matriz de Organização Comunitária, baseada na "FOFA" (Fortalezas, Debilidades, Oportunidades e Ameaças). A partir do contato com a comunidade, foram identificados os "informantes-chave", isto é, sujeitos que participam de forma mais intensa da pesquisa (Albuquerque *et al.*, 2010). Indivíduos que são referências pelos seus saberes a respeito do ambiente local e pela experiência acumulada com plantas medicinais, todos homens, quais sejam: Informante A (59 anos) e Informante B (68 anos), moradores da comunidade Lageado Grande; Informante C (63 anos) e Informante D (92 anos) da comunidade faxinal Sete Saltos de Baixo e Informante E (67 anos) da comunidade quilombola Palmital dos Pretos. A pesquisa ocorreu no período de 2014 a 2016.

Realizou-se a coleta de material botânico por meio da turnê guiada (Albuquerque *et al.*, 2010), em uma caminhada com os informantes pela mata, buscando-se informações referentes ao conhecimento das espécies que se fazem presente e os usos de cada uma, complementando informações das entrevistas. A caminhada pela mata foi realizada individualmente com cada informante, que foi identificando as espécies, as quais foram coletadas e encaminhadas ao herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa, onde ocorreu a identificação de seu nome científico.

Os mateiros e a identificação das espécies arbóreas

Cada mateiro tem uma forma particular de se relacionar com o meio em que vive, guiados por valores humanos, religiosidade, solidariedade, modos de vida e características culturais diversas atreladas à sua localidade. Os mateiros das comunidades rurais da região da Serra das Almas não se autoidentificam como mateiros, mas possuem práticas que refletem os seus conhecimentos acerca dos ecossistemas locais e das espécies da floresta. Conforme Da Silva; Marangon e Alves (2011) o termo mateiro é comumente utilizado para denominar os experientes conhecedores locais dos ambientes florestais, os quais possuem habilidades específicas que constituem o que pode ser entendido como o saber mateiro.

Os saberes mateiros são diversos, estão relacionados aos processos naturais, à mata, ao solo, aos organismos vivos do ambiente local. Com a imersão e a observação participante na comunidade percebeu tratar-se de um conhecimento ágrafo, não necessita da escrita para sua transmissão, que ocorre de forma empírica, com a prática, na vivência, no cotidiano dos que buscam aprender, por meio dos itinerários compartilhados pelos anciões, em que plantas, formas de relevo e processos naturais funcionam como referências, determinando o calendário religioso, festivo e de cultivos.

A partir da turnê guiada foi possível identificar as espécies conhecidas e/ou manejadas localmente pelos mateiros da região. Além do nome popular, o mateiro passava outras informações como os usos atribuídos às espécies, tipo de ambiente a que pertenciam, se era mais úmido ou seco, e se a espécie era de crescimento rápido ou mais difícil de ser encontrada.

Identificou-se que eles usavam vários atributos para reconhecer a espécie, dentre eles estão as características das folhas, formato dos galhos, em seguida a cor do tronco, tipo da casca e cheiro da madeira. De acordo com Marchiori (1995), a identificação das espécies por mateiros, agricultores e outros agentes detentores de saberes tradicionais engloba elementos considerados secundários para a sistemática clássica, em especial a cor, aspecto da casca e os odores que exalam das cascas, folhas e outras partes vegetais. Entretanto, esses atributos seriam os mais

empregados pelos saberes locais para identificar as espécies mais significativas e que lhes possibilitam maiores alternativas para suprir suas necessidades.

RESULTADOS

Durante a caminhada com os mateiros foram coletadas 103 espécies com onze categorias de usos (madeira, medicinal, aromático, lenha, brinquedo, alimento, ornamental, religioso, utensílios, artesanato e uso não definido). O principal uso apontado foi o da madeira com 54 citações, seguido pelo alimento com 40 aparições, a lenha com 39, as de uso não definido totalizando 34 e 23 empregos medicinais (tabela 1). O uso madeira, que se refere à construção, como categoria mais representativa do saber botânico tradicional dos mateiros, também aparece em outros trabalhos, como de Botrel *et al.* (2006).

Tabela 1. Espécies identificadas durante a caminhada realizada com os mateiros e seus respectivos usos.

Nome popular	Nome científico	Usos citados pelos mateiros				
		Informante E	Informante C	Informante D	Informante A	Informante B
Açoita cavalo	<i>Luehea divaricata</i> Mart.	Não Possui	Madeira	X	X	Madeira
Aleluia	<i>Tibouchina sellowiana</i> Cogn	X	X	X	Ornamenta l Religiosa	Ornamental Religiosa
Angico	<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan	X	X	X	Lenha	Madeira Lenha
Araçá	<i>Psidium longipetiolatum</i> D.Legrand	Alimento	X	X	X	X
Araçá	<i>Psidium</i> sp.	X	X	Alimento	X	X
Araçá do campo	<i>Psidium australe</i> Cambess.	X	X	Alimento	X	X
Ariticum	<i>Annona sylvatica</i> A.St.-Hil.	Alimento	X	X	X	X
Aroeira	<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi	Medicinal e Madeira	Madeira	Madeira	Madeira	Madeira
Bracatinga	<i>Mimosa scabrella</i> Benth.	X	Lenha	X	Lenha	Lenha
Cabriúva	<i>Myrcarpus frondosus</i> Allemao	Medicinal	Medicinal	X	Medicinal	X
Cafeeiro do mato*	<i>Eriosema glabrum</i> Benth.	X	X	Medicinal	X	X
Cafeeiro, Cafezeiro ou Guaçatunga Preta	<i>Casearia sylvestris</i> Sw	Alimento	X	X	Não Possui	Lenha
Caingá	<i>Calyptanthes grandiflora</i> O.Berg	X	X	X	X	Madeira
Caingá	<i>Myrcia hatschbachii</i> D.Legrand	Não Possui	X	X	X	X
Cajaranda	<i>Cabralea canjerana</i> (Vell) Mart.	X	X	X	Madeira	Madeira
Cambuí	<i>Calycorectes psidiiflorus</i> O. Berg	Utensílios	X	Lenha	X	Lenha
Canela	<i>Cryptocarya aschersoniana</i> Mez.	X	X	X	Madeira	Lenha

Nome popular	Nome científico	Usos citados pelos mateiros				
		Informante E	Informante C	Informante D	Informante A	Informante B
Canela amarela	<i>Nectandra lanceolata</i> Nees & Mart.	X	X	Lenha	X	X
Canela Amarela	<i>Nectandra oppositifolia</i> Nees & Mart.	X	X	X	X	Lenha
Canela de alho ou pau de alho ou Capororoca	<i>Myrsine ferruginea</i> (Ruiz & Pav.) Spreng.	Não Possui	Lenha	Não Possui	X	X
Canela Guaicá	<i>Ocotea puberula</i> (Rich.) Nees	X		Não Possui	Não Possui	X
Canelinha	<i>Ocotea pulchella</i> (Nees) Mez	X	Madeira		X	X
Carandá	<i>Dalbergia brasiliensis</i> Vogel	X	X	X	X	Madeira Lenha
Carne de vaca	<i>Clethra scabra</i> Pers	X	Não Possui	X	Madeira e Lenha	Lenha
Carova	<i>Jacaranda micrantha</i> Cham.	X	X	Medicinal	Não Possui	X
Carvalinho	<i>Casearia</i> sp	Madeira Lenha	X	X	X	X
Cataia ou Casca de anta	<i>Drimys brasiliensis</i> Miers	Medicinal Humanos e Animais	X	Medicinal	Medicinal Animal	Medicinal Animal
Cedro	<i>Cedrela fissilis</i> Vell	X	Madeira	Madeira	Madeira Religioso	Madeira
Cerejeira	<i>Eugenia pitanga</i> (O.Berg) Nied	X	Alimento	Alimento	X	X
Chupeteira	<i>Escallonia montevidensis</i> (Cham. & Schltl.) DC	X	Lenha	X	X	X
Cipó estrivo	<i>Machaerium cf paraguariense</i> Hassl	Madeira	Não Possui	X	Não Tem	X
Corticeira	<i>Erythrina falcata</i> Benth	X	X	X	Utensílio (Canoa, Monjolo)	X
Criciúma	Indeterminada	Artesanato		X	X	X
Crindiúva	<i>Trema micrantha</i> (L.) Blume	X	X	X	X	Não Possui
Cuvatã ou Miguel Pintado	<i>Matayba elaeagnoides</i> Radlk	Madeira Lenha	Madeira	X	Madeira	Madeira Lenha
Cuvitinga	<i>Solanum mauritianum</i> Scop.	X	X	X	X	Alimento Aves
Desconhecida	<i>Frangula sphaerosperma</i> (Sw.) Kartesz & Gandhi	X	Lenha	X	X	X
Embiruçú	<i>Pseudobombax grandiflorum</i> (Cav.) A. Robyns	X	X	Ornamental	X	
Erva-mate	<i>Ilex paraguariensis</i> A.St.-Hil.	Alimento	X	Alimento	X	X
Espinheira Santa	<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reissek	Medicinal	X	X	X	X
Farinha seca	<i>Jacaranda puberula</i> Cham	X	Lenha	X	X	X

Nome popular	Nome científico	Usos citados pelos mateiros				
		Informante E	Informante C	Informante D	Informante A	Informante B
Fruitera de Porco	<i>Eugenia pluriflora</i> DC.	X	Alimento e Lenha	Não Possui	Não Possui	Alimento Lenha
Gaviroveira	<i>Campomanesia guaviroba</i> (DC.) Kiaersk.	Alimento	X	X	X	X
Gaviroveira	<i>Campomanesia xanthocarpa</i> (Mart.) O.Berg.	X	Alimento	Alimento Medicinal	Alimento	Alimento
Grileiro	Não coletado	X	X	Não Possui	X	X
Guaçatunga	<i>Casearia inaequilatera</i> Cambess	Diversos	X	X	X	X
Guaçatunga Cambroé	<i>Casearia obliqua</i> Spreng.	Diversos	X	X	X	X
Guaçatunga da folha miúda ou Guaçatunga	<i>Casearia decandra</i> Jacq	Diversos	Lenha	Lenha	Utensílio	X
Guaçatunga ou Guaçatunga Graúda	<i>Casearia lasiophylla</i> Eichler	X	X	X	Lenha	Lenha
Guamirim	<i>Myrcia splendens</i> (Sw.) DC.	Não Possui	X	X	Madeira	Lenha
Guamirim da casca lisa	<i>Eugenia ramboi</i> D.Legrand	X	X	X	Utensílio	X
Guaraperê	<i>Lamanonia ternata</i> Vell.	Não Possui	Lenha	X	X	Lenha
Guatambu	<i>Aspidosperma australe</i> Müll.Arg.	X	X	X	X	Madeira
Gurupiero	<i>Celtis iguanaea</i> (Jacq.) Sarg	X	X	Não Possui	X	X
Imbuia	<i>Ocotea porosa</i> (Nees & Mart.) Barroso	Madeira	Madeira	Madeira	Madeira	Madeira
Imbuia branca	<i>Ocotea</i> sp	X	X	Madeira	X	X
Ingá Feijão	<i>Inga marginata</i> Willd.	X	X	X	X	Lenha
Ingaeiro miúdo	<i>Machaerium stipitatum</i> (DC.) Vogel	X	Madeira	X	X	X
Ingaeiro	<i>Inga virescens</i> Benth	X	Alimento	X	X	Alimento
Ipê amarelo	<i>Tabebuia</i> sp	X	X	X	X	Ornamental
Jaboticabeira	<i>Plinia rivularis</i> (Cambess) Rotman	X	Alimento	Alimento	X	Alimento Humano e Aves
Jacaré	<i>Piptadenia gonoacantha</i> (Mart.) J.F. Macbr	X	Lenha	X	Madeira e Lenha	Lenha
Juvevê	<i>Zanthoxylum kleinii</i> (R.S. Cowan) P.G. Waterman	Madeira	X	X	Não Possui	X
Juvevê	<i>Zanthoxylum rhoifolium</i> Lam.	X	X	X	X	Madeira e Utensílios
Laranjeira Brava	<i>Randia ferox</i> (Cham. & Schltl.) DC.	X	X	X	Não Possui	X
Leitero	<i>Sebastiania brasiliensis</i> Spreng.	X	Não Possui	Lenha	X	X
Limoeiro Bravo	<i>Citronella gongonha</i> (Mart.) R.A.Howard	X	X	X	X	Não Possui

Nome popular	Nome científico	Usos citados pelos mateiros				
		Informante E	Informante C	Informante D	Informante A	Informante B
Louro branco	<i>Porcelia macrocarpa</i> R.E.Fr	Alimento	X	X	X	X
Maria Mole	<i>Symplocos tenuifolia</i> Brand	X	X	X	Medicinal	Não Possui
Marmeleiro bravo ou Marmeleiro do mato	<i>Dalbergia frutescens</i> (Vell.) Britton	X	Madeira	Madeira	X	X
Miguel Pintado	<i>Cupania vernalis</i> Cambess.	X	X	Madeira	X	X
Monjoleiro	<i>Acacia polyphylla</i> DC.	Não Possui	X	X	X	X
Murtera ou murta	<i>Myrceugenia myrcioides</i> (Cambess.) O.Berg	Madeira	X	X	X	Alimento
Oreia de mico	<i>Ilex theezans</i> Mart	X	X	Madeira	X	X
Orvalheiro	<i>Eugenia pyriformis</i> Cambess.	X	X	X	X	Alimento
Palmeira	<i>Syagrus romanzoffiana</i> (Cham.) Glassman	X	X	X	X	Alimento Religioso
Palmeira	Não coletado	X	Alimento	X	X	X
Pau de Andrade	<i>Persea pyrifolia</i> (D. Don) Spreng.	Medicinal	Medicinal	X	Medicinal	Medicinal
Pessegueiro bravo	<i>Prunus brasiliensis</i> (Cham. & Schldl.) D.Dietr	X	Lenha	Lenha	X	X
Pessegueiro Bravo	<i>Prunus myrtifolia</i> (L.) Urb.	X	X	X	X	Madeira
Pimenteira	<i>Cinnamodendron dinisii</i> Schwacke	Ornamental	X	Madeira Medicinal	Não Possui	X
Pinheiro	<i>Araucaria angustifolia</i> (Bertol.) Kuntze	Alimento (Pinhão) e Madeira	X	Madeira	X	Alimento (Pinhão) Madeira
Pitangueira	<i>Eugenia uniflora</i> L.	Alimento	Alimento	Alimento	X	X
Pororoca	<i>Myrsine acuminata</i> Royle	X	Não Possui	Lenha	Lenha	Não Possui
Pororoca ou Papaventeiro ou Pororoca Graúda	<i>Myrsine umbellata</i> Mart	Ornamental	X	Medicinal	Madeira Brinquedo	X
Quaresmeira	<i>Myrcia arborescens</i> O.Berg	X	X	Ornamental	X	X
Quina	<i>Solanum pseudoquina</i> A. St.-Hil	X	X	Medicinal	X	X
Sabugueiro	<i>Sambucus</i> sp	X	X	X	X	Medicinal
Sapopema	<i>Sloanea hirsute</i> (Schott) Planch. ex Benth.	X	X	Madeira	X	X
Sassafrás	<i>Ocotea odorifera</i> (Vell.) Rohwer	Aromatizante Medicinal	Aromatizante	X	Madeira	Madeira
Tapiaiero	<i>Alchornea triplinervia</i> (Spreng.) Müll.Arg	X	X	X	Medicinal	Alimento Animais
Tapiaiero*	<i>Alchornea sidifolia</i> cf. <i>intermedia</i> Pax & K.Hoffm.	X	X	X	X	Alimento Animais
Tarumã	<i>Vitex montevidensis</i> Cham.	X	X	Madeira	Madeira	X
Timbó	<i>Lonchocarpus</i>	X	X	X	Utensílio	X

Nome popular	Nome científico	Usos citados pelos mateiros				
		Informante E	Informante C	Informante D	Informante A	Informante B
	<i>subglaucescens</i> Benth.					
Timbó amarelo	<i>Ateleia glazioveana</i> Baill.	X	X	Madeira	X	X
Timbó branco	Sp	X	X	Não Possui		X
Tiriveira	<i>Campomanesia adamantium</i> (Cambess.) O. Berg	Não Possui	Não Possui	X	X	X
Tupichava	<i>Baccharis</i> sp	X	Não Possui	Não Possui	X	X
Uva Japão	<i>Hovenia dulcis</i> Thunb.	Alimento	X	X	X	X
Vacum	<i>Allophylus edulis</i> (A.St.-Hil., A.Juss. & Cambess.) Radlk	X	Alimento	Alimento	X	X
Varana	<i>Cordyline spectabilis</i> Kunth & Bouché	X	Alimento	Alimento	X	Alimento
Vassoreira	<i>Bernardia pulchella</i> (Baill.) Müll.Arg	X	Não Possui	Não Possui	X	X
Voadeira	<i>Ilex brevicuspis</i> Reissek	X	X	Não Possui	X	X

Fonte: Staniski, 2016.

Nota: O “x” indica que o mateiro desconhece a árvore ou não foi encontrada na comunidade em que vive; *O mesmo nome se refere a espécies diferentes entre as comunidades.

Em relação ao uso para madeira, as espécies mais mencionadas foram a Aroeira (*Schinus terebinthifolia*) e a Imbuia (*Ocotea porosa*), estas duas espécies aparecem nas três comunidades e foram apontadas por todos os entrevistados, no entanto, em Palmital dos Pretos a Aroeira apresenta uso diferenciado, como medicinal.

As madeiras mais utilizadas para fazer palanques ou construção também são as mais resistentes. Destas espécies é possível utilizar o cerne da madeira, este se forma com o passar dos anos e pode ser retirado após a morte natural da árvore. Segundo os moradores, os raios são frequentes e atingem as árvores mais altas, assim a floresta está em constante renovação e sempre tem lenha seca para uso doméstico nos fogões, item indispensável na comunidade no inverno para cozer os alimentos e aquecer a casa.

O uso da madeira se dá em relação à rigidez da mesma, com as mais duras sendo utilizadas para ferramentas, palanques e construção. Conforme relata o Informante C, o Ingaiero Miúdo (*Machaerium stipitatum*) e o Marmeleiro (*Dalbergia frutescens*) são utilizados para fazer “cabo” de ferramentas, apresentando tronco “rijo” (duro). Já as consideradas frágeis são utilizadas somente para “vara de galinheiro e para lenha”.

Para a alimentação as mais citadas foram Gaviroveira (*Campomanesia xanthocarpa*) e Jabuticabeira (*Persea pyrifolia*). A Gaviroveira também é citada em outros estudos (Strachulski; Floriani, 2013) como sendo de grande importância alimentar, tanto animal quanto humana.

Para o uso medicinal as mais encontradas foram as espécies Pau de Andrade (*Plinia rivularis*) e Cabriúva (*Myrocarpus frondosus*), não existindo espécies que forneçam óleos ou tintas. Estudo realizado por De Paula, *et. al.* (2009) e Dluzniewski e Muller (2018) destacam também o emprego destas espécies a partir do uso medicinal, sendo a primeira utilizada para tratar inflamações na bexiga e rins, diarreia e regular os intestinos. A Cabriúva é citada como uma das principais espécies utilizadas para tratamento de infecção e feridas.

Das espécies visualizadas durante a caminhada com os mateiros, algumas são citadas somente por uma pessoa. Assim, cinquenta e três espécies não se repetem, destas, dezesseis foram citadas somente por Informante D., quinze foram citadas por Informante B, doze citadas por Informante E, seis citadas por Informante C e quatro encontradas somente por Informante A.

Os usos e espécies mais comuns dentre os mateiros são: a lenha para Informante B que mostrou quinze espécies, já para o Informante A foi a madeira com doze espécies mencionadas. O Informante D citou doze espécies que podem ser utilizadas para madeira e o Informante C citou de maneira mais incisiva aquelas empregadas como lenha, totalizando dez menções. Para Informante E destacam-se as nove espécies utilizadas como alimento, seguido das espécies boas para madeira.

De acordo com os saberes mateiros, os usos que se destacam, classificados por comunidade são os seguintes: no Lageado Grande sobressaem os usos de madeira e lenha; na comunidade Sete Saltos de Baixo destaca-se o uso da madeira, lenha e alimento; e em Palmital dos Pretos são mais citadas as espécies para alimento, madeira e tendo o maior número de espécies coletadas com uso não definido.

Tais usos distintos envolvendo comunidades tão próximas remete a outra lógica de uso dos recursos naturais. Comunidades mais empobrecidas, como a de remanescentes quilombolas Palmital dos Pretos, aproximam o uso da natureza para fazer frente às suas necessidades alimentares e para cuidarem de suas respectivas saúdes, enquanto as demais se valem de tais recursos/saberes para práticas diversas que não necessariamente conectadas às demandas urgentes.

Inobstante, apesar de viverem num mesmo ambiente florestal, os mateiros possuem vivências particulares, o que revela distintos saberes e práticas de apropriação dos elementos naturais, o que lhes permite desenvolver diferentes estratégias de manejo da natureza local (Toledo; Barrera-Bassols, 2008), podendo explicar as diferenças na preferência maior por um determinado uso pelos mateiros e comunidades em geral.

Quanto ao uso da madeira aparece de forma clara durante a entrevista que a legislação é também facilmente burlada por quem tem maior poder aquisitivo. O morador fala dos pinheiros que tem plantado e que donos de serrarias já quiseram várias vezes comprar, ele diz “*eu evito de cortar uma árvore, eu só corto se eu precisar, se não precisar deixa [...] deixo pro futuro, porque se eu vir a precisar eu tenho, não preciso comprar, se eu vender eu tenho que comprar, e ainda tá servindo de alimento*” (Informante B, 2014).

Destarte, é possível perceber que há uma preocupação em não retirar espécies da mata a não ser que seja extremamente necessário. Atualmente cultivam algumas espécies nativas e exóticas para satisfazer as necessidades cotidianas, sendo elas respectivamente: a Bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth), utilizada principalmente como lenha, e o eucalipto (*Eucalyptus grandis*), utilizado para a construção. Alier (2018) destaca a importância dos saberes tradicionais para a conservação das florestas e da natureza como um todo, afirmando:

Há situações nas quais as percepções sociais, os valores, as culturas e as instituições locais têm retardado a exploração de recursos ao estabelecer uma concepção diferente do uso do espaço (por exemplo, reivindicando direitos territoriais dos indígenas) ou ao afirmar valores não econômicos (como o “sagrado”). (Alier, 2018, p. 77).

Quanto às espécies do criadouro, ambiente de vegetação de remanescentes da Floresta Ombrófila Mista, uma que representa perigo para os animais é o Pessegueiro bravo (*Prunus* sp.) – presente nas três comunidades estudadas – pois quando as folhas murchas são ingeridas por animais, principalmente pelo gado, causam inchaço, levando a morte. Os mateiros contam que suas folhas somente são tóxicas se tiverem sido retiradas das árvores. O conhecimento mateiro

nem sempre é de ordem prática, pois conhecem o veneno, mas não o utilizam para nada. Desta forma, “[...] sua concepção, a priori, não é de ordem prática, pois corresponde às exigências cognitivas e intelectuais, ao invés de somente satisfazer suas necessidades orgânicas” (Strachulski, 2018, p. 264).

Mateiros locais: algumas percepções

Os mateiros demonstram conhecer as espécies de diversos estágios sucessionais, sendo que na tiguera e na capoeirinha estão plantas que servem como indicadoras da qualidade do solo, para alimentar os animais, medicinais como o “cipó milome” e arbustos que servem para fazer vassouras e objetos de uso doméstico. Nos estágios mais desenvolvidos da floresta está a maior parte das espécies que possuem uso nas comunidades, o que não ocorre nos estágios sucessionais iniciais, sendo que, apesar do conhecimento, em parte não são mais aplicados devido às alterações nas leis ambientais, como é o caso da extração de madeira para construção, espécies conhecidas como “madeiras de lei”: Imbuia (*Ocotea porosa* (Nees) Barroso), Cedro (*Cedrela fissilis* Vell.) e Miguel pintado (*Matayba elaeagnoides* Radlk.). Estas funcionam como pontos de referência para o deslocamento na paisagem.

A relação deles com a floresta não se dá de forma restrita, está associada a uma complexa interação relacionada ao uso do solo, a preservação das nascentes de água, quais espécies são alimentos para animais, aquelas de uso medicinal, religioso e o ambiente que estas se desenvolvem. As de ambiente seco desenvolvem-se nas “lombas” (regiões mais elevadas de uma vertente) e as de ambiente úmido se encontram presentes em áreas de “baixada”, próximas aos rios.

Outra característica observada é a dispersão das espécies, o Informante B aponta algumas das quais os animais consomem e transportam, como é o caso da *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze, “transportada por cotias, esquilos, gralha-azul” ou se é propagada pelo vento, como é o caso do Jacaré (*Piptadenia gonoacantha* (Mart.) J.F. Macbr) e do Ipê amarelo (*Tabebuia* sp), já a fruta do Tapiaciro (*Alchornea triplinervia* (Spreng.) Müll.Arg) serve de alimento para as pombas, os brotos do feijão atraem os “veados”.

Foi possível constatar a partir da participação em algumas ações e eventos locais, como um mutirão para a reforma de cercas do criadouro, que seu saber está atrelado a uma convivência pautada pelo respeito à natureza local. Para a realização dos consertos, verificou-se que nas áreas mais baixas, em que a cerca se estendia por dentro de um córrego, os moradores mudavam os pés de xaxim (*Dicksonia sellowiana* Hook.), plantando-os alinhados (Fig. 2). Isto faz com que formem uma barreira, uma cerca viva, para impedir os porcos de passar para as áreas de lavoura. Além da cerca durar por longo tempo, ela preserva e dissemina uma espécie ameaçada de extinção.

O mateiro age, dessa forma, para a preservação da natureza. No entendimento de Ferraz *et. al.* (2005), o saber botânico local é de suma importância para o planejamento de ações sustentáveis, pois é capaz de promover a conservação da biodiversidade, de modo a identificar pressões a que as espécies nativas estão submetidas, como no exemplo do Xaxim, conciliando suas necessidades materiais com a disponibilidade dos elementos bióticos do meio, fazendo um uso compatível com as potencialidades ambientais.



Fig. 2. Mutirão de reconstrução das cercas do criadouro, no Faxinal Sete Saltos de Baixo, Ponta Grossa-PR.
Fonte: Staniski, 2016. Nota: A flecha vermelha aponta para a linha de Xaxins plantados.

Nas áreas secas em que não há valos (buracos na terra), o conhecimento das espécies não pode ser aplicado. Segundo os mateiros, devido à legislação, só podem cortar “*madeira branca*”¹ para utilizar na construção da cerca. Tendo que ser renovada em um período de aproximadamente dois anos. Apesar das dificuldades, do esforço necessário para manutenção das cercas, a comunidade se mantém unida, buscando a manutenção do seu modo de vida e de seus saberes.

O Informante B deixa claro que esses saberes não são ensinados, “*pois me criei no interior daí a gente aprende, eu ouvia os mais velho falar*”, a pessoa se interessa e aprende no cotidiano sem necessariamente haver uma transmissão consciente e/ou induzida das informações. Desta forma, entende-se que os saberes mateiros não resultam somente da:

[...] transmissão de saberes de uma pessoa mais velha para outra mais nova, mas também o aprendizado que o sujeito tem pela curiosidade, a prática que leva a novas descobertas. Em sua grande maioria, os saberes são compartilhados por toda comunidade, contudo, há também aqueles que são fruto de suas subjetividades, da sua ação particular no mundo. (Strachulski, 2018, p. 31).

Nesta direção, a partir de seus saberes fortemente atrelados ao meio que os cerca e às suas subjetividades, alguns nomes populares são atribuídos devido às características específicas das árvores, percebidas pela vivência diária junto a floresta, como são os casos da Pimenteira (*Cinnamodendron dinisii* Schwacke) e da Canela de alho (*Myrsine ferruginea* (Ruiz & Pav.) Spreng.), que recebem tais denominações devido à proximidade que tem com o odor da pimenta e do alho, respectivamente.

Já o atributo cor é um indicativo da resistência da madeira, visto que as vermelhas são mais rígidas e mais procuradas para a construção, como a Imbuia (*Ocotea porosa* (Nees & Mart.) Barroso), a Aroeira (*Schinus terebinthifolia* Raddi) e o Tarumã (*Vitex montevidensis* Cham.). Segundo o Informante D, madeiras brancas são mais fracas, “duram um ano e pouco” e apresentam outros usos.

Na caminhada com o Informante E, ele informou também o período de propagação das espécies e apontou até o período de flora, Uva Japão (*Hovenia dulcis*), Pau de Andrade (*Persea pyriformis*

¹Madeira que não tem valor econômico e segundo os moradores é mais fraca, cujas espécies são de fácil dispersão, encontradas com abundância.

(D. Don) Spreng.) apresentam sua florada a partir do mês de novembro até dezembro. Ele consegue diferenciar várias espécies que pertencem a mesma Família e Gênero, como por exemplo: Guaçatunga cambroé (*Casearia decandra Jacq*), Guaçatunga (*Casearia obliqua Spreng.*), Guaçatunga graúda (*Casearia lasiophylla Eichle*), Cafezeiro (*Casearia sylvestris Sw*). Assim, acredita-se que os moradores locais entendidos como mateiros, cada um com seu modo de ver a floresta, mas partilhando muitas vezes do reconhecimento dos mesmos atributos, consigam reconhecer a diferença até de subespécies que podem escapar aos especialistas.

Espécies medicinais e religiosidade

Dentre todos os usos mencionados, o medicinal é aquele que possibilita um contato mais expressivo com o mundo simbólico atrelado com as espécies vegetais. O saber de cunho medicinal (15 espécies) do mateiro une o uso de espécies arbóreas e a religiosidade para a cura dos sintomas mais recorrentes de moléstias dos moradores da região. Ao mesmo tempo em que se tem a ação do princípio ativo extraído principalmente por meio de chás e garrafadas, a oração é complemento essencial para potencializar seu efeito. A medicina popular resolve os males que afetam o corpo, podendo ser decorrentes de problemas físicos, ou o espírito, em que ambos acabam apresentando sintomas no corpo. Clarindo (2014) ao estudar a medicina popular das comunidades da região, a conceitua como um amálgama cosmo-mítico-religioso tradicional.

A respeito da relação entre a religiosidade da população local e o uso das espécies vegetais, infere-se que:

[...] sua estrutura social e suas práticas de produção estão intimamente relacionadas com processos simbólicos e religiosos que estabelecem um sistema de crenças e saberes sobre os elementos da natureza que se traduzem em normas sociais sobre o acesso e uso dos recursos. (LEFF, 2008, p. 94).

Nesse sentido, a religiosidade e o uso das espécies medicinais são de suma importância para os moradores da região da Serra das Almas, nas comunidades de Lageado Grande, Sete Saltos de Baixo e Palmital dos Pretos. Os mateiros possuem um significativo conhecimento acerca das plantas medicinais, inclusive são procurados por pessoas que vem de outras cidades (Piraquara, Curitiba e outras) para coletar algumas espécies como a Cabriúva (*Myrocarpus frondosus*), no entanto nem todos exercem benzeduras (um dom que pode ser transmitido entre as gerações).

Além dos mateiros há benzedoras e um benzedor na região, os quais encerram em suas personalidades, além do elevado conhecimento no manejo da natureza para a formulação de remédios caseiros, conforme ilustra a figura 3, o dom e a vocação para conciliá-los com distintos rituais de cura e proteção. Tais saberes fazem com que estas pessoas se tornem referências para a comunidade local e, não obstante, para pessoas de diversas outras regiões. Com efeito, a projeção de seus saberes é incalculável e remete a um empoderamento social peculiar, para além de uma possível (e dispensável, neste caso) validação institucional (Clarindo, 2014).



Fig. 3. Composto de espécies medicinais embebidas em álcool e espécie Pau de Andrade (*Persea pyrifolia*). Fonte: Clarindo (2014).

Alguns saberes relatados durante as caminhadas são de conhecimento coletivo, perpassam a dimensão do visível e apresentam significado religioso. É o caso das espécies citadas pelo Informante B., como a aleluia (*Tibouchina sellowiana*), que floresce no sábado de Aleluia e o Pinheiro de São José (*Araucaria angustifolia*), que madura sua semente no mês de março. São espécies símbolos do catolicismo popular e referências ao calendário cristão dos moradores.

O Informante A apontou duas espécies de uso religioso, como a Aleluia (*Tibouchina sellowiana*) e a Palmeira (*Syagrus romanzoffiana*). As folhas da Palmeira são coletadas e levadas para benzer na missa de domingo de ramos. Essas folhas são guardadas por um ano até a data da próxima missa de ramos onde se coletam novas folhas para benzer e utilizadas para defumações do ambiente para proteção do lar. “A Aleluia floresce sempre na semana santa, ela varia com duas cor, flor roxa e branca, segundo a crença dos antigo, eu não me baseio nisso, tem ano que ela floresce com bastante flor roxa, vai morrer mais gente velha, quando floresce bastante flor mais branca do que roxa, vai morre bastante pessoa nova, eu não acredito nisso, mas é crença dos antigo”. (Informante A, 2015).

Já o Cedro (*Cedrela fissilis*), segundo o Informante A, pode indicar o local onde existiam casas. As pessoas “faziam uma cruz de Cedro verde e colocavam no portão. Ciência dos antigos, daí dizem que este broto viro árvore”. Explica que no passado (aproximadamente 30 anos atrás) quando passavam as procissões ou rezas, paravam em frente das casas que possuísem a cruz.

Como símbolos da religiosidade local estas árvores podem ser consideradas “geossímbolos [...] uma forma de linguagem, um instrumento de comunicação partilhado por todos [...]” (Bonnemaison, 2002, p. 124), fazem parte da história coletiva da comunidade e da vivência das pessoas com a paisagem. Ademais, a medicina popular une o uso de espécies de plantas (nativas ou não) e a religiosidade para a cura dos sintomas mais recorrentes dentre os habitantes da região.

O Informante D. explica que existe diferença entre benzedura e simpatia, sendo a benzedura realizada por meio da oração, já a simpatia é com o poder das plantas, principalmente utilizadas para defumações. Em suas palavras “a defumação você vê, você confia nas erva, e o benzedô nas oração” (Informante D., 2015).

Com relação à simpatia, cada planta tem uma função, existem diversas plantas, para problemas do corpo, utilizadas como chá, para proteção e defumação. “[...] do mato tem socará de tocha, um espinho que dá sete cada um, um cacho bem grande e seis mais pequeno, aquele é bão pra

defumação, o mais é remédio de horta [...] cada uma tem a sua vez, arruda é pra feitiçaria, o malefício, põe na defumação não te cala nada, o gengibre é pra tentação do coisa ruim, cada um tem o seu significado” (Informante D., 2015).

Os mateiros explicam o que as espécies da mata significam para eles: “*uma natureza, uma beleza, que Deus deixou no mundo*”. Informante D., benzedor, agricultor e mateiro, é referência local e diz ter ajudado inúmeras pessoas com problemas que vão desde hemorragias, picadas de cobras, doenças que médicos não descobriam solução, doenças de animais, simpatias e defumações para proteção. Relata que hoje os mais jovens não procuram mais esses conhecimentos e preferem buscar atendimento na saúde pública, com médicos. Porém, antigamente não era fácil acesso ao médico e todo mundo se curava com “remédio do mato”, com auxílio de um benzedor.

Quanto aos problemas do corpo, diversas plantas nativas e também as cultivadas em hortas são indicadas como remédio, compondo o conhecimento vernacular medicinal dos mateiros. Entretanto, como o foco era o conhecimento das florestas, foram coletadas e identificadas apenas as espécies arbóreas (tabela 01), tendo grande variedade e algumas sendo raras, de difícil acesso, por não ser possível transplantar algumas espécies arbóreas nativas para quintais.

Dentre as espécies arbóreas mencionadas como de uso medicinal, destaca-se a importância da Quina (*Solanum pseudoquina*), que foi coletada durante a caminhada com o Informante D., devido a seu uso medicinal que combate a febre e que não foi encontrada nas demais comunidades, como também não houve relatos sobre sua existência.

Das espécies citadas por mais de um entrevistado, destaca-se algumas peculiaridades, como da pimenteira (*Cinnamodendron dinisii*), utilizada pelo Informante D como medicinal para animais e também para madeira, mas que não recebe nenhum uso específico dos demais entrevistados.

Já o Tapiáero (*Alchornea sidifolia* cf. *intermedia*) encontrada somente na comunidade Lageado Grande é utilizada pelo Informante A como medicinal, para combater a hipertensão. Para o Informante B, a espécie tem frutos úteis para alimentação dos animais.

O Sassafrás (*Ocotea odorifera*) na comunidade Lageado Grande aparece como bom para o uso da madeira. Para o Informante E de Palmital é excelente medicinal, o chá das folhas é utilizado para problemas diversos, principalmente para tratar infecções, e o chá da casca tem uso externo para feridas. Também pode ser usado na cachaça (aromático), na comunidade de Sete Saltos, Sassafrás é apontado pelo seu uso aromático na cachaça pelo Informante B.

Cataia (*Drimys brasiliensis*) foi coletada nas quatro caminhadas, todos conhecem seu uso como medicinal utilizada para tratar Garrotinho em cavalos. O Informante D. diz que a espécie é também conhecida popularmente como Casca de anta e é um importante remédio para os problemas respiratórios em humanos, esse uso também foi relatado pelo Informante E.

A Cataia é uma espécie medicinal de grande importância na região, pois é conhecida por todos os mateiros pesquisados, além de ser utilizada para tratar problemas de saúde tanto de humanos como de animais. De acordo com Amorozo (2002), os saberes sobre uma espécie medicinal e seus usos estão atrelados à disponibilidade. Nesse caso, a referida espécie aparece em todas as comunidades em que os mateiros moram, estando ao alcance de todos.

O saber da medicina vernacular é transmitido por pessoas que não realizam o benzimento. Este acontece com a troca de mudas, “receitas” de chás, compondo as práticas do dia-a-dia. Respeitam o meio natural não o vendo apenas como recurso, mas como protagonista de muitas

crenças e costumes, guia das práticas desenvolvidas na região, onde é preciso pedir permissão para São João Maria² para fazer um chá e é onde também os “*dias de Santo*” são respeitados.

Conforme se apurou na imersão junto às comunidades e no diálogo com os mateiros, as simpatias são de conhecimento coletivo dos moradores e muitas delas estão relacionadas ao calendário religioso como a recomendação das Almas, o dia de Sexta-feira Santa, em que são feitas simpatias para bronquite, a maioria delas relacionadas ao período “de quaresma”. As simpatias, benzeduras e o uso das plantas medicinais estão presentes em toda a região.

As festividades religiosas reforçam os laços de compadrio e parentesco e fortalecem também a propagação ou mesmo a manutenção da medicina vernacular, com “receitas”, trocas de espécies. Pois, configuram o momento de encontro, de doação, de solidariedade e de fé. Esta fé que na região da Serra das Almas não pode ser dissociada do elemento natural, da floresta local, do patrimônio natural que permeia as relações sociais, o cotidiano dos moradores. Desta forma, não é possível separar a medicina popular e do uso das espécies da floresta.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir de sua apropriação material e simbólica, os mateiros das comunidades da região da Serra das Almas seguem seu *continuum* com a floresta, não se dissociando dela. Mantêm suas práticas tradicionais, seu modo de vida, fato que pode ser observado em sua religiosidade e cura de algumas doenças que estão atrelados a biodiversidade local.

O uso de espécies vegetais se constitui como parcela importante ao atendimento das necessidades cotidianas de energia (lenha), medicinal e alimentar. Ao mesmo tempo, devido à legislação, já não utilizam mais “madeira de lei” para construção ou para utensílios, apenas madeira branca, uso mais referenciado pelos mateiros. No entanto, apesar de não utilizarem mais “madeira de lei”, o saber sobre estas espécies permanece vivo na memória dos moradores e materializado em antigas casas.

Os mateiros locais são exímios e experientes conhecedores da floresta e das espécies vegetais arbóreas, vide a extensa listagem de espécies identificadas a partir de suas citações de uso. Seus saberes sobre as espécies medicinais apesar de serem os menos mencionados, são dos mais significativos, visto que estes atores sociais são referências, sendo procurados por pessoas de outros lugares para benzimentos e curas a partir das árvores.

Este estudo acerca dos saberes botânicos tradicionais dos mateiros locais contribuiu com o conhecimento da flora desta região, além de que oportunizou a perpetuação da valorização destes saberes. Não obstante, seu registro científico acaba sendo de suma importância para a sua propagação ao longo do tempo, evidenciando que seus saberes tradicionais não caíram no ostracismo e podem ser fundamentais na descoberta de potenciais da flora local.

Faz-se de grande importância também a capacidade do mateiro de gestão dos recursos naturais, em que seus saberes permitem o planejamento de ações sustentáveis, conforme já pontuaram alguns autores. Pois, são capazes de promover a conservação da biodiversidade, de modo a identificar pressões a que as espécies nativas estão submetidas, como no exemplo do Xaxim, conciliando suas necessidades materiais com a disponibilidade dos elementos bióticos do meio, fazendo um uso compatível com as potencialidades ambientais.

² São João Maria é presença constante na região sul do Brasil. Trata-se de um monge que peregrinava pela região curando pessoas com remédios de ervas e operando milagres. São várias as crenças envolvendo João Maria e é essencialmente esta perspectiva mítica que fortalece sua imagem na região e fazem com que se proliferem marcadores territoriais urbanos e rurais atrelados à figura de São João Maria, formatando o *corpus* de saberes e crenças locais. (Clarindo; Floriani, 2020).

Resta, por fim, a compreensão de que os mateiros e as demais pessoas da região têm a natureza como uma forma de perpetuação de seus modos de vida. Com isto, adotam o tempo todo estratégias individuais e coletivas de preservação (mesmo que inconscientes) e com vistas a suplantam o avançar do agronegócio na região. Suas matrizes cognitivas próprias ensinam que é possível e necessário (re)pensar a vida, mesmo no atual contexto de modernidades múltiplas.

LITERATURE CITED

- Albuquerque, Ulysses Paulino de., Lucena, Reinaldo Farias de Paiva, Cunha, L. V. F. C. DA. Métodos e Técnicas na Pesquisa Etnobiológica e Etnoecológica. 1. ed. Recife: NUPEEA, 2010.
- Alier, J. M. O ecologismo dos pobres. São Paulo: Contexto, 2018.
- Amorozo, M. C. DE M. Uso e diversidade de plantas medicinais em Santo Antonio do Leverger, MT, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 16, n. 2, p. 189–203, 2002.
- Bonnemaison, J. Viagem em torno do território. In: Correa, Roberto Lobato. Rosendahl, Z. (Ed.). *Geografia Cultural: um século*. Rio de Janeiro: EdUERJ. p. 83–131.
- Borchardt, J.; Colvero, R. B. Os Benzedores De São Miguel Das Missões-Rs: Aspectos De Memória E Identidade. 2013.
- Botrel, R. T. et al. Uso da vegetação nativa pela população local no município de Ingaí, MG, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 20, n. 1, p. 143–156, 2006.
- Celinski, M. G. Identidade - Retrato de uma Comunidade Quilombola. 78 f. Trabalho de conclusão de curso. Curitiba: Universidade Positivo.
- Clarindo, M. F. Medicina popular e comunidades rurais da Região da Serra das Almas, Paraná: o amálgama cosmo-mítico-religioso tradicional. 124 f. Dissertação (Mestrado em Gestão do Território). Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2014.
- Clarindo, M. F.; Floriani, N. Marcadores Territoriais da Fé Popular em Ponta Grossa: resistência social e cultural. *Geografia (Londrina)*, v. 30, n. 1, p. 227, 2020.
- Da Silva, R. R. V.; Marangon, L. C.; Alves, Á. G. C. Entre A Etnoecologia E A silvicultura : O papel de informantes locais e cientistas NA pesquisa florestal. *Interciencia*, v. 36, n. 7, p. 485–492, 2011.
- De Paula, Maria Cristina Zborowski; Bolson, Mônica; Cardozo Junior, Euclides Lara; Hefler, S. M. Levantamento etnofarmacológico e resgate de germoplasma em remanescentes florestais da Floresta Estacional Semidecidual no Oeste Do Paraná, Brasil. *Toledo Pontifícia Universidade Católica (PUC)*, 2009. Disponível em: <<https://xdocs.com.br/doc/132-09-maria-cristina-zborowski-de-paula-vod7111671o6>>
- Diegues, Antônio Carlos; Arruda, R. S. V. Os saberes tradicionais e a Biodiversidade no Brasil. São Paulo: Ed USP, 2000.
- Dluzniewski, Franciele Da Silva; Muller, N. T. G. Estudo etnobotânico de plantas medicinais utilizadas no município de Sete de Setembro, Rio Grande do Sul, Brasil. *Perspectiva*, v. 42, p. 49–61, 2018.
- Leff, E. Saber ambiental: sustentabilidade, racionalidade, complexidade, poder. Petrópolis: Vozes, 2008.
- Lowen Sahr, Cicilian Luiza; Iegelski, F. O sistema faxinal no município de Ponta Grossa: Diretrizes para a preservação do ecossistema, do modo de vida, da cultura e das identidades das comunidades dos espaços faxinalenses. Ponta Grossa: Prefeitura Municipal de Ponta Grossa, 2003.
- Marchiori, J. N. C. Elementos de dendrologia. 3. ed. ed. Santa Maria: Ed. UFSM, 1995.
- Moro, R. Segecin; Lima, C. N. Vegetação arbórea do Faxinal Sete Saltos de Baixo, Ponta Grossa, PR1 Arboreal vegetation in Faxinal Sete Saltos de Baixo, Ponta Grossa (Paraná, Brazil) *Academia.Edu*, p. 79–90, [s.d.].
- Moro, R. S. et al. La importancia del agrosistema tradicional Faxinal para la conservación de los bosques del sur de Brasil. *Ecosistemas (Madrid Internet)*, v. 27, n. 3, p. 4–13, 2018.

Recibido:
26/julio/2021

Aceptado:
7/enero/2022

- Oliveira, Flávia Camargo; Albuquerque, Ulysses Paulino De; Fonseca-Kruel, Viviane Stern Da; Hanazaki, N. Avanços nas pesquisas etnobotânicas no Brasil. *Acta Botânica*, v. 23, p. 590–605, 2009.
- Strachulski, J. Kagwyri'pe jihoi: o território como fundamento do saber tradicional Parintintin na Aldeia Traíra da Terra Indígena Nove de Janeiro, Humaitá-AM. 337 f. Tese (Doutorado em Geografia) Universidade Estadual de Ponta Grossa, 2018.
- Strachulski, J.; Floriani, N. Popular knowledge on plants: an ethnobotanical study in the rural community of Linha Criciumal, in Cândido de Abreu-PR [Conhecimento popular sobre plantas: um estudo etnobotânico na comunidade rural de Linha Criciumal, em Cândido de Abreu-PR]. *Revista Geografar*, v. 8, n. 1, p. 125–153, 2013.
- Sturtevant, W. *Studies in ethnoscience*. Arlington, 1964. Disponível em: <<https://anthrosource.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1525/aa.1964.66.3.02a00850>>
- Toledo, Victor Manuel; Barrera-Bassols, N. *La memoria biocultural: la importancia ecológica de las sabidurías tradicionales*. 1. ed. ed. Barcelona: Icaria, 2008.
- Toledo, V. M. et al. Uso múltiple y biodiversidad entre los mayas Yucatecos (México). *Interciencia*, v. 33, n. 5, p. 345–352, 2008.
- Veloso, Henrique Pimenta; Rangel Filho, Antonio Lourenço Rosa; Alves Lima, J. C. *Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal*. Rio de Janeiro: IBGE, 1991.
- Verdejo, M. E. *Diagnóstico rural participativo: guia prático DRP*. Brasília: MDA/Secretaria da Agricultura Familiar, 2006.

VALOR CULTURAL DE LOS RECURSOS FORESTALES NO MADERABLES EN COMUNIDADES ZAPOTECAS DE LA SIERRA JUÁREZ DE OAXACA

CULTURAL VALUE OF NON- TIMBER FOREST RESOURCES IN ZAPOTEC COMMUNITIES OF THE SIERRA JUAREZ DE OAXACA

Martínez-López, J.; N.G. Molina-Luna; S. Rangel-Landa; C. Aquino-Vázquez y A. Acosta-Ramos.

VALOR CULTURAL DE LOS RECURSOS FORESTALES NO MADERABLES EN COMUNIDADES ZAPOTECAS DE LA SIERRA JUÁREZ DE OAXACA.

CULTURAL VALUE OF NON-TIMBER FOREST RESOURCES IN ZAPOTEC COMMUNITIES OF THE SIERRA JUAREZ DE OAXACA.



VALOR CULTURAL DE LOS RECURSOS FORESTALES NO MADERABLES EN COMUNIDADES ZAPOTECAS DE LA SIERRA JUÁREZ DE OAXACA

CULTURAL VALUE OF NON-TIMBER FOREST RESOURCES IN ZAPOTEC COMMUNITIES OF THE SIERRA JUAREZ DE OAXACA

Martínez-López, J.;
N.G. Molina-Luna;
S. Rangel-Landa;
C. Aquino-Vázquez
y A. Acosta-Ramos.

VALOR CULTURAL DE LOS
RECURSOS FORESTALES
NO MADERABLES EN
COMUNIDADES
ZAPOTECAS DE LA SIERRA
JUÁREZ DE OAXACA.

CULTURAL VALUE OF
NON-TIMBER FOREST
RESOURCES IN ZAPOTEC
COMMUNITIES OF THE
SIERRA JUAREZ DE
OAXACA.

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 53: 239-259. Enero 2022

DOI:

10.18387/polibotanica.53.16

J. Martínez-López

*Universidad de la Sierra Juárez
Avenida Universidad S/N, Ixtlán de Juárez, C.P. 68725, Oaxaca, México.*

N.G. Molina-Luna / nancy.ml@voaxaca.tecnm.mx

*Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca
Ex-Hda. de Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, C.P. 71230, Oaxaca, México.*

S. Rangel-Landa

*CONACYT-Escuela Nacional de Antropología e Historia
Periférico Sur y Zapote S/N, Isidro Fabela, Tlalpan, C.P. 14030 Ciudad de México*

C. Aquino-Vázquez

A. Acosta-Ramos

*Universidad de la Sierra Juárez
Avenida Universidad S/N, Ixtlán de Juárez, C.P. 68725, Oaxaca, México.*

RESUMEN: En este trabajo se obtuvo el valor cultural de los recursos forestales no maderables (RFNM) en plantas que utilizan los pobladores de dos comunidades zapotecas de la Sierra Juárez, Oaxaca. Para cumplir con el objetivo, se ubicaron 40 informantes clave seleccionados por el método de muestreo no probabilístico conocido como "bola de nieve", quienes listaron los recursos que utilizan, su disponibilidad en el medio natural, categorías y formas de uso, así como partes vegetativas útiles. Del listado de especies, se determinó la frecuencia de mención por especie, y para el resto de las variables se estimaron valores con base en índices establecidos previamente. La importancia cultural de cada especie se estimó usando como indicador los valores del primer componente principal. En Capulálpam de Méndez se registraron 122 especies de recursos forestales no maderables (RFNM) y 128 en Santa María Jaltianguis, con 166 especies en total, clasificadas en 66 familias botánicas, y 84 especies compartidas entre ambas comunidades. En la primera localidad, la planta de mayor importancia cultural fue *Clinopodium macrostemum* y para la segunda localidad *Prunus serotina*. Las especies de menor valor fueron *Calendula officinalis*, *Erythrina americana*, No identificada 2, *Piper auritum*, *Portulaca* sp. y *Rosmarinus officinalis* para la primera localidad; y *Aloysia* sp. y *Datura stramonium* para la segunda. Los resultados permitieron conocer la diversidad de plantas silvestres útiles y su valor cultural en dos comunidades rurales.

Palabras clave: etnobotánica, biocultura, RFNM, conocimiento tradicional.

ABSTRACT: In this work, the cultural value of non-timber forest resources (NTFR) was obtained of plants used by the inhabitants of two Zapotec communities in the Sierra Juárez, Oaxaca. To meet the objective, 40 key interviewees were selected by the non-probabilistic sampling method known as "snowball". These listed the resources they use, their availability in the natural environment, categories and forms of use, as well as useful vegetative parts. From the list of species, the frequency of mention by species was determined, and for the rest of the variables, values based on previously established

indices were estimated. The cultural importance of each species was estimated using the values of the first principal component as an indicator. There were 122 species in Capulálpam de Méndez and 128 in Santa María Jaltianguis that provide non-timber forest resources NTFR, with 166 species in total classified in 66 botanical families and 84 species shared between both communities. In the first village, the plant of greater cultural importance was *Clinopodium macrostemum*, for the second village the most important plant was *Prunus serotina*. The species of lower value were *Calendula officinalis*, *Erythrina americana*, No identificada 2, *Piper auritum*, *Portulaca* sp. and *Rosmarinus officinalis* for the first village, and *Aloysia* sp. and *Datura stramonium* for the second. The results demonstrated the diversity of useful wild plants and their cultural value in two rural communities.

Key words: ethnobotany, bioculture, NTFR, traditional knowledge.

INTRODUCCIÓN

Los bosques proveen de bienes y servicios a las familias que habitan en comunidades rurales y sociedad en general. Entre éstos, la madera ha sido considerada como la de mayor relevancia por generar ingresos económicos en su aprovechamiento, sin embargo, existen otros recursos útiles, conocidos como no maderables. Los recursos forestales no maderables (RFNM), son bienes de origen biológico distintos a la madera, derivados de los bosques, de otras tierras boscosas y de árboles fuera de los bosques (Food and Agriculture Organization [FAO], 1995).

Los RFNM son importantes para las personas que viven en las regiones rurales, porque de ellos obtienen productos que son empleados con diferentes fines. Debido a las limitaciones económicas que prevalecen en esas regiones, los RFNM tienen un alto impacto en las familias que los utilizan, ya que los bosques aportan una gama de productos para la subsistencia y constituyen una fuente de ingresos económicos por su comercialización (Food and Agriculture Organization [FAO], 2007; Ortega Ponce, 2004). Alexiades & Shanley (2004), señalan la importancia de los RFNM en los ingresos locales, principalmente en las comunidades donde existen pocas posibilidades económicas, dada la escasez en la que se encuentran inmersos. En la mayoría de los casos, las familias campesinas dependen de la capacidad de los ecosistemas para complementar los beneficios obtenidos de la producción agrícola, debido a que la estrategia indígena o campesina es maximizar la diversidad y el número de opciones disponibles, a fin de garantizar su subsistencia y minimizar los riesgos (Toledo *et al.*, 2003).

Cada grupo humano se relaciona con su entorno natural de una manera singular y desarrolla formas particulares de conocer, manejar, utilizar, visualizar y percibir la naturaleza (Medrano, 2012). De esta relación se genera el conocimiento sobre el entorno y las especies que son aprovechadas, este conocimiento es parte de su forma de vida, algunos autores lo denominan conocimiento ecológico tradicional (CET) y se define como “un cuerpo acumulativo de conocimientos, prácticas y creencias que evoluciona a través de procesos adaptativos y es transmitido mediante formas culturales de una generación a otra acerca de las relaciones entre seres vivos, incluyendo los seres humanos, y de los seres vivos con su medio ambiente” (Berkes *et al.*, 2000). Por lo tanto, el CET es acumulativo, dinámico y con capacidad de adaptarse al cambio.

En México se estima que existen entre 10,000 y 12,000 especies de plantas útiles (Casas *et al.*, 2017), lo que representa un gran legado biocultural. De esta gran diversidad que ha satisfecho las necesidades de los pueblos mesoamericanos durante milenios, algunas tienen un gran valor cultural. Hunn (1982), define el valor cultural como el papel que la planta desempeña en una determinada cultura, mientras que Turner (1988), señala que cuanto más amplia o intensivamente se usa una planta, mayor es su significado cultural. Heinrich *et al.* (1998), afirman que “las plantas de importancia cultural son aquellas que son utilizadas por un gran número de personas para la misma categoría de uso”, asumiendo la idea de un consenso cultural para evaluar la importancia de las plantas para las personas. La importancia de una planta o

recurso natural es determinada como resultado de distintos factores socioeconómicos, culturales y ecológicos; siendo los nombres locales, la cantidad de usos y la percepción de su abundancia, algunas de las expresiones más conspicuas del conocimiento ecológico tradicional y de la importancia que guardan las especies (Castañeda Sifuentes & Albán Castillo, 2016; Garibay-Orijel *et al.*, 2007; Garzón-Garzón, 2016).

La importancia cultural se ha estimado a través de índices que tratan de representar la versatilidad con que se usa el organismo y su popularidad en el consenso del conocimiento existente, traducida en la frecuencia o número de informantes que reportan sus usos (Camasca-Vargas, 2012). El índice de importancia cultural permite cuantificar la función que los taxones biológicos o grupos de organismos emparentados juegan dentro de una cultura en particular (Pieroni, 2001), y para estimarlo se han hecho algunas propuestas de modelos que pueden adaptarse o modificarse de acuerdo con los fines requeridos. El índice de importancia cultural es una herramienta de gran utilidad en la investigación para entender las complejas relaciones entre las plantas, el lenguaje y la clasificación popular en un grupo determinado, así como para identificar especies clave para los sistemas de subsistencia y complejos bioculturales locales (Garibay-Orijel *et al.*, 2007; Turner, 1988).

Derivado de la importancia de las sabidurías tradicionales en la vida de los pueblos indígenas y la alarmante erosión de los sistemas de conocimientos ecológicos tradicionales (Aswani *et al.*, 2018), fenómeno reportado en pueblos zapotecos del Istmo de Tehuantepec por Saynes-Vásquez *et al.* (2013), la documentación del conocimiento ecológico tradicional y el reconocimiento de las especies de alto valor se convierten en una labor importante por hacer. Como antecedentes a este trabajo se realizó la determinación taxonómica de los 166 RFNM, se documentaron sus nombres vernáculos y en lengua zapoteca, y las especies se clasificaron en las categorías: nativas, endémicas de México, endémicas de Oaxaca, exóticas y cultivadas (Martínez López *et al.*, 2016a). Asimismo se realizó un análisis de las características sociodemográficas y culturales de los recolectores, siendo el género y la competencia lingüística las variables significativas para explicar el número de plantas silvestres que conocen (Martínez López *et al.*, 2016b).

El objetivo del presente trabajo consistió en documentar el valor cultural de los principales recursos forestales no maderables, principalmente plantas silvestres que usan las familias de comunidades rurales forestales en la Sierra Juárez de Oaxaca, debido a que no se cuenta con estudios que estimen el valor cultural de estos recursos biológicos en la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de estudio

Capulápam de Méndez y Santa María Jaltianguis, son localidades zapotecas regidas por el sistema de usos y costumbres con reconocimiento oficial, en ambas comunidades la tenencia de la tierra es comunal y se localizan en la denominada Sierra Juárez de Oaxaca, Región Terrestre Prioritaria (RTP-130) de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Arriaga *et al.*, 2000). Capulápam de Méndez tiene una superficie de 3,850 hectáreas, se ubica dentro de las coordenadas: 17° 17' 02'' a 17° 20' 53'' de latitud y 96° 21' 14'' a 96° 28' 06'' de longitud, en un rango altitudinal entre los 1,100 y 3,200 msnm, el municipio está habitado por 1,549 personas (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2011b; Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2017), quienes se ocupan en actividades del sector terciario como el comercio y el turismo (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2011a; Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2017). El territorio de Santa María Jaltianguis se localiza de 17° 18' 32.4'' a 17° 24' 43.2'' de latitud y de 96° 29' 35.9'' a 96° 34' 8.8'' de longitud, con una superficie de 5,555.7875 hectáreas, ubicada en un rango altitudinal de entre 1,300 y 3,100 msnm, la mayoría de las personas hablan el zapoteco (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2011b) y se dedican a actividades del

sector primario, principalmente a la agricultura, ganadería y manejo forestal, hasta el año 2015 el municipio estaba habitado por 499 individuos (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2011a; Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2017). El acceso a Capulálpam de Méndez es por medio de vehículos particulares, autobuses y taxis colectivos (Lopez Ramos, 2017), con un recorrido de aproximadamente de una hora con treinta minutos desde la capital del estado; mientras que para Santa María Jaltianguis el recorrido es de una hora con veinte minutos mediante vehículos particulares y taxis colectivos.

Obtención de la información

Los nombres locales de las especies silvestres utilizadas se documentaron mediante el método de listado libre (Alexiades & Shanley, 2004; Garibay-Orijel *et al.*, 2007). Se aplicó una entrevista semiestructurada para registrar su disponibilidad en el medio natural desde la percepción de los informantes, parte que se usa, categoría de uso y forma de uso. La selección de los informantes fue empleando la técnica no probabilística conocida como bola de nieve (Goodman, 1961), las entrevistas dejaron de realizarse cuando las personas que mencionaron los informantes ya habían sido entrevistadas. Para evitar duplicidad de información, no se entrevistó a más de un integrante por familia, considerando que poseen conocimientos comunes (Martínez Carrera *et al.*, 2002).

La entrevista se realizó a 25 informantes clave en Capulálpam de Méndez y 15 en Santa María Jaltianguis, de diferente género, edad, competencia lingüística, escolaridad y ocupación (Cuadro 1). El número de especies registradas se ordenó ascendientemente y se graficó para obtener la curva de acumulación de especies en cada localidad (número de informantes - número de especies), misma que se hizo asintótica con la información de la entrevista número 23 para Capulálpam de Méndez y la entrevista número 13 para Santa María Jaltianguis.

Se realizaron recorridos de campo en compañía de personas de cada comunidad, durante los recorridos se colectaron muestras botánicas y se realizaron registros fotográficos de las especies mencionadas en las entrevistas. La determinación taxonómica se realizó con apoyo de técnicos de la Unión de Comunidades Productoras Forestales Zapotecas-Chinantecas de la Sierra de Juárez, investigadores de la Universidad de la Sierra Juárez, del Instituto Tecnológico de Oaxaca y de la Universidad Nacional Autónoma de México; se complementó con trabajo de herbario en el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Oaxaca, lugar donde se depositaron los ejemplares, y se consultó bibliografía especializada (Martínez López *et al.*, 2016a).

Categorías de uso y obtención del índice de valor cultural

Los RFNM citados fueron clasificados en las categorías siguientes: medicinal, comestible, ornamental, forrajera, ritual, artesanal, utensilio, combustible (Caballero *et al.*, 1998; Gual Díaz, 2018), saponífera y otros usos.

Para estimar el Valor Cultural (IVC), se empleó el enfoque de consenso de informantes, metodología desarrollada por Adu-Tutu *et al.* (1979); Phillips (1996) y Phillips & Gentry (1993), donde las plantas útiles con mayor número de menciones son consideradas como las más importantes (Garibay-Orijel *et al.*, 2007; Montoya *et al.*, 2003; Tardío & Pardo-de-Santayana, 2008).

De la información obtenida en campo en cada localidad, se obtuvieron los índices: frecuencia de mención, disponibilidad de la planta percibida por los informantes, parte usada, tipo de usos y forma de uso. Los índices de cada uno fueron adaptados de Turner (1988) y de Pieroni (2001). De la fórmula de Turner se modificó el índice de calidad de uso (tipos de usos), y de Pieroni se modificó la frecuencia de mención, disponibilidad percibida e índice de la parte usada, y se agregó el índice de la forma de uso.

Cuadro 1. Características de los informantes clave entrevistados en Capulálpam de Méndez y Santa María Jaltianguis.

Localidad	Características	Cantidad	
Capulálpam de Méndez	Edad	Mínima	37
		Máxima	85
	Género	Hombre	10
		Mujer	15
	Competencia lingüística	Monolingüe (lengua materna: español)	25
		Bilingüe	0
	Escolaridad	Sin escolaridad	2
		Nivel básico	20
		Nivel medio superior, superior o mas	3
	Ocupación	Sector primario	13
Sector secundario		2	
Sector terciario		10	
Santa María Jaltianguis	Edad	Mínima	47
		Máxima	82
	Género	Hombre	6
		Mujer	9
	Competencia lingüística	Monolingüe	0
		Bilingüe (lengua materna: zapoteco)	15
	Escolaridad	Sin escolaridad	0
		Nivel básico	15
		Nivel medio superior, superior o mas	0
	Ocupación	Sector primario	15
Sector secundario		0	
Sector terciario		0	

Los índices fueron considerados de la siguiente forma:

- a) **Frecuencia de mención (FM).** Corresponde al número de respuestas positivas dadas por los informantes (Pieroni, 2001). Para reducir el sesgo matemático se realizó una estandarización, ajustándolo a escala 0-1 al dividirlo entre el número de informantes entrevistados.
- b) **Índice de disponibilidad percibida (DP).** Este índice expresa la disponibilidad de la planta en el medio natural desde la percepción de los informantes; aunque este valor no representa un índice de disponibilidad determinado, es considerado como un índice de disponibilidad “percibida”, ya que expresa indirectamente la disponibilidad de la especie en el contexto silvestre y representa un factor que influye en el significado cultural de esa especie dentro de un grupo y un contexto natural específicos (Pieroni, 2001). Los criterios fueron ajustados como: Mucho (4), Regular (3), Poco (2) y Escaso (casi no hay) (1).
- c) **Índice de la Parte Usada (IPU).** Este valor expresa el uso múltiple de diversas partes de la misma planta (Pieroni, 2001), por ello, las partes útiles se clasificaron en tres aspectos: partes vegetativas, partes reproductivas y planta completa (Blancas *et al.*, 2013) y el valor de IPU dependió del número de clasificaciones en que se ubicaron las partes útiles.
- d) **Índice del Tipo de Uso (TU).** Expresa su valor según el tipo de uso que se le da a la planta o parte empleada (Turner, 1988). Los valores fueron asignados de acuerdo al número de categorías de uso de cada planta, usando como premisa que las distintas categorías de uso tienen el mismo nivel de importancia.

- e) **Índice de la Forma de Uso (FU)**. Este valor indica el grado de complejidad en el procesamiento para su uso. Para las plantas o partes de ellas que son empleadas sin procesar se asignó un valor bajo y donde se requiere de un conocimiento más profundo sobre la especie para procesamiento, se asignaron valores altos. Los criterios y valores usados fueron: Uso de plantas o partes sin procesar (1), Primer nivel de procesamiento (hervido, machacado) (2), Segundo nivel de procesamiento (proceso que requiere mayor consumo de energía) (3).

Procesamiento de la información

Los datos de cada localidad se procesaron empleando la técnica de ordenación multivariada llamada análisis de componentes principales en el programa IBM SPSS Statistics for Windows (IMB Corp., 2014). Se usaron los valores del primer componente como una medida de importancia cultural, debido a que éste tiene el mayor porcentaje de la variación explicada por el modelo. Los nombres científicos fueron ordenados de forma descendente de acuerdo con la puntuación obtenida en el índice de valor cultural (Baldauf & dos Santos, 2019; Rangel-Landa *et al.*, 2017), posteriormente se ubicaron a las plantas útiles de mayor, mediana y menor importancia cultural.

RESULTADOS

Categorías de uso

En Capulálpam de Méndez se registraron 122 especies con 177 menciones de usos, mientras que en Santa María Jaltianguis se encontraron 128 especies con 192 menciones de usos y en ambos casos, las categorías de uso de mayor importancia en cuanto el número de especies fueron: medicinal, comestible, ornamental y ritual (Fig. 1). De acuerdo con el número de usos por planta, 78 especies de Capulálpam tienen un uso, 34 tienen dos usos, 6 tienen tres usos y 4 tienen cuatro usos; en Jaltianguis, 79 tienen un uso, 39 tienen dos usos, 7 tres usos y 3 cuatro usos.

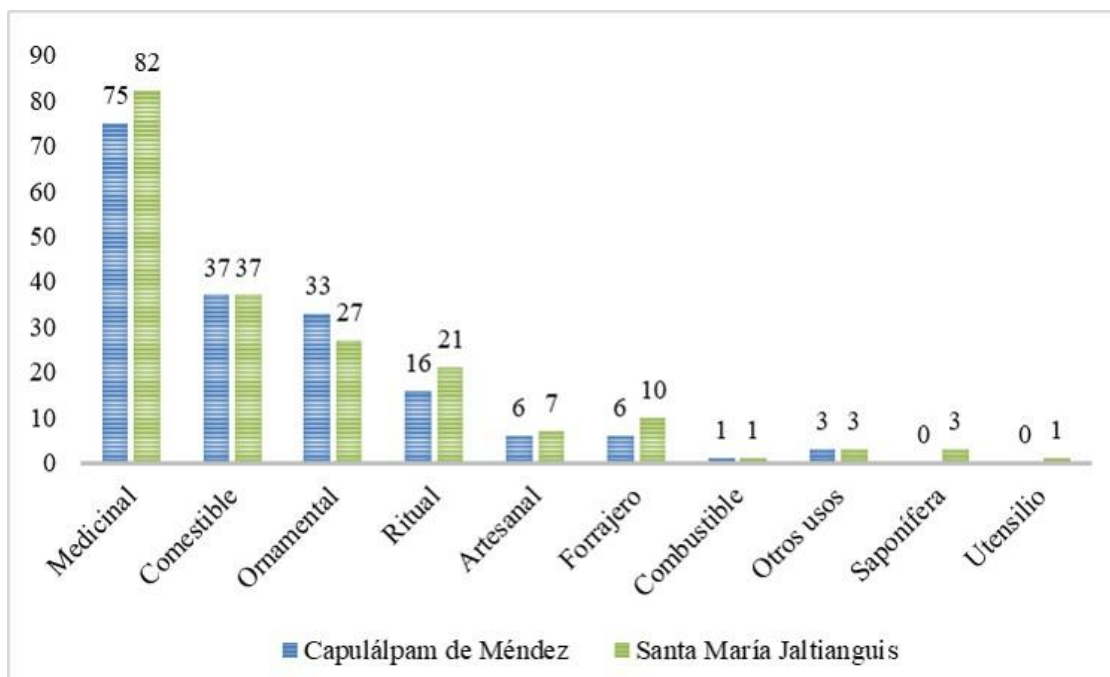


Fig. 1. Número de RFNM por categorías de uso en las comunidades de estudio.

Valor de importancia cultural

Para Capulálpam de Méndez el grupo de RFNM de mayor importancia incluye desde *Clinopodium macrostemum* hasta *Parietaria pensylvanica*; las de mediana importancia se encuentran desde *Alnus acuminata* hasta *Sonchus oleraceus*; y las de menor importancia van desde *Dichaea glauca* hasta *Rosmarinus officinalis* (Cuadro 2). El grupo de mayor importancia para Santa María Jaltianguis abarca desde *Prunus serotina* hasta *Abies guatemalensis*; las de mediana importancia están desde *Opuntia* sp. hasta *Schinus molle*; y las de menor importancia se agrupan de *Alnus acuminata* hasta *Datura stramonium* (Cuadro 3).

Cuadro 2. Valor de importancia cultural de los recursos forestales no maderables en Capulálpam de Méndez, Oaxaca.

Nombre científico	PU	Uso	FM	DP	IPU	TU	FU	VC
<i>Clinopodium macrostemum</i> (Moc. & Sessé ex Benth.) Kuntze	H	C, M	1	3.7	1.0	1.6	2.0	3.083
<i>Tillandsia usneoides</i> (L.) L.	PC	R	0.96	3.7	1.0	1.5	1.0	2.804
<i>Pinus</i> sp. 3	Fr	R, Cb	0.96	3.8	1.0	1.5	1.2	2.749
<i>Litsea glaucescens</i> Kunth.	H, RH	C, M, R	0.96	3.7	1.0	1.5	2.0	2.655
<i>Tagetes lucida</i> Cav.	H, F, Rz	M, C	0.64	3.5	1.3	1.6	2.0	2.286
<i>Mentha canadensis</i> L.	H	C, M	0.2	2.8	1.0	1.8	2.0	1.913
<i>Disocactus ackermannii</i> (Haw.) Ralf Bauer	PC, F	O	0.92	3.2	1.3	1.3	1.5	1.798
<i>Bacopa</i> sp.	RH	M, C	0.88	3.1	1.0	1.4	2.0	1.779
<i>Rubus adenotrichus</i> Schtdl.	Fr, Rz	C, M	1	3.4	1.2	1.2	1.6	1.738
<i>Rubus</i> sp.	Fr, Rz	M, C	0.84	3.3	1.3	1.3	1.5	1.576
<i>Baccharis heterophylla</i> Kunth	PC, RH, H	M, A, OU	0.72	3.9	1.0	1.3	1.7	1.541
<i>Arctostaphylos pungens</i> Kunth.	H, RH, Fr	M	0.8	3.3	1.4	1.3	1.8	1.484
<i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	C, PC	M, OU	0.84	3.9	1.1	1.2	1.6	1.474
<i>Barkleyanthus salicifolius</i> (Kunth) H. Rob. & Brettell	PC, H, RH, Cg	M, A	0.76	3.8	1.1	1.3	1.8	1.319
<i>Prunus serotina</i> subsp. capuli (Cav. Ex Spreng.) McVaugh	H, Fr	C	0.96	3.6	1.1	1.1	1.1	1.260
<i>Berula erecta</i> (Huds.) Coville	H	C	0.6	3.7	1.0	1.3	1.1	1.234
<i>Abies guatemalensis</i> Rehder	RH, PC	R, O	0.8	2.6	1.2	1.2	1.1	1.219
<i>Rumex crispus</i> L.	H	F	0.64	3.8	1.0	1.3	1.7	1.071
<i>Solanum nigrescens</i> M. Martens & Galeotti	RH, Fr	C, M	0.8	3.4	1.2	1.2	2.0	1.070
<i>Manihot</i> sp.	H	C	0.64	2.8	1.0	1.3	2.0	1.052
<i>Tillandsia</i> sp. 1	PC	O, R	0.32	3.5	1.0	1.4	1.0	1.046
<i>Tillandsia</i> sp. 2	PC	O, R	0.44	3.6	1.0	1.3	1.0	0.941
<i>Pinus</i> sp. 1	H	A, R	0.64	3.8	1.0	1.2	1.9	0.801
<i>Gnaphalium</i> sp.	H, RH, F, Rz	M	1	3.6	1.6	1.0	2.0	0.790
<i>Baccharis salicina</i> Torr. & A.Gray	RH	M	0.68	3.7	1.0	1.1	1.4	0.751
<i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.	RH	C	0.84	3.7	1.0	1.0	1.0	0.751
<i>Annona cherimola</i> Mill.	H, RH, C, F, Fr	M, C	0.8	2.3	1.1	1.1	1.3	0.736
<i>Acacia</i> sp.	F, Cg, RH	C, A	0.08	3.5	1.0	1.5	2.0	0.718

Nombre científico	PU	Uso	FM	DP	IPU	TU	FU	VC
<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & clemants	RH	M, C	0.52	3.2	1.0	1.2	1.8	0.655
<i>Heterotheca inuloides</i> Cass.	H, RH	M	0.92	3.7	1.0	1.0	2.0	0.624
<i>Dodonaea viscosa</i> (L.) Jacq.	PC, RH, H	M	0.76	3.6	1.1	1.1	1.6	0.617
<i>Polytrichum</i> sp.	PC	R	0.76	3.7	1.0	1.0	1.0	0.617
<i>Papillaria</i> sp.	PC	R	0.64	3.7	1.0	1.1	1.0	0.594
<i>Sambucus canadensis</i> L.	RH, H, F	M	0.88	3.3	1.4	1.0	2.0	0.496
<i>Equisetum myriochaetum</i> Schltld. & Cham.	RH	M	0.84	3.8	1.0	1.0	2.0	0.482
<i>Cestrum nocturnum</i> L.	H, RH	M, R	0.84	3.8	1.0	1.0	2.0	0.471
<i>Prosthechea michuacana</i> (Lex.) W.E.Higgins	PC	O	0.72	3.3	1.0	1.0	1.0	0.463
<i>Tournefortia</i> sp.	H	M	0.84	2.5	1.0	1.0	2.0	0.446
<i>Malva parviflora</i> L.	H, RH, F, Fr	M	0.84	3.5	1.1	1.0	2.0	0.438
<i>Parietaria pensylvanica</i> Muhl. ex Willd.	PC, H, RH	M	0.8	3.4	1.0	1.0	2.0	0.351
<i>Alnus acuminata</i> Kunth	PC, H	A, O, OU	0.36	3.3	1.2	1.2	1.8	0.323
<i>Oncidium</i> sp.	PC	O	0.64	3.4	1.0	1.0	1.0	0.319
<i>Agave</i> sp. 3	PC, F, Pn, Q	O, C, M, F	0.44	3.0	1.2	1.2	1.9	0.244
<i>Tithonia tubaeformis</i> (Jacq.) Cass.	F	M, R	0.4	3.8	1.3	1.1	1.2	0.212
<i>Taraxacum campylodes</i> G.E.Haglund	H, RH, F, Rz	M	0.68	3.6	1.4	1.0	2.0	0.149
<i>Agave</i> sp. 2	Ag, Pn	C, M	0.12	2.3	1.0	1.3	1.7	0.112
<i>Prosthechea vitellina</i> (Lindl.) W.E.Higgins	PC	O	0.56	3.0	1.0	1.0	1.0	0.099
<i>Tagetes micrantha</i> Cav.	H	M	0.64	3.6	1.0	1.0	2.0	0.061
<i>Prosthechea varicosa</i> (Bateman ex Lindl.) W.E.Higgins	PC	O	0.52	3.0	1.0	1.0	1.0	0.020
<i>Rhynchosstele aptera</i> (Lex.) Soto Arenas & Salazar	PC	O	0.52	3.0	1.0	1.0	1.0	0.020
<i>Spermacoce</i> sp.	RH	M	0.6	3.5	1.0	1.0	1.9	-0.004
<i>Epiphyllum</i> sp.	PC	O	0.48	3.2	1.0	1.0	1.0	-0.033
<i>Conyza filaginoides</i> (DC.) Hieron.	H, RH	M	0.6	3.2	1.0	1.0	2.0	-0.087
<i>Montanoa</i> sp. 1	H, RH	M	0.6	3.1	1.0	1.0	2.0	-0.108
<i>Isochilus oaxacanus</i> Salazar & Soto Arenas	PC	O	0.44	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.140
<i>Pinaropappus roseus</i> (Less.) Less.	H, RH	M	0.56	3.3	1.0	1.0	2.0	-0.153
<i>Mimosa albida</i> Willd.	Rz	M	0.52	3.6	1.1	1.0	2.0	-0.179
<i>Psidium guajava</i> L.	Fr	C	0.44	2.6	1.0	1.0	1.0	-0.198
<i>Crotalaria pumila</i> Ortega	H	C	0.52	3.5	1.0	1.0	2.0	-0.204
<i>Phyla scaberrima</i> (Juss. ex Pers.) Moldenke	H, RH	M, R	0.28	2.7	1.0	1.1	1.7	-0.205
<i>Laelia anceps</i> Lindl.	PC	O	0.4	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.220
<i>Peperomia rotundifolia</i> (L.) Kunth.	H	C	0.44	2.5	1.0	1.0	1.0	-0.227
<i>Cnidioscolus multilobus</i> (Pax) I.M. Johnst.	H	M	0.52	2.9	1.0	1.0	2.0	-0.291
<i>Ageratina petiolaris</i> (Moc. & Sessé ex DC.) R.M.King & H.Rob.	H, RH, F	M	0.44	3.7	1.1	1.0	1.9	-0.293

Nombre científico	PU	Uso	FM	DP	IPU	TU	FU	VC
<i>Leucaena</i> sp.	Cg, F	C	0.32	3.4	1.1	1.0	1.0	-0.317
<i>Agave</i> sp. 1	F, Q	C, F	0.56	3.0	1.0	1.0	2.5	-0.348
<i>Salix bonplandiana</i> Kunth	H, RH	M, R	0.32	3.4	1.0	1.0	1.1	-0.356
<i>Arpophyllum spicatum</i> Lex.	PC	O	0.32	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.379
<i>Begonia</i> sp. 1	PC	O	0.28	3.1	1.0	1.0	1.0	-0.436
<i>Epidendrum</i> sp. 1	PC	O	0.28	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.459
<i>Pinus</i> sp. 2	Rs	M	0.28	4.0	1.0	1.0	1.6	-0.469
<i>Vitis tiliifolia</i> Humb. & Bonpl. ex Schult.	Fr, Cg	C, M	0.32	2.4	1.0	1.0	1.0	-0.479
<i>Argemone mexicana</i> L.	RH	M	0.24	3.7	1.0	1.0	1.3	-0.531
<i>Geranium seemannii</i> Peyr.	RH	M	0.32	3.6	1.0	1.0	1.9	-0.540
<i>Polypodium guttatum</i> Maxon	PC	M	0.36	3.3	1.0	1.0	2.0	-0.544
<i>Tridax coronopifolia</i> (Kunth) Hemsl.	RH	C	0.36	3.1	1.0	1.0	1.9	-0.546
<i>Epidendrum</i> sp. 2	PC	O	0.2	3.2	1.0	1.0	1.0	-0.586
<i>Acacia pennatula</i> (Schltdl. & Cham.) Benth.	RH	F	0.12	4.0	1.7	1.0	1.0	-0.608
<i>Passiflora subpeltata</i> Ortega	H	M	0.32	2.5	1.0	1.0	1.5	-0.608
<i>Phaseolus</i> sp.	Cg, F, Fr	C	0.36	2.9	1.3	1.0	2.0	-0.611
<i>Arbutus xalapensis</i> Kunth.	Cg, C	M	0.28	3.9	1.0	1.0	2.0	-0.619
<i>Sonchus oleraceus</i> (L.) L.	RH	F	0.2	4.0	1.0	1.0	1.6	-0.637
<i>Dichaea glauca</i> (Sw.) Lindl.	PC	O	0.2	2.8	1.0	1.0	1.0	-0.650
<i>Tropaeolum majus</i> L.	H	M	0.28	3.0	1.0	1.0	1.7	-0.672
<i>Nasturtium officinale</i> R.Br.	RH	C	0.08	4.0	1.0	1.0	1.0	-0.697
<i>Rhynchosstele maculata</i> (Lex.) Soto Arenas & Salazar	PC	O	0.16	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.698
<i>Epidendrum propinquum</i> A.Rich. & Galeotti	PC	O	0.12	3.3	1.0	1.0	1.0	-0.724
<i>Begonia</i> sp. 2	PC	O	0.08	3.5	1.0	1.0	1.0	-0.777
<i>Datura stramonium</i> L.	H	M	0.04	4.0	1.0	1.0	1.0	-0.777
<i>Encyclia microbulbon</i> (Hook.) Schltr.	PC	O	0.12	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.778
<i>Prosthechea karwinskii</i> (Mart.) J.M.H. Shaw	PC	O	0.12	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.778
<i>Rhynchosstele cervantesii</i> subsp. membranacea (Lindl.) Soto Arenas & Salazar	PC	O	0.12	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.778
<i>Galeana pratensis</i> (Kunth) Rydb.	RH	C	0.2	3.6	1.0	1.0	2.0	-0.820
<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth	H, RH, F	M	0.24	3.0	1.3	1.0	2.0	-0.832
<i>Rumex</i> sp.	H	M	0.24	3.0	1.0	1.0	2.0	-0.837
<i>Sida rhombifolia</i> L.	H	M	0.2	3.4	1.0	1.0	2.0	-0.852
<i>Lepidium virginicum</i> L.	RH	M	0.16	3.8	1.0	1.0	2.0	-0.876
<i>Quercus</i> sp.	RH	M	0.12	4.0	1.0	1.0	2.0	-0.915
No identificada 1	H	M	0.12	3.3	1.0	1.0	1.7	-0.923
<i>Tagetes foetidissima</i> Hort. ex DC.	RH	R	0.04	3.0	2.0	1.0	1.0	-0.923
<i>Arundo donax</i> L.	RH	R	0.04	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.937
<i>Montanoa</i> sp. 2	RH	R	0.04	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.937

Nombre científico	PU	Uso	FM	DP	IPU	TU	FU	VC
<i>Quercus laurina</i> Bonpl.	H	M	0.12	3.7	1.0	1.0	2.0	-0.969
<i>Taxodium huegelii</i> C. Lawson	RH, PC	M, O	0.12	3.0	1.0	1.0	1.7	-0.977
<i>Phaseolus coccineus</i> L.	F, Fr	C	0.16	3.0	1.3	1.0	2.0	-0.993
<i>Brassica rapa</i> L.	RH	C	0.08	4.0	1.0	1.0	2.0	-0.995
<i>Cirsium</i> sp.	RZ	M	0.08	4.0	1.0	1.0	2.0	-0.995
<i>Loeselia mexicana</i> (Lam.) Brand	PC	M	0.08	4.0	1.0	1.0	2.0	-0.995
No identificada 3	RH	M	0.08	4.0	1.0	1.0	2.0	-0.995
<i>Lippia</i> sp.	H	C, M	0.16	3.0	1.0	1.0	2.0	-0.996
<i>Licania arborea</i> Seem.	Fr	M	0.16	2.8	1.0	1.0	2.0	-1.036
<i>Casimiroa edulis</i> La Llave	H	M	0.2	2.2	1.0	1.0	2.0	-1.045
<i>Psittacanthus</i> sp.	H	M	0.04	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.075
<i>Selaginella</i> sp.	RH	M	0.04	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.075
<i>Stachys coccinea</i> Ortega	RH, F	M	0.08	3.0	2.0	1.0	2.0	-1.142
<i>Agave</i> sp. 4	Q, PC	C, O	0.08	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.156
<i>Calendula officinalis</i> L.	H, F	M	0.04	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.235
<i>Erythrina americana</i> Mill.	F	C	0.04	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.235
No identificada 2	RH	M	0.04	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.235
<i>Piper auritum</i> Kunth	H	C	0.04	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.235
<i>Portulaca</i> sp.	RH	M	0.04	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.235
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	RH	M	0.04	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.235

Parte usada (PU): PC= Planta completa, H= Hoja, RH= Rama con hojas, F= Flor, Fr= Fruto, Rz= Raíz, C= Corteza, Pn= Penca, Cg= Cogollo, Q= Quiote, Rs=Resina, Ag=Aguamiel; las denominaciones de la parte usada se realizaron de acuerdo con los nombres aportados por los informantes clave. Uso (categoría de uso): A = artesanal, C = comestible, Cb = combustible, F = forrajero, R = ritual, M = medicinal, O = ornamental, OU = otros usos. Índice de frecuencia de mención (FM), índice de disponibilidad percibida (DP), índice de la parte usada (IPU), índice del tipo de uso (TU), índice de la forma de uso (FU) y valor cultural (VC) de los recursos forestales no maderables.

Cuadro 3. Valor de importancia cultural de los recursos forestales no maderables en Santa María Jaltianguis, Oaxaca.

Nombre científico	PU	Uso	FM	DP	IPU	TU	FU	VC
<i>Prunus serotina</i> subsp. <i>capuli</i> (Cav. Ex Spreng.) McVaugh	PC, H, Fr, Cg	M, C, O	1	4.0	2.8	2.9	1.4	1.313
<i>Litsea glaucescens</i> Kunth.	H, RH	M, C, R	1	4.0	1.0	2.4	2.0	1.309
<i>Tagetes lucida</i> Cav.	PC, H, Rz	M, C	1	4.0	1.7	1.8	2.0	1.308
<i>Arctostaphylos pungens</i> Kunth.	H, Fr, Cg	M	1	3.6	1.9	2.0	2.0	1.307
<i>Berula erecta</i> (Huds.) Coville	RH	C, F	1	4.0	1.0	1.5	1.2	1.306
<i>Brassica rapa</i> L.	RH	C	1	4.0	1.0	1.4	2.0	1.306
<i>Bursera</i> sp.	C, Rs	M, R	1	4.0	1.0	1.5	1.4	1.306
<i>Gnaphalium</i> sp.	RH, F	M	1	4.0	1.9	1.0	1.9	1.306
<i>Montanoa</i> sp. 1	H, F	M, S, R	1	4.0	1.2	1.3	1.9	1.306
<i>Rubus adenotrichus</i> Schlttdl.	Fr, Rz	M, C	1	4.0	1.1	1.5	1.4	1.306
<i>Papillaria</i> sp.	PC	R	1	4.0	1.0	1.3	1.0	1.305

Nombre científico	PU	Uso	FM	DP	IPU	TU	FU	VC
<i>Tillandsia usneoides</i> (L.) L.	PC	R	1	4.0	1.0	1.4	1.0	1.305
<i>Agave</i> sp.1	F, Pn, Q	C, M	1	3.3	2.1	1.2	2.6	1.304
<i>Ageratina petiolaris</i> (Moc. & Sessé ex DC.) R.M.King & H.Rob.	H, Cg	M	1	4.0	1.0	1.0	1.3	1.304
<i>Clinopodium macrostemum</i> (Moc. & Sessé ex Benth.) kuntze	H	C, M	1	3.3	1.0	1.9	2.0	1.304
<i>Dodonaea viscosa</i> (L.) Jacq.	H, Cg	M	1	4.0	1.0	1.0	1.1	1.304
<i>Prosthechea karwinskii</i> (Mart.) J.M.H. Shaw	PC	O	1	3.9	1.0	1.0	1.0	1.304
<i>Nasturtium officinale</i> R.Br.	RH	C	1	4.0	1.0	1.0	1.7	1.304
<i>Parietaria pensylvanica</i> Muhl. ex Willd.	H, RH	M	1	4.0	1.0	1.0	1.9	1.304
<i>Pinus ayacahuite</i> Ehrenb. ex Schldtl.	Rs	M	1	4.0	1.0	1.0	1.0	1.304
<i>Pinus pseudostrobus</i> var. <i>apulcensis</i> (Lindl.) Shaw	PC, RH, Fr	M, R, A, Cb	1	4.0	1.0	1.0	1.6	1.304
<i>Porophyllum linaria</i> (Cav.) DC.	RH	C	1	4.0	1.0	1.0	1.0	1.304
<i>Spermacoce</i> sp.	RH	M	1	4.0	1.0	1.0	2.0	1.304
<i>Tanacetum parthenium</i> (L.) Sch.Bip.	H	M	1	3.9	1.0	1.0	1.5	1.304
<i>Sambucus canadensis</i> L.	F	M	1	3.6	1.0	1.0	2.0	1.303
<i>Bacopa</i> sp.	RH, Ta, C, Fr	M	1	3.1	1.0	1.4	1.9	1.302
<i>Equisetum myriochaetum</i> Schldtl. & Cham.	RH	M	1	3.3	1.0	1.0	2.0	1.301
<i>Rubus</i> sp.	Fr, Rz	C, M	1	3.3	1.1	1.1	1.1	1.301
<i>Tournefortia</i> sp.	H	M	1	3.3	1.0	1.0	2.0	1.301
<i>Peperomia rotundifolia</i> (L.) Kunth.	RH	C, M	1	3.1	1.0	1.1	1.0	1.300
<i>Tagetes foetidissima</i> Hort. ex DC.	RH	R	1	2.7	1.5	1.1	1.0	1.299
<i>Baccharis heterophylla</i> Kunth	PC, RH, Cg	M, A, O	0.93333333	4.0	1.1	1.1	1.7	1.122
<i>Malva parviflora</i> L.	RH, H	M, F	0.93333333	4.0	1.0	1.4	2.0	1.122
<i>Rumex</i> sp.	H, Cg	M, F	0.93333333	3.7	1.0	1.2	1.4	1.121
<i>Arundo donax</i> L.	RH, H, Ta	M, R, A	0.93333333	2.9	1.1	1.6	1.6	1.119
<i>Salix bonplandiana</i> Kunth	PC	O, U	0.93333333	2.9	1.0	1.1	1.1	1.116
<i>Annona cherimola</i> Mill.	H, RH, F, Fr, C	M, C	0.86666667	3.0	1.9	1.9	2.0	0.938
<i>Taraxacum campyloides</i> G.E. Haglund	H, Rz	M	0.86666667	3.9	1.0	1.0	2.0	0.938
<i>Tillandsia</i> sp. 1	PC	C, R, O	0.86666667	4.0	1.0	1.2	1.0	0.938
<i>Morus celtidifolia</i> Kunth	PC, Fr	C, O	0.86666667	2.1	1.6	1.6	1.0	0.932
<i>Solanum nigrescens</i> M. Martens & Galeotti	RH, H	C, M	0.8	3.8	1.0	1.1	2.0	0.755
<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth	PC, H, F	M, O	0.8	3.6	1.1	1.1	2.0	0.754
<i>Abies guatemalensis</i> Rehder	RH	R	0.8	2.5	1.0	1.0	1.0	0.748
<i>Opuntia</i> sp.	Fr, Pn	C	0.73333333	4.0	1.4	1.1	1.6	0.573
<i>Arbutus xalapensis</i> Kunth.	F, Cg	M, R	0.73333333	4.0	1.1	1.1	1.7	0.572
<i>Rumex crispus</i> L.	RH	C, F	0.73333333	4.0	1.0	1.1	1.5	0.572
<i>Polytrichum</i> sp.	PC	R	0.73333333	3.9	1.0	1.0	1.0	0.571
<i>Verbena carolina</i> L.	H, Cg, RH	M, C	0.73333333	3.1	1.0	1.0	1.6	0.568
<i>Crotalaria pumila</i> Ortega	RH	C	0.66666667	4.0	1.0	1.0	2.0	0.389
<i>Polypodium guttatum</i> Maxon	Ta	M	0.66666667	3.2	1.0	1.0	2.0	0.386

Nombre científico	PU	Uso	FM	DP	IPU	TU	FU	VC
<i>Conyza filaginoides</i> (DC.) Hieron.	H	M	0.66666667	3.1	1.0	1.0	2.0	0.385
<i>Quercus laurina</i> Bonpl.	RH, C	M, R	0.6	4.0	1.0	1.8	1.9	0.209
<i>Heterotheca inuloides</i> Cass.	H, RH	M	0.6	4.0	1.0	1.0	2.0	0.206
<i>Pinus devoniana</i> Lindl.	H	R	0.6	4.0	1.0	1.0	2.0	0.206
<i>Sonchus oleraceus</i> (L.) L.	RH, Rz	C, M	0.6	4.0	1.0	1.1	1.9	0.206
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Rz, RH	M, A	0.6	3.3	1.0	1.2	1.4	0.204
<i>Mentha canadensis</i> L.	RH	C	0.6	3.2	1.0	1.0	2.0	0.203
<i>Oxalis corniculata</i> L.	H, RH, Rz	C, M	0.53333333	4.0	1.0	1.3	1.8	0.024
<i>Phaseolus coccineus</i> L.	F, Fr	C, M, F	0.53333333	4.0	1.3	1.3	1.9	0.024
<i>Baccharis salicina</i> Torr. & A.Gray	RH	M	0.53333333	4.0	1.0	1.0	1.4	0.023
<i>Cuphea</i> sp.	Fr	M	0.53333333	4.0	1.0	1.0	2.0	0.023
<i>Dasyilirion serratifolium</i> (Karw. ex Schult. & Schult.f.) Zucc.	Fr, H	C, R	0.53333333	4.0	1.1	1.1	1.1	0.023
<i>Tillandsia</i> sp. 3	PC	O	0.53333333	4.0	1.0	1.0	1.0	0.023
<i>Barkleyanthus salicifolius</i> (Kunth) H.Rob. & Brettell	Cg, H, F	M, R	0.53333333	3.4	1.0	1.0	1.4	0.020
<i>Rhynchostele aptera</i> (Lex.) Soto Arenas & Salazar	PC	O	0.53333333	3.1	1.0	1.0	1.0	0.019
<i>Plantago major</i> L.	H	M	0.46666667	4.0	1.0	1.0	2.0	-0.160
<i>Sida rhombifolia</i> L.	H, Rz	M, S	0.46666667	3.9	1.0	1.1	2.0	-0.160
<i>Acacia</i> sp.	C, Cg	M	0.46666667	3.6	1.0	1.3	1.7	-0.161
<i>Mimosa albida</i> Willd.	Rz	M	0.46666667	3.6	1.0	1.3	1.7	-0.165
<i>Quercus crassifolia</i> Bonpl.	C	M	0.4	4.0	1.0	1.0	2.0	-0.343
<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.) Mosyakin & Clemants	RH	M	0.4	3.2	1.0	1.8	1.8	-0.344
<i>Cnidioscolus multilobus</i> (Pax.) I.M.Johnst.	H, Rz	M	0.4	3.0	1.0	1.0	1.8	-0.347
<i>Cornus excelsa</i> Kunth	RH, Ta	R, A	0.4	3.0	1.0	1.2	1.2	-0.347
<i>Mentha x rotundifolia</i> (L.) Huds.	RH	M	0.4	3.0	1.0	1.0	2.0	-0.347
<i>Dichaea glauca</i> (Sw.) Lindl.	PC	O	0.4	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.348
<i>Laelia furfuracea</i> Lindl.	PC	O	0.4	2.5	1.0	1.0	1.0	-0.350
<i>Fleischmannia pycnocephala</i> (Less.) R.M.King & H.Rob.	H	M	0.33333333	4.0	1.0	1.0	1.8	-0.526
<i>Vitis tiliifolia</i> Humb. & Bonpl. ex Schult.	H, Ta	F, A, OU	0.33333333	3.6	1.0	1.2	1.4	-0.527
<i>Prosthechea michuacana</i> (Lex.) W.E.Higgins	PC	O	0.33333333	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.531
<i>Tillandsia</i> sp. 2	PC	O	0.26666667	4.0	1.0	1.0	1.0	-0.710
<i>Leucaena</i> sp.	Cg, F, Fr	C, M	0.26666667	3.3	1.3	1.0	1.0	-0.712
<i>Salvia</i> sp.	H	M	0.26666667	3.0	1.0	1.0	2.0	-0.713
<i>Arpophyllum spicatum</i> Lex.	PC	O	0.26666667	3.0	1.0	1.0	1.0	-0.714
<i>Urtica chamaedryoides</i> Pursh	RH, Fr	M, OU	0.26666667	2.8	1.0	1.0	1.0	-0.715
<i>Schinus molle</i> L.	RH	M	0.26666667	2.0	1.0	1.0	1.0	-0.718
<i>Wigandia urens</i> (Ruiz & Pav.) Kunth	H	M	0.26666667	2.0	1.0	1.0	1.8	-0.718
<i>Alnus acuminata</i> Kunth	PC, C, H	R, M	0.2	4.0	1.3	1.3	1.7	-0.891
<i>Geranium seemanii</i> Peyr.	H	M	0.2	4.0	1.0	1.0	1.3	-0.892

Nombre científico	PU	Uso	FM	DP	IPU	TU	FU	VC
<i>Tagetes micrantha</i> Cav.	RH	C, M	0.2	4.0	1.0	1.0	2.0	-0.892
<i>Passiflora subpeltata</i> Ortega	H	M	0.2	3.7	1.0	1.0	2.3	-0.894
<i>Erythrina americana</i> Mill.	F, C	M, C	0.2	2.0	1.3	1.3	2.0	-0.899
<i>Anoda</i> sp.	RH	M	0.13333333	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.075
<i>Galeana pratensis</i> (Kunth) Rydb.	RH, F	C	0.13333333	4.0	1.5	1.0	2.0	-1.075
<i>Lepidium virginicum</i> L.	RH, H	M	0.13333333	4.0	1.0	1.0	1.5	-1.075
<i>Sedum dendroideum</i> DC. Moc. & Sessé ex DC.	H, PC	M, O	0.13333333	3.0	2.0	2.0	1.0	-1.075
<i>Argemone mexicana</i> L.	RH	M	0.13333333	4.0	1.0	1.0	1.0	-1.076
<i>Piper auritum</i> Kunth	H	C, M	0.13333333	3.5	1.0	1.5	2.0	-1.076
<i>Lepechinia</i> sp.	RH	M	0.13333333	3.5	1.0	1.0	2.0	-1.077
<i>Encyclia microbulbon</i> (Hook.) Schltr.	PC	O	0.13333333	3.5	1.0	1.0	1.0	-1.078
<i>Oreopanax xalapensis</i> (Kunth) Decne. & Planch.	RH	R	0.13333333	3.5	1.0	1.0	1.0	-1.078
<i>Prosthechea tripunctata</i> (Lindl.) W.E.Higgins	PC	O	0.13333333	3.5	1.0	1.0	1.0	-1.078
<i>Prosthechea vitellina</i> (Lindl.) W.E.Higgins	PC	O	0.13333333	3.5	1.0	1.0	1.0	-1.078
<i>Barkeria melanocaulon</i> A.Rich. & Galeotti	PC	O	0.13333333	3.0	1.0	1.0	1.0	-1.080
<i>Bouvardia</i> sp.	PC	O	0.13333333	3.0	1.0	1.0	1.0	-1.080
<i>Deiregyne eriophora</i> (B.L.Rob. & Greenm.) Garay	PC	O	0.13333333	3.0	1.0	1.0	1.0	-1.080
<i>Fraxinus uhdei</i> (Wenz.) Lingelsh.	H	M	0.13333333	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.080
<i>Govenia utriculata</i> (Sw.) Lindl.	PC	O	0.13333333	3.0	1.0	1.0	1.0	-1.080
<i>Laelia anceps</i> Lindl.	PC	O	0.13333333	3.0	1.0	1.0	1.0	-1.080
<i>Manihot</i> sp.	H	M	0.13333333	2.5	1.0	1.0	2.0	-1.082
<i>Phytolacca icosandra</i> L.	H, Fr	M, F	0.06666667	4.0	2.0	2.0	2.0	-1.254
<i>Montanoa</i> sp. 2	RH, F	R	0.06666667	4.0	2.0	1.0	1.0	-1.257
<i>Borago officinalis</i> L.	H, F	M	0.06666667	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.258
<i>Cercocarpus macrophyllus</i> C.K.Schneid.	Ta	A	0.06666667	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.258
<i>Heimia salicifolia</i> (Kunth) Link	H	M	0.06666667	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.258
<i>Mammillaria</i> sp.	RH	M	0.06666667	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.258
<i>Portulaca</i> sp.	RH	C	0.06666667	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.258
<i>Psittacanthus</i> sp.	PC, Fr	O, OU	0.06666667	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.258
<i>Selaginella</i> sp.	RH	M	0.06666667	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.258
<i>Tridax coronopifolia</i> (Kunth) Hemsl.	RH	C	0.06666667	4.0	1.0	1.0	2.0	-1.258
<i>Hylocereus</i> sp.	Fr	C	0.06666667	4.0	1.0	1.0	1.0	-1.259
<i>Microsechium</i> sp.	Rz	S	0.06666667	4.0	1.0	1.0	1.0	-1.259
<i>Adiantum</i> sp.	H	M	0.06666667	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.263
<i>Epidendrum</i> sp. 3	PC	O	0.06666667	3.0	1.0	1.0	1.0	-1.263
<i>Marrubium vulgare</i> L.	H	M	0.06666667	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.263
<i>Montanoa</i> sp. 3	H	M	0.06666667	3.0	1.0	1.0	2.0	-1.263
<i>Plumeria rubra</i> L.	F	R	0.06666667	3.0	1.0	1.0	1.0	-1.263
<i>Aloysia</i> sp.	H	M	0.06666667	2.0	1.0	1.0	2.0	-1.267
<i>Datura stramonium</i> L.	H	M	0.06666667	2.0	1.0	1.0	2.0	-1.267

Parte usada (PU): PC= Planta completa, H= Hoja, RH= Rama con hojas, F= Flor, Fr= Fruto, Rz= Raíz, C= Corteza, Pn= Penca, Cg= Cogollo, Q= Quiote, Rs=Resina, Ta=Tallo; las denominaciones de la parte usada se realizaron de acuerdo con los nombres aportados por los informantes clave. Uso (categoría de uso): A = artesanal, C = comestible, Cb = combustible, F = forrajero, R = ritual, M = medicinal, O = ornamental, S = saponífera, U = utensilio, OU = otros usos. Índice de frecuencia de mención (FM), índice de disponibilidad percibida (DP), índice de la parte usada (IPU), índice del tipo de uso (TU), índice de la forma de uso (FU) y valor cultural (VC) de los recursos forestales no maderables.

Con respecto al uso de más de una estructura vegetativa por planta, en Capulálpam de Méndez se registró el uso de hojas y flores de *Taraxacum campyloides*, *Gnaphalium* sp., *Calendula officinalis*, *Tagetes lucida* y *Tecoma stans*, usadas con fines medicinales; rama con hojas y flores de *Tithonia tubaeformis* y *Tagetes foetidissima* empleadas en rituales; rama con hojas y flor de *Gnaphalium* sp., *Ageratina petiolaris* y *Stachys coccinea*, usadas con fines medicinales; cogollo (punta) y flor de *Phaseolus* sp. usada como alimento; flor y raíz de *Gnaphalium* sp. usada como medicina; hojas, flor y fruto de *Acacia pennatula*, empleada como forraje; hojas, flor y raíz de *Taraxacum campyloides* usada como medicina; madera y corteza de *Acacia* sp. usada como medicina; y rama con hojas y frutos de *Arctostaphylos pungens* empleada como medicina. En Santa María Jaltianguis, las plantas con más de una estructura vegetativa útil son: rama con hojas y flor de *Tagetes foetidissima* y *Montanoa* sp. 2 usadas en rituales y *Gnaphalium* sp. usada como medicina; corteza y flor de *Annona cherimola* usada como medicina, hojas y flores de *Borago officinalis* con uso medicinal, así como rama con hojas, hojas y tallo de *Arundo donax*. En las dos comunidades de estudio, las estructuras vegetativas con mayor uso son las hojas.

Para la comunidad de Capulálpam de Méndez, el primer componente explicó el 29.5% de la variación; el segundo componente el 21.1% y el tercer el 20.1%, con un total de 70.7% de la variabilidad; el primer componente tuvo alta correlación positiva con los índices FM y TU, el segundo componente se correlacionó positivamente con FU y DP, y el tercer componente tuvo correlación positiva con IPU. Para Santa María Jaltianguis, el primer componente explicó el 36%; el segundo explicó el 22.9% y el tercero el 19.5%, sumando el 78.4% del total de la variabilidad; los índices se correlacionaron únicamente con los dos primeros componentes; el TU, IPU y FM tuvieron una correlación positiva con el primer componente, y los índices DP y FU, se correlacionaron positivamente con el segundo componente (Cuadro 4).

Cuadro 4. Índices empleados y su nivel de influencia por componente principal para el valor de importancia cultural de los recursos forestales no maderables en Capulálpam de Méndez y Santa María Jaltianguis, Oaxaca.

Índice	Capulálpam de Méndez			Santa María Jaltianguis	
	Componente			Componente	
	1	2	3	1	2
FM	0.786	-0.297	0.049	0.595	0.256
DP	0.417	0.517	-0.315	0.319	0.747
IPU	0.179	0.144	0.944	0.754	-0.429
TU	0.768	-0.270	-0.105	0.842	-0.289
FU	0.257	0.779	0.017	0.336	0.522

Índice de frecuencia de mención (FM), índice de disponibilidad percibida (DP), índice de la parte usada (IPU), índice del tipo de uso (TU), índice de la forma de uso (FU).

DISCUSIÓN

Existe similitud en el conocimiento tradicional de los RFNM en ambas comunidades, ya que comparten información sobre el uso de 84 especies vegetales. En Santa María Jaltianguis se citaron 6 RFNM más que en Capulálpam de Méndez; y aunque no se estimó la significancia de esta diferencia, puede estar asociada al hecho de que los habitantes entrevistados de Santa María Jaltianguis tienen una relación más cercana con los recursos naturales de su entorno ya que se dedican a actividades del sector primario, a diferencia de los habitantes entrevistados de Capulálpam de Méndez quienes se dedican a actividades de los sectores primario, secundario y terciario (Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI], 2011a). En la comunidad de Santa María Jaltianguis las personas se comunican en su lengua materna que es la zapoteca, además del español, aspecto que se asocia positivamente con un conocimiento tradicional sobre el entorno, como lo mencionan Martínez López *et al.* (2016b); Saynes-Vásquez *et al.* (2013) y Zorondo Rodríguez (2007).

El índice referente a la parte usada tiene un aporte importante en el tercer componente para Capulálpam de Méndez, pero en Santa María Jaltianguis su aporte para explicar la variación en el primer componente fue muy bajo, lo que muestra que a pesar de la cercanía y similitudes sociales y culturales entre las dos localidades hay diferencias en cómo se determinan las interacciones Humano-Planta.

Las especies citadas por la mayoría de los informantes son las plantas más conocidas, con la diferencia de que no siempre conocen su uso o forma de preparación específica, aunque si manifiestan conocerlas; de forma contraria, las especies menos citadas, son empleadas por un reducido grupo de personas, estrictamente especialistas locales. Con respecto a las categorías de uso, el mayor número de especies correspondió a medicinal con 75 para Capulálpam de Méndez y 82 para Santa María Jaltianguis; resultados que coinciden con lo reportado en las investigaciones desarrolladas por Loredó-Medina *et al.* (2002); Luna-José & Rendón-Aguilar (2008); Molina-Mendoza *et al.* (2012); Monroy & Ayala (2003) y Padilla Gómez (2007) en diversas comunidades del país.

En el presente trabajo se encontró que la estructura de las plantas de la que se conocen la mayor cantidad de usos son las hojas (hojas individuales o en ramas), seguida de la planta completa, frutos y flor, resultados similares a los obtenidos por Cervantes Servín & Valdés Gutiérrez (1990), quienes indican que después de las hojas se encuentran los tallos; así como Heinrich *et al.* (1998), indican que las hojas son las más empleadas seguidas de la planta completa. Loredó-Medina *et al.* (2002), también mencionan a las hojas como las de mayor uso, seguidas de las flores, mientras que Monroy & Ayala (2003), puntualizan a las hojas y tallos como las de mayor uso. Martínez Bolaños (2012), señala que las hojas, flor, tallo, planta completa, fruto y corteza, son las estructuras de mayor uso; de forma similar a como lo reportan Villarreal-Ibarra *et al.* (2014) y White-Olascoaga *et al.* (2013). Desde el punto de vista ecológico, conocer la parte usada de la planta es una de las bases para determinar la elasticidad de la especie y su grado de vulnerabilidad ante la demanda, información que resulta útil en la toma de decisiones para el manejo de los RFNM (Alexiades & Shanley, 2004; Cunningham, 2000; Peters, 1994), sin embargo, lo anterior debe relacionarse con las técnicas de colecta utilizadas para cada especie, como en el caso del laurel (*Litsea glaucescens*) del cual se ocupan las hojas, no obstante, Arellanes *et al.* (2013) y Blancas *et al.* (2013) señalan que para facilitar la colecta y ahorrar tiempo en la misma, se cortan sus ramas y en ocasiones la planta completa, práctica que ha llevado a la disminución de algunas de sus poblaciones, llegando a ser considerada como una de las especies más vulnerables en regiones como la del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. En México existe una normatividad vigente para el aprovechamiento de algunas especies de recursos no maderables, además de reglas locales establecidas por los ciudadanos de cada comunidad para regular el uso, goce y disfrute de sus recursos. A pesar de que se han realizado estudios para documentar el conocimiento tradicional asociado a los RFNM, todavía hace falta realizar investigaciones para conocer las cantidades que se extraen, el manejo que se le da a

cada especie y la importancia de su comercialización en la economía familiar, lo anterior puede brindar una noción de la vulnerabilidad de las poblaciones de distintos RFNM y contar con la base para el diseño de estrategias de manejo sostenible.

En los territorios o comunidades rurales, los etnobotánicos han estado históricamente preocupados por la amenaza a las culturas y conocimientos tradicionales de las plantas, por lo que en las tres últimas décadas el trabajo se ha centrado en la necesidad de registrar su uso ante la inminente pérdida del conocimiento; sin embargo, a pesar de los esfuerzos por documentarlo, éste se sigue perdiendo alrededor del mundo (Ramirez, 2007). Se han realizado trabajos enfocados a los RFNM en África, Asia, América Latina, el Mediterráneo y el Cercano Oriente¹, y en Norteamérica, pero son pocos en comparación con las investigaciones realizadas para recursos maderables, por ser estos últimos de mayor importancia económica e industrial, dejando de lado a los RFNM que se extraen a pequeña escala, pero son recursos que permanecen en los ecosistemas como un potencial latente sin descubrir, como lo puntualiza Schumacher (1978). Estos esfuerzos para documentar los conocimientos tradicionales brindan la oportunidad de establecer un puente entre los manejadores de los RFNM, los territorios de los que forman parte y la ciencia que se desarrolla en las instituciones académicas, permitiendo acortar caminos para llevar a cabo acciones para la conservación de los recursos naturales.

CONCLUSIONES

Capulálpam de Méndez y Santa María Jaltianguis, Oaxaca, comparten el conocimiento tradicional sobre el uso de 84 RFNM. La mayoría de las especies tienen uso medicinal, 75 para Capulálpam de Méndez y 82 para Santa María Jaltianguis. Para Capulálpam de Méndez la especie con el valor cultural más alto es *Clinopodium macrostemum*, la cual tiene uso comestible y medicinal; mientras que para Santa María Jaltianguis la especie con el valor cultural más alto es *Prunus serotina* con uso comestible y medicinal. La estructura vegetal más utilizada es la hoja.

Un alto porcentaje de la población rural depende de los recursos forestales no maderables para su abasto al ser fuente de alimento, abrigo, materia prima y medicinas. Además, los RFNM representan una importante fuente de ingresos económicos por su venta, ya sea sin ser transformados como ocurre con las plantas medicinales o en productos elaborados como las artesanías o bebidas como el mezcal (Beltrán-Rodríguez *et al.*, 2017; Delgado-Lemus, Torres, *et al.*, 2014; Toledo *et al.*, 2003). El aprovechamiento y conservación de estos recursos son influidos por procesos de erosión cultural en las comunidades que llevan a la pérdida del conocimiento ecológico tradicional y la falta de acuerdos, técnicas y estrategias de manejo que puedan responder a las necesidades y ritmos con que ocurren los procesos de disminución de las poblaciones de algunos recursos (Delgado-Lemus, Casas, *et al.*, 2014). El presente estudio ha permitido identificar los recursos más importantes de forma sistemática y rápida, de manera que se han sentado las bases para realizar futuras investigaciones que permitan entender a profundidad la importancia cultural y económica que representa el aprovechamiento de los RFNM, su presencia, importancia y demanda en los mercados regionales, el manejo de estos, los efectos del aprovechamiento en sus poblaciones, y más aún, el trabajo colaborativo con las comunidades para mejorar las estrategias y técnicas de manejo de las especies sobre las que se ejerce una mayor presión.

¹ <http://www.fao.org/forestry/nwfp/85569/es/> (fecha de consulta: 05 de febrero de 2016).

LITERATURA CITADA

- Adu-Tutu, M., Afful, Y., Asante-Appiah, K., Lieberman, D., Hall, J. B., & Elvin-Lewis, M. (1979). Chewing stick usage in Southern Ghana. *Economic Botany*, 33(3), 320–328. <https://doi.org/10.1007/BF02858262>
- Alexiades, M. N., & Shanley, P. (2004). Productos forestales, medios de subsistencia y conservación: estudios de caso sobre sistemas de manejo de productos forestales no maderables. volumen 3 - America Latina. In M. N. Alexiades & P. Shanley (Eds.), *Productos forestales, medios de subsistencia y conservación: estudios de caso sobre sistemas de manejo de productos forestales no maderables*. (pp. 1–22). Center for International Forestry Research (CIFOR). <https://doi.org/10.17528/CIFOR/001489>
- Arellanes, Y., Casas, A., Arellanes, A., Vega, E., Blancas, J., Vallejo, M., Torres, I., Rangel-Landa, S., Moreno, A. I., Solís, L., & Pérez-Negrón, E. (2013). Influence of traditional markets on plant management in the Tehuacán Valley. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-38>
- Arriaga, L., Espinoza, J. M., Aguilar, C., Martínez, E., Gómez, L., & Loa, E. (2000). *Regiones terrestres prioritarias de México*. <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/regionalizacion/doctos/terrestres.html>
- Aswani, S., Lemahieu, A., & Sauer, W. H. H. (2018). Global trends of local ecological knowledge and future implications. *PLoS ONE*, 13(4), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195440>
- Baldauf, C., & dos Santos, N. D. (2019). The Use of Multivariate Tools in Studies of Traditional Ecological Knowledge and Management Systems. In U. P. Albuquerque, L. V. Fernandes Cruz da Cunha, R. Farias Paiva de Lucena, & R. R. Nóbrega Alves (Eds.), *Methods and Techniques in Ethnobiology and Ethnoecology* (pp. 111–125). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8919-5_9
- Beltrán-Rodríguez, L., Manzo-Ramos, F., Maldonado-Almanza, B., Martínez-Ballesté, A., & Blancas, J. (2017). Wild Medicinal Species Traded in the Balsas Basin, Mexico: Risk Analysis and Recommendations for Their Conservation. *Journal of Ethnobiology*, 37(4), 743–764. <https://doi.org/10.2993/0278-0771-37.4.743>
- Berkes, F., Colding, J., & Folke, C. (2000). Rediscovery of Traditional Ecological Knowledge as Adaptive Management. *Ecological Applications*, 10(5), 1251–1262. [https://doi.org/https://doi.org/10.1890/1051-0761\(2000\)010](https://doi.org/https://doi.org/10.1890/1051-0761(2000)010)
- Blancas, J., Casas, A., Pérez-Salicrup, D., Caballero, J., & Vega, E. (2013). Ecological and socio-cultural factors influencing plant management in Náhuatl communities of the Tehuacán Valley, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-39>
- Caballero, J., Casas, A., Cortés, L., & Mapes, C. (1998). Patrones en el conocimiento, uso y manejo de plantas en pueblos indígenas de México. *Estudios Atacameños*, 16, 181–195. <https://doi.org/10.22199/S07181043.1998.0016.00005>
- Camasca-Vargas, A. (2012). *Estudio de la demanda y estimación del valor cultural y económico de plantas medicinales comercializadas en la ciudad de Ayacucho* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/1587>
- Casas, A., Parra, F., Aguirre-Duagua, X., Rangel-Landa, S., Blancas, J., Vallejo, M., Moreno-Calles, A. I., Guillén, S., Torres-García, I., Delgado-Lemus, A., Pérez-Negrón, E., Figueredo, C. J., Cruise-Sanders, J., Farfán-Heredia, B., Solís, L., Otero-Arnaiz, A., Alvarado-Sizzo, H., & Camou-Guerrero, A. (2017). Manejo y domesticación de plantas en Mesoamérica. Una estrategia de investigación y estado del conocimiento sobre los recursos genéticos. In A. Casas, J. Torres-Guevara, & F. Parra (Eds.), *Domesticación en el continente americano: Investigación para el manejo sustentable de recursos genéticos en el Nuevo Mundo* (pp. 69–102). Universidad Nacional Autónoma de México & Universidad Nacional Agraria La Molina del Perú. https://www.researchgate.net/publication/316883762_Manejo_y_domesticacion_de_plantas_en_Mesoamerica_Una_estrategia_de_investigacion_y_estado_del_conocimiento

- _sobre_los_recursos_geneticos
- Castañeda Sifuentes, R., & Albán Castillo, J. (2016). Importancia cultural de la flora silvestre del distrito de Pamparomás, Ancash, Perú. *Ecología Aplicada*, 15(2), 151–169. <https://doi.org/10.21704/REA.V15I2.755>
- Cervantes Servín, L., & Valdés Gutiérrez, J. (1990). Plantas medicinales del Distrito de Ocotlán, Oaxaca. *Anales Del Instituto de Biología Serie Botánica*, 60(1), 85–103. <http://www.revistas.unam.mx/index.php/bot/article/view/1819/1381>
- Cunningham, A. (2000). Review of ethnobotanical literature from eastern and southern Africa. *People and Plants Online*. https://s10.lite.msu.edu/res/msu/botonl/b_online/library/peopleplants/activities/africa/aen/aen1/review.htm
- Delgado-Lemus, A., Casas, A., & Téllez, O. (2014). Distribution, abundance and traditional management of *Agave potatorum* in the Tehuacán Valley, Mexico: Bases for sustainable use of non-timber forest products. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10(63), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-10-63>
- Delgado-Lemus, A., Torres, I., Blancas, J., & Casas, A. (2014). Vulnerability and risk management of *Agave* species in the Tehuacán Valley, México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10(53), 1–15. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-10-53>
- Food and Agriculture Organization [FAO]. (1995). Report of the International Expert Consultation on Non-Wood Forest Products. *Non-Wood Forest Products*, 3, 1–465.
- Food and Agriculture Organization [FAO]. (2007). Mejorar las actividades forestales para reducir la pobreza: Guía para profesionales. *Estudio FAO: Montes*, 149, 76. <ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0645s/a0645s00.pdf>
- Garibay-Orijel, R., Caballero, J., Estrada-Torres, A., & Cifuentes, J. (2007). Understanding cultural significance, the edible mushrooms case. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3(4), 1–18. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-3-4>
- Garzón-Garzón, L. P. (2016). Conocimiento tradicional sobre las plantas medicinales de yarumo (*Cecropia sciadophylla*), carambolo (*Averrhoa carambola*) y uña de gato (*Uncaria tomentosa*) en el resguardo indígena de Macedonia, Amazonas. *Luna Azul*, 43, 386–414. <https://doi.org/10.17151/LUAZ.2016.43.17>
- Goodman, L. A. (1961). Snowball Sampling. *The Annals of Mathematical Statistics*, 32(1), 148–170. <https://doi.org/10.1214/AOMS/1177705148>
- Gual Díaz, M. (2018). El conocimiento tradicional de los recursos biológicos de México y su sistematización. In *Taxonomía de los usos y manejo de la biodiversidad de México para la construcción de sistemas de información*. (Primera ed., p. 376). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad.
- Heinrich, M., Ankli, A., Frei, B., Weimann, C., & Sticher, O. (1998). Medicinal plants in Mexico: healers' consensus and cultural importance. *Social Science & Medicine*, 47(11), 1859–1871. [https://doi.org/10.1016/S0277-9536\(98\)00181-6](https://doi.org/10.1016/S0277-9536(98)00181-6)
- Hunn, E. (1982). The Utilitarian Factor in Folk Biological Classification. *American Anthropologist*, 84(4), 830–847. <https://doi.org/10.1525/AA.1982.84.4.02A00070>
- IMB Corp. (2014). *IBM SPSS Statistics for Windows*.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI]. (2011a). *Información nacional, por entidad federativa y municipios. Oaxaca, México*. INEGI. <http://www.inegi.org.mx/sistema/mexicocifras/default.aspx?e=20>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI]. (2011b, January 1). *Censo de Población y Vivienda 2010*. INEGI; INEGI. <https://www.inegi.org.mx/programas/ccpv/2010/>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI]. (2017). *Anuario estadístico y geográfico de Oaxaca 2017*. https://www.inegi.org.mx/contenidos/productos/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/nueva_estruc/anuarios_2017/702825094843.pdf
- Lopez Ramos, O. (2017). Construcción de un índice de satisfacción del turismo en Capulálpam “Pueblo Mágico.” *PASOS. Revista de Turismo y Patrimonio Cultural*, 15(4), 785–792. <https://doi.org/10.25145/j.pasos.2017.15.053>
- Loredo-Medina, O. L., Rodríguez-Chávez, J. M., & Ramos-Espinosa, M. G. (2002). Aprovechamiento de recursos vegetales en una localidad de la Reserva de la Biósfera Mariposa Monarca, Michoacán, México. *Etnobiología*, 2(1), 32–60.

- <https://revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/46>
- Luna-José, A. de L., & Rendón-Aguilar, B. (2008). Recursos vegetales útiles en diez comunidades de la Sierra Madre del sur, Oaxaca, México. *Polibotánica*, 26, 193–242. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62102611>
- Martínez Bolaños, K. A. (2012). *Plantas medicinales del Barrio de Santa Cruz, Municipio de Tequila. Un enfoque etnobotánico* [Universidad Veracruzana]. <http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/677700>
- Martínez Carrera, D., Morales, P., Pellicer González, E., León, H., Aguilar, A., Ramírez, P., Ortega, P., Largo, A., Bonilla, M., & Gómez, M. (2002). Studies on the traditional management, and processing of matsutake mushrooms in Oaxaca, Mexico. *Micología Aplicada Internacional*, 14(2), 25–43. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=68514203>
- Martínez López, J., Acosta Ramos, A., Martínez y Ojeda, E., & Manzano Méndez, F. (2016a). Recursos forestales no maderables en dos comunidades zapotecas de la Sierra Juárez de Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 7(35), 37–52. <https://doi.org/10.29298/RMCF.V7I35.73>
- Martínez López, J., Martínez y Ojeda, E., Blancas, J., & Maldonado Cruz, P. (2016b). Variables sociodemográficas y su relación con el número de recursos forestales no maderables en dos comunidades zapotecas de la Sierra Juárez de Oaxaca. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 20(60), 29–36. <http://repositorio.utm.mx:8080/jspui/handle/123456789/332>
- Medrano, C. (2012). Etnozoología, usos y abusos de los cuestionarios. *Papeles de Trabajo - Centro de Estudios Interdisciplinarios En Etnolingüística y Antropología Socio-Cultural*, 23, 59–81. <http://rephip.unr.edu.ar/xmlui/handle/2133/2002>
- Molina-Mendoza, J. L., Galván-Villanueva, R., Patiño-Siciliano, A., & Fernández-Nava, R. (2012). Plantas medicinales y listado florístico preliminar del municipio de Huasca de Ocampo, Hidalgo, México. *Polibotánica*, 34, 239–271. <https://www.redalyc.org/pdf/621/62123051012.pdf>
- Monroy, R., & Ayala, I. (2003). Importancia del conocimiento etnobotánico frente al proceso de urbanización. *Etnobiología*, 3(1), 79–92. <https://revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/104>
- Montoya, A., Hernandez-Totomoch, O., Estrada-Torres, A., Kong, A., & Caballero, J. (2003). Traditional Knowledge about Mushrooms in a Nahua Community in the State of Tlaxcala, Mexico. *Mycologia*, 95(5), 793–806. <https://doi.org/10.2307/3762007>
- Ortega Ponce, L. (2004). *Las comunidades indígenas forestales de la Sierra de Juárez Oaxaca, México. Estudio de caso sobre innovación participativa*. <http://www.eclac.org/ddpe/agenda/3/19633/Oaxaca.pdf>
- Padilla Gómez, E. (2007). *Estudio ecológico y etnobotánico de la vegetación del municipio de San Pablo Etla, Oaxaca* [Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-Unidad Oaxaca.]. <http://tesis.ipn.mx:8080/xmlui/handle/123456789/126>
- Peters, C. M. (1994). *Sustainable harvest of non-timber plant resources in tropical moist forest: an ecological primer*. Biodiversity Support Program.
- Phillips, O. (1996). Some Quantitative Methods for Analyzing Ethnobotanical Knowledge. In M. Alexiades (Ed.), *Selected guidelines for ethnobotanical research: a field manual* (pp. 171–197). The New York Botanical Garden. <https://www.jstor.org/stable/43927619>
- Phillips, O., & Gentry, A. H. (1993). The useful plants of Tambopata, Peru: I. Statistical hypotheses tests with a new quantitative technique. *Economic Botany*, 47(1), 15–32. <https://doi.org/10.1007/BF02862203>
- Pieroni, A. (2001). Evaluation of the cultural significance of wild food botanicals traditionally consumed in Northwestern Tuscany, Italy. *Journal of Ethnobiology*, 21(1), 89–104. <http://www.andreapieroni.eu/Pieroni, 2001.pdf>
- Ramirez, C. R. (2007). Ethnobotany and the Loss of Traditional Knowledge in the 21st Century. *Ethnobotany Research and Applications*, 5, 245–247. <https://ethnobotanyjournal.org/index.php/era/article/view/134>

Recibido:
2/agosto/2021

Aceptado:
12/enero/2022

- Rangel-Landa, S., Casas, A., García-Frapolli, E., & Lira, R. (2017). Sociocultural and ecological factors influencing management of edible and non-edible plants: the case of Ixcatlán, Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 13(59), 1–43. <https://doi.org/10.1186/S13002-017-0185-4>
- Saynes-Vásquez, A., Caballero, J., Meave, J. A., & Chiang, F. (2013). Cultural change and loss of ethnoecological knowledge among the Isthmus Zapotecs of Mexico. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 9(40), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-40>
- Schumacher, E. F. (1978). *Lo pequeño es hermoso*. Hermann Blume Ediciones.
- Tardío, J., & Pardo-de-Santayana, M. (2008). Cultural Importance Indices: A Comparative Analysis Based on the Useful Wild Plants of Southern Cantabria (Northern Spain). *Economic Botany*, 62(1), 24–39. <https://doi.org/10.1007/S12231-007-9004-5>
- Toledo, V. M., Ortiz-Espejel, B. F., Cortés, L., Moguel, P., & Ordoñez, M. de J. (2003). The Multiple Use of Tropical Forests by Indigenous Peoples in Mexico: a Case of Adaptive Management. *Ecology and Society*, 7(3), 9. <https://doi.org/10.5751/ES-00524-070309>
- Turner, N. J. (1988). “The Importance of a Rose”: Evaluating the Cultural Significance of Plants in Thompson and Lillooet Interior Salish. *American Anthropologist*, 90(2), 272–290. <https://doi.org/10.1525/AA.1988.90.2.02A00020>
- Villarreal-Ibarra, E. C., García-López, E., López, P. A., Palma-López, D. J., Lagunes-Espinoza, L. del C., Ortiz-García, C. F., & Oranday-Cárdenas, A. (2014). Plantas útiles en la medicina tradicional de Malpasito-Huimanguillo, Tabasco, México. *Polibotánica*, 37, 109–134. <https://www.redalyc.org/pdf/621/62129967007.pdf>
- White-Olascoaga, L., Juan-Pérez, J. I., Chávez-Mejía, C., & Gutiérrez-Cedillo, J. G. (2013). Flora medicinal en San Nicolás, municipio de Malinalco, Estado de México. *Polibotánica*, 35, 173–206. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-27682013000100010
- Zorondo Rodríguez, F. (2007). ¿Quiénes recolectan los productos forestales no maderables?: Una aproximación para identificar a individuos recolectores en una comunidad indígena de la India. *Periferia*, 7(2), 21. <https://doi.org/10.5565/REV/PERIFERIA.171>