

SEP

POLIBOTÁNICA

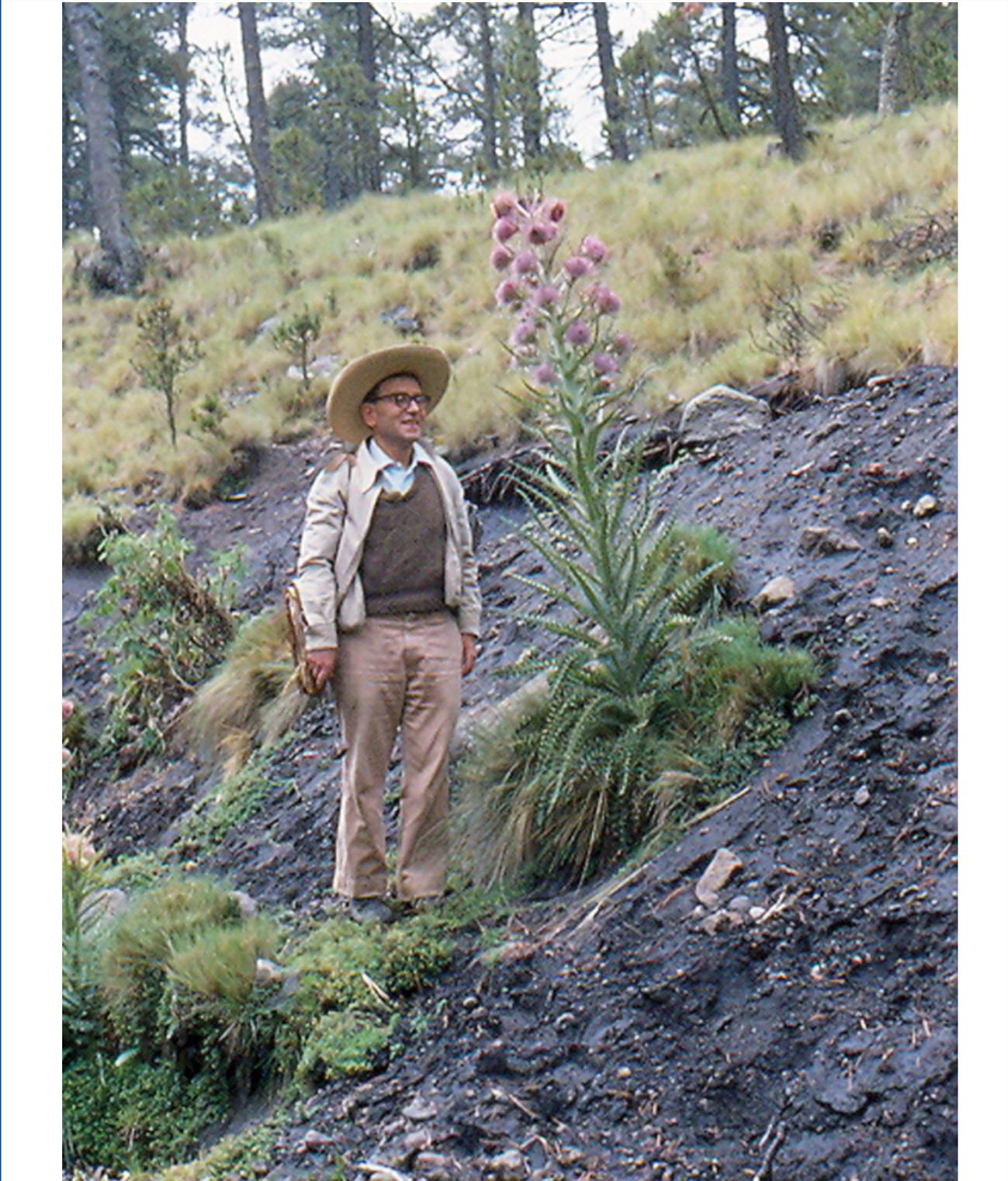
ISSN 1405-2768



Julio 2023

Núm. 56

POLIBOTÁNICA



Núm. 56



Julio 2023

PÁG.

CONTENIDO

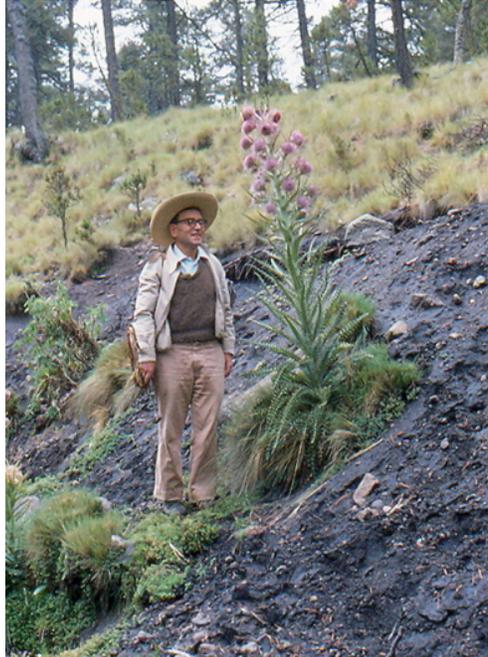
- 1 Riqueza y distribución altitudinal de hepáticas epifitas del bosque mesófilo de montaña de Hidalgo, México
Richness and altitudinal distribution of epiphytic liverworts from the cloud forest of Hidalgo, Mexico
José Francisco Juárez López | Arturo Sánchez González | Maritza López Herrera | Dorismilda Martínez Cabrera
- 17 Descripción e ilustración del desarrollo morfogénico de los gametófitos y esporófitos jóvenes de *Asplenium blepharophorum* Bertol. (Aspleniaceae-Polypodiidae) en tres sustratos naturales
Description and illustration of the morphogenic development of the young gametophytes and sporophytes of Asplenium blepharophorum Bertol. (Aspleniaceae-Polypodiidae) in three natural substrates
Adriana Rojas Cano | María de la Luz Arreguín Sánchez | Rafael Fernández Nava | David Leonor Quiroz García
- 39 Análisis morfométrico de *Agave sensu stricto* (Asparagaceae: Agavoideae) en Veracruz y áreas adyacentes de Puebla, México
Morphometric analysis of Agave sensu stricto (Asparagaceae: Agavoideae) in Veracruz and adjacent areas of Puebla, Mexico
Carlos Rafael Arzaba Villalba | Miguel Cházaro Bazáñez | Mario Luna Cavazos | Edmundo García Moya
- 61 Variación clinal de caracteres fenotípicos y fisiológicos en *Pinus hartwegii* Lindl., para la Estación Forestal Experimental Zoquiapan, México
Clinical variation of phenotypic and physiological characters in Pinus hartwegii Lindl., for the Zoquiapan Experimental Forest Station, Mexico
Adrián López López | María Isabel Palacios Rangel | Cuauhtémoc Sáenz Romero | Villanueva Morales Antonio | Victoria Pacheco Almaraz
- 81 Composición, estructura y estado de la regeneración arbórea en un gradiente altitudinal en un bosque templado de Guadalupe y Calvo, Chihuahua
Composition, structure and status of tree regeneration in an altitudinal gradient in a temperate forest of Guadalupe y Calvo, Chihuahua
Samuel Alberto García García | Eduardo Alanís Rodríguez | Oscar Alberto Aguirre Calderón | Eduardo Javier Treviño Garza | Luis Gerardo Cuéllar Rodríguez | Alejandro Collantes Chávez Costa
- 101 Efectos del manejo forestal en la emisión de CO₂ de un suelo umbrisol en bosques de Durango, México
Effects of forest management on the soil CO₂ emission of an umbrisol in forests from Durango, Mexico
Erik Orlando Luna Robles | Israel Cantú Silva | Francisco Javier Hernández | Silvia Janeth Béjar Pulido
- 115 Influencia del conocimiento ecológico tradicional y la altitud en la estructura y diversidad arbórea de los cercos vivos del corredor biológico Chichinautzin, México
Influence of traditional ecological knowledge and altitudinal gradient on richness, structure and tree diversity of live fences in the Chichinautzin biological corridor, Mexico
Emir Basurto García | Hortensia Colín Bahena | Rafael Monroy Ortiz | Alejandro García Flores | Leonardo Beltrán Rodríguez
- 151 Efecto del medio de cultivo y escotoperiodo en la germinación de semillas y crecimiento *in vitro* de *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler & W.E. Higgins (Orchidaceae)
Effect of culture media and skotoperiod on the germination of seeds and growth in vitro of Guarianthe skinneri (Bateman) Dressler & W.E. Higgins (Orchidaceae)
Fabiola Hernández Ramírez | Leobardo Iracheta Donjuan | Anne Damon | Sylvia Patricia Fernández Pavía | Karina Guillén Navarro
- 171 Plant regeneration from indirect somatic embryogenesis of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* using zygotic embryo obtained by in-casa pollination as explants
Regeneración de plantas por embriogénesis somática indirecta de Agave salmiana Otto ex Salm-Dyck subsp. salmiana usando embriones cigóticos obtenidos por polinización In-casa como explantes
Blanca Vianey Angeles Vázquez | Jorge Álvarez Cervantes | Xóchitl Tovar Jiménez | Benjamín Rodríguez Garay
- 183 Flavonoids, anthocyanins and total macronutrients in handmade products of blackberry (*Rubus* sp.) from Atecoxil, Veracruz, Mexico
Flavonoides, antocianinas y macronutrientes totales en productos artesanales de zarzamora (Rubus sp.) de Atecoxil, Veracruz, México
Vianey del Rocio Torres Pelayo
- 203 Composición química, actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa del extracto de callos derivado de *Acalypha californica* Benth
Chemical composition, antioxidant, antiinflammatory and antiproliferative activity of callus extract derived from Acalypha californica Benth
Lesyanny Hechavarría Pérez | Luisa Alondra Rascón Valenzuela | Armando Tejeda Mansir | José Alberto Pérez Burgos | Gloria Irma Ayala Astorga
- 225 Dinámica de la Etnobotánica médica de los pobladores de Córdoba, Argentina. Aportes de la Encuesta Nacional de Folklore (1921) a la comprensión de los cambios en el uso y percepción de plantas medicinales
Dynamics of the medical Ethnobotany of the inhabitants of Córdoba, Argentina. Contributions of the National Survey of Folklore (1921) to understanding changes in the use and perception of medicinal plants
Cecilia Trillo | Bárbara Arias Toledo
- 249 Ethnobotany of medicinal plants Used for healers of the Chol ethnic group from Tila, Chiapas, Mexico
Etnobotánica de plantas medicinales usadas por curanderos del grupo étnico Chol de Tila, Chiapas, México
José del Carmen Rejón Orantes | Sabina Andrea Sánchez-Cartela | Wilbert Gutiérrez-Sarmiento | Oscar Farrera-Sarmiento | Miguel Pérez de la Mora
- 265 Estudio de plantas medicinales utilizadas en San José Iturbide, Guanajuato, México
Study of medicinal plants used in San Jose Iturbide, Guanajuato, Mexico
Eduardo Alberto Lara Reimers | Carlos Omar Hernández Robledo | Pablo Preciado Rangel | Oscar Sariñana Aldaco
- 287 Percepción y significados del guaje rojo *Leucaena esculenta* (DC.) Benth. en la cultura ngiwa de Puebla, México
Perception and meanings of the red guaje Leucaena esculenta (DC.) Benth. in the ngiwa culture from Puebla, Mexico
Guadalupe García Maceda | Arturo Hernández Montes | María Carmen Ybarra Moncada | Rocio Guadalupe Casañas Pimentel
- 311 Intergenerational transmission of traditional ecological knowledge about medicinal plants in a riverine community of the Brazilian Amazon
Transmisión intergeneracional del conocimiento ecológico tradicional sobre las plantas medicinales en una comunidad ribereña de la Amazonía Brasileña
Rogério Lima Mota | Iani Dias Lauer-Leite | Jailson Santos de Novais

POLIBOTÁNICA

Núm. 56

ISSN electrónico: 2395-9525

Julio 2023



Portada

Jerzy Rzedowski Rotter (1926-2023). Considerado uno de los botánicos más influyentes de México. Incursionó en diversas disciplinas botánicas como taxonomía, florística, fitogeografía y ecología. Formó varios herbarios institucionales y recolectó muestras de la flora mexicana, logrando una colección que superó los 50,000 ejemplares. Trabajó en la Flora Fanerogámica del Valle de México y en la Flora del Bajío y Regiones Adyacentes; también escribió el libro *La Vegetación de México*, obra clásica de la literatura botánica mexicana. A lo largo de su carrera, se dedicó además a la enseñanza y formación de botánicos. Su obra incluye la publicación de 7 libros, 47 capítulos de libros, 128 artículos en revistas científicas y 31 fascículos de floras. Descubrió alrededor de 190 nuevas especies de plantas mexicanas y más de 85 especies de hongos, plantas y animales mexicanos recibieron su nombre en su honor.

Jerzy Rzedowski Rotter (1926-2023). Considered one of the most influential botanists in Mexico. He ventured into several botanical disciplines such as taxonomy, floristics, phytogeography, and ecology. He formed several institutional herbaria, and collected samples of Mexican flora, achieving a collection that exceeded 50,000 numbers. He worked on the Phanerogamic Flora of the Valley of Mexico and the Flora of the Bajío and Adjacent Regions; he also wrote the book *The Vegetation of Mexico*, a classic work of Mexican botanical literature. Throughout his career, he was also dedicated to teaching and training botanists. His work includes the publication of 7 books, 47 book chapters, 128 articles in scientific journals, and 31 fascicles of floras. He discovered about 190 new species of Mexican plants and more than 85 species of Mexican fungi, plants, and animals were named in his honor.

por/by **Rafael Fernández Nava**



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

Director General: *Dr. Arturo Reyes Sandoval*

Secretario General: *Ing. Arq. Carlos Ruiz Cárdenas*

Secretario Académico: *Mtro. Mauricio Igor Jasso Zaranda*

Secretario de Innovación e Integración Social: *M. en C. Ricardo Monterrubio López*

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: *Dra. María Guadalupe Ramírez Sotelo*

ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Director:

Dr. Isaac Juan Luna Romero

Subdirectora Académica:

M. en C. Martha Patricia Cervantes Cervantes

Jefe de la Sección de Estudios de Posgrado e Investigación:

Dr. Gerardo Aparicio Ozores

Subdirector de Servicios Educativos e Integración Social:

Biól. Gonzalo Galindo Becerril

POLIBOTÁNICA, Año 28, No. 56, julio 2023, 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 CP 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

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

Heike Vibrans
Colegio de Postgraduados
Estado de México, México

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

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

Delia Fernández González
Universidad de León
León, España

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

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

Hugo Cota Sánchez
University of Saskatchewan
Saskatoon, Saskatchewan, Canada

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

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

Claude Sastre
Muséum National d'Histoire Naturelle
Paris, Francia

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

Mauricio Velayos Rodríguez
Real Jardín Botánico
Madrid, España

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

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

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

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

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

Tom Wendt
University of Texas
Austin, Texas, US

José Manuel Rico Ordaz
Universidad de Oviedo
Oviedo, España

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 imagenes 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 *italicas*. 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 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 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:

CONAHCYT, índice de Revistas Mexicanas de Investigación Científica y Tecnológica del Consejo Nacional de Humanidades, 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.



RIQUEZA Y DISTRIBUCIÓN ALTITUDINAL DE HEPÁTICAS EPIFITAS DEL BOSQUE MESÓFILO DE MONTAÑA DE HIDALGO, MÉXICO

RICHNESS AND ALTITUDINAL DISTRIBUTION OF EPIPHYTIC LIVERWORTS FROM THE CLOUD FOREST OF HIDALGO, MEXICO

Juárez-López; José Francisco; Arturo Sánchez-González; Maritza López-Herrera y Dorismilda Martínez-Cabrera

RIQUEZA Y DISTRIBUCIÓN ALTITUDINAL DE HEPÁTICAS EPIFITAS DEL BOSQUE MESÓFILO DE MONTAÑA DE HIDALGO, MÉXICO

RICHNESS AND ALTITUDINAL DISTRIBUTION OF EPIPHYTIC LIVERWORTS FROM THE CLOUD FOREST OF HIDALGO, MEXICO



Riqueza y distribución altitudinal de hepáticas epifitas del bosque mesófilo de montaña de Hidalgo, México

Richness and altitudinal distribution of epiphytic liverworts from the cloud forest of Hidalgo, Mexico

Juárez-López; José Francisco;
Arturo Sánchez-González;
Maritza López-Herrera y
Dorismilda Martínez-Cabrera

RIQUEZA Y DISTRIBUCIÓN
ALTITUDINAL DE
HEPÁTICAS EPIFITAS DEL
BOSQUE MESÓFILO DE
MONTAÑA DE HIDALGO,
MÉXICO

RICHNESS AND
ALTITUDINAL
DISTRIBUTION OF
EPIPHYTIC LIVERWORTS
FROM THE CLOUD
FOREST OF HIDALGO,
MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 1-16. Julio 2023

DOI:
10.18387/polibotanica.56.1

José Francisco Juárez-López

Arturo Sánchez-González / arturosg@uaeh.edu.mx

Maritza López-Herrera

*Centro de Investigaciones Biológicas, Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería,
Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo,
Km 4.5 carretera Pachuca-Tulancingo, 42184,
Mineral de la Reforma, Hidalgo, México*

Dorismilda Martínez-Cabrera

*Herbario, Instituto Tecnológico de Huejutla, Km 5.5 Carretera Huejutla-
Chalahuiyapa, 43000, Huejutla de Reyes, Hidalgo, México*

RESUMEN: Las hepáticas se distribuyen de forma heterogénea en su hábitat, pues dependen de condiciones micro ambientales particulares para su establecimiento. En este trabajo se presenta un listado florístico y se estima la riqueza y semejanza en la composición de especies de hepáticas epifitas del bosque mesófilo de montaña (BMM) de Hidalgo, a lo largo de un gradiente de altitud. Además, se integra información sobre sus patrones de distribución geográfica. Las muestras se tomaron en tres municipios con BMM del estado de Hidalgo en un intervalo de altitud de 1345-2019 m. En cada municipio se colocaron dos parcelas de muestreo de 0.1 ha en los extremos del gradiente altitudinal. Dentro de cada parcela se seleccionaron 10 árboles y en cada uno de ellos se colocaron tres micro parcelas de 10×10 cm sobre su corteza para estimar la riqueza de especies. Se determinaron nueve familias, 17 géneros, 29 especies y dos variedades de hepáticas. Las familias Lejeuneaceae y Plagiochilaceae presentaron el mayor número de especies. Los géneros *Lejeunea* Lib. y *Plagiochila* (Dumort.) Dumort. fueron los más diversos, con siete y cinco especies, respectivamente. La composición, riqueza y distribución de las especies fue variable a lo largo del gradiente analizado; la distribución geográfica de la mayoría de las especies (55 %), se restringe a la región neotropical.

Palabras clave: Altitud, bosque templado, briofitas, forófito, Marchantiophyta, *Plagiochila*, riqueza de especies.

ABSTRACT: liverworts are distributed heterogeneously in their habitat, as they depend on particular micro environmental conditions for their establishment. In this work, a floristic list is presented and the richness, and similarity in the species composition of epiphytic liverworts from Hidalgo's cloud forest (CF) is estimated, along an elevation gradient. In addition, information on their geographic distribution patterns is integrated. The samples were taken in three municipalities with CF of the Hidalgo state in an altitude interval of 1345-2019 m. On each site two sampling plots of 0.1 ha were placed at the ends of the altitudinal gradient. Within each plot, 10 trees were selected and in each of three micro plots of 10×10 cm were placed on its cortex to estimate the species richness. Nine families, 17 genera, 29 species and two varieties of liver were determined. Lejeuneaceae and Plagiochilaceae families presented the largest number of species. The *Lejeunea* Lib. and *Plagiochila* (Dumort.) Dumort. were the most diverse genera, with seven and five species, respectively. The composition and

richness of species were variables along the analyzed gradient; the geographic distribution of most of the species (55%) is restricted to the neotropical region.

Key words: Altitude, bryophytes, Marchantiophyta, phorophyte, *Plagiochila*, species richness, temperate forest.

INTRODUCCIÓN

La variación en la composición y riqueza de especies de hepáticas a lo largo de gradientes de altitud, se ha analizado ampliamente en distintas regiones de América y Asia, principalmente (Cacua-Toledo *et al.*, 2018; Estepa-Ruiz & Campos, 2022; Feuillet-Hutado & Torres, 2016; Gupta & Asthana, 2016; Rodríguez-Quiel *et al.*, 2022; Santos *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2019). Producto de estos estudios se ha documentado que la distribución espacial de las especies de hepáticas se relaciona con diferentes factores ambientales, bióticos (v. gr. variación en la composición de especies de plantas vasculares, grado de fragmentación del hábitat y tipo de vegetación) y abióticos (v. gr. temperatura, humedad relativa y disponibilidad de luz) en diferentes escalas espaciales (Corrales *et al.*, 2010; de Oliveira & ter Steege, 2013; Delgado & Ederra, 2013; Ruíz-Agudelo & Aguirre-Ceballos, 2004; Wolf, 1995).

En México, el bosque mesófilo de montaña (BMM) o bosque de niebla, posee características ambientales particulares (temperatura moderada y humedad alta), idóneas para el desarrollo de las hepáticas, que dependen principalmente de la humedad para sobrevivir (Gradstein *et al.*, 2001; Holz *et al.*, 2002; Norris *et al.*, 2017). Sin embargo, este tipo de vegetación se distribuye en un intervalo altitudinal amplio, lo cual implica la existencia de variación en las condiciones ambientales y en la composición y riqueza de especies de plantas entre diferentes pisos altitudinales (Rzedowski, 1978; Gual-Díaz & Rendón-Correa, 2017). Existen varios estudios en los que se ha evaluado la composición y riqueza de especies de hepáticas en gradientes de altitud en el BMM (v. gr. Estepa-Ruiz & Campos, 2022; Gradstein *et al.*, 2001; Valente *et al.*, 2013), pero en el caso de las hepáticas epifitas las investigaciones son escasas. El microambiente en donde se desarrollan las plantas epifitas es especial, porque el sustrato es inexistente o pobre en nutrimentos, el suministro de agua es escaso y la radiación suele ser alta, lo cual crea condiciones de aridez (Granados-Sánchez *et al.*, 2003).

En ecosistemas húmedos, como el BMM, las hepáticas epifitas experimentan ciclos de hidratación y desecación más dinámicos que en otros ecosistemas más secos, lo cual favorece su mayor diversidad (Köhler *et al.*, 2007). Aun así, el agua es el principal factor ambiental que limita su supervivencia (Granados-Sánchez *et al.*, 2003; Johnson & Kokila, 1970), pues dependiendo de su capacidad de resistencia a la desecación, algunas especies de hepáticas pueden ser más sensibles que otras (Glime, 2018). En México el BMM es el tipo de vegetación con mayor riqueza florística por unidad de área, pero también es uno de los más afectados por el cambio de uso del suelo, el cambio climático y otras actividades humanas (Gual-Díaz & Rendón-Correa, 2017). La composición de especies de plantas vasculares del BMM de México llama la atención, pues en general el dosel es dominado por especies de afinidad neártica; en cambio, el estrato herbáceo y arbustivo están conformados principalmente por especies de afinidad neotropical (Rzedowski, 1978). En el caso de las especies de hepáticas (Marchantiophyta), existe información general que ha permitido hacer una estimación de su riqueza taxonómica en México (Juárez-Martínez y Delgadillo-Moya, 2014), además de las características morfológicas y anatómicas de las especies que se distribuyen en el Valle de México (Juárez-Martínez y Delgadillo-Moya, 2017), pero los estudios ecológicos y sobre la afinidad u origen geográfico de los taxones de hepáticas epifitas en el BMM y en otros tipos de vegetación en México son nulos (Juárez-Martínez y Delgadillo-Moya, 2017), por lo que es relevante aportar datos básicos sobre ambos aspectos.

Por lo antes mencionado, los objetivos del presente estudio fueron 1) realizar un inventario de las especies de hepáticas epifitas del BMM del estado de Hidalgo, región sur de la Sierra Madre

Oriental (SMO) de México, 2) estimar si existe variación en la composición y riqueza de especies de hepáticas epifitas a lo largo del gradiente de altitud analizado, y 3) aportar información sobre la distribución geográfica de las especies de hepáticas epifitas que se desarrollan en el BMM del estado de Hidalgo, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El BMM primario (es decir, con mínima perturbación antropogénica) en el estado de Hidalgo, se localiza en el extremo sur de la SMO, ocupa una superficie de aproximadamente 71,283.42 ha y se distribuye en 24 municipios (INEGI, 2022). Se desarrolla en un intervalo altitudinal de entre 730 m y 2500 m en zonas montañosas de topografía irregular y que presentan diferentes tipos de suelos. El clima varía de templado a semicálido húmedo, con temperaturas que oscilan entre los 12 y 23 °C. La precipitación total anual es mayor a los 1000 mm (Tabla 1) y la precipitación pluvial más alta ocurre en altitudes mayores de 1500 m (Ángeles, 2009). Las condiciones de humedad y las neblinas características provienen de los vientos húmedos del Golfo de México, los cuales son interceptados por la Sierra Madre Oriental (SMO) y se condensan por fenómenos adiabáticos, originando la estación principal de lluvias en el verano. La concentración de humedad por condensación que resulta de la precipitación horizontal, es común en el intervalo altitudinal de 1000 a 2200 m (Ángeles, 2009; Ruiz-Jiménez *et al.*, 2012).

Muestreo

El estudio se llevó a cabo en tres municipios del estado de Hidalgo (Tepahuacán de Guerrero, Tlanchinol y Zacualtipán de Ángeles), en donde el BMM se distribuye en pisos de altitud contrastantes y está menos perturbado que en otras zonas de la entidad (Ángeles, 2009). En cada municipio se establecieron dos sitios de muestreo uno en el extremo inferior y otro en el extremo superior del gradiente de altitud donde se distribuye el BMM (Fig. 1 y Tabla 1), y en cada sitio se colocó una parcela de muestreo de 0.1 ha. Por parcela se eligieron al azar, de entre todas las especies de árboles presentes, 10 individuos con las siguientes características: 1) corteza cubierta en forma apreciable por hepáticas ($\geq 20\%$) en la parte basal del tronco, y 2) diámetro del tallo ≥ 30 cm, medido a 1.30 m de altura (diámetro normal, *sensu* Quiñonez *et al.*, 2012). Es importante mencionar que dentro de cada parcela se encontraron suficientes árboles con las características mencionadas, para hacer la selección al azar. En cada individuo seleccionado, se colocaron al azar tres micro parcelas de 10×10, desde la base hasta los primeros 2 m de altura del tronco, para estimar la riqueza y extraer las muestras para determinar la composición de especies de hepáticas epifitas (Tabua *et al.*, 2017).

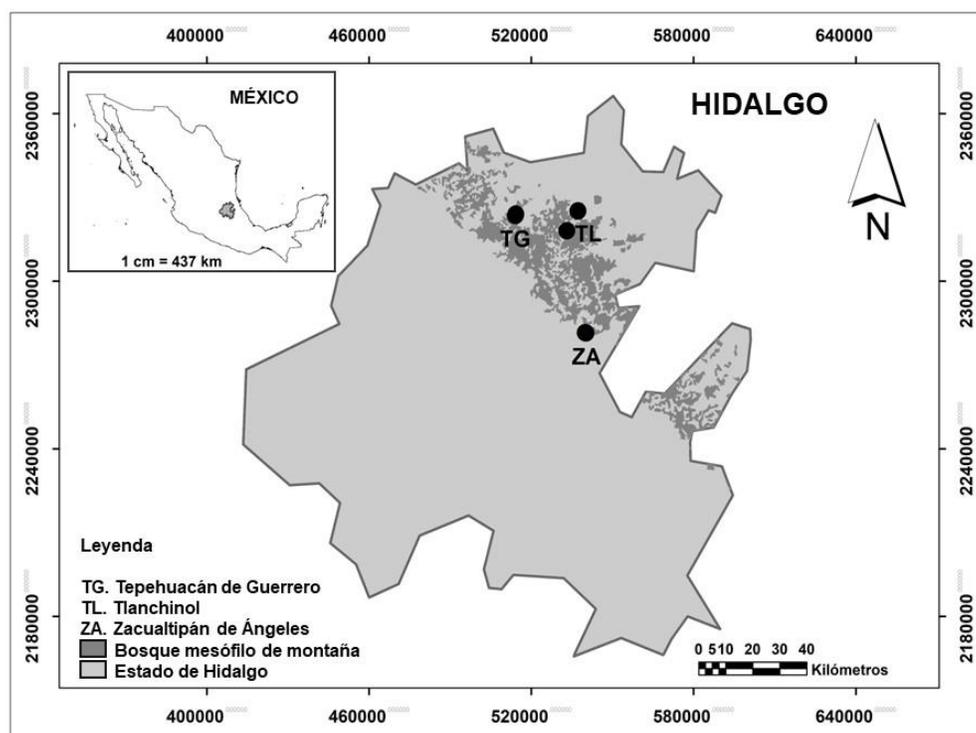


Fig. 1. Localización de los sitios de muestreo de las especies de hepáticas epifitas del BMM de Hidalgo. Las distancias geográficas entre los puntos correspondientes a los dos pisos altitudinales de Tepehuacán de Guerrero y Zacualtipán de Ángeles es corta, por lo que se sobreponen en la figura.

Tabla 1. Localización de los sitios de estudio dentro del BMM del estado de Hidalgo.

Municipio	Ubicación del BMM	Coordenadas geográficas	Temperatura promedio °C	Precipitación pluvial (mm)	Pisos de altitud (m)
Tepehuacán de Guerrero	Norte	21° 1' 2.30" N	24.0	2,120	1,345-1,375
		98° 51' 44.70" O			1,382-1,440
Tlanchinol	Norte	21° 1' 37.70" N	18.9	2,601	1,433-1,533
		98° 38' 26.70" O			1,519-1,564
Zacualtipán de Ángeles	Centro	20° 37' 55.90" N	14.0	2,047	1,985-2,001
		98° 36' 50.20" O			1,926-2,019

Tratamiento de muestras y análisis de datos

Los especímenes se determinaron utilizando las claves y descripciones taxonómicas disponibles, principalmente Bernecker-Lücking (1999), Fulford (1945), Gradstein (1994, 2015, 2016, 2017), Gradstein & Costa (2003), Gradstein *et al.* (2001) y Reiner-Drehwald (2000). La clasificación taxonómica a nivel de familia y género se basó en el trabajo de Crandall-Stotler *et al.* (2009); la nomenclatura de las especies y los nombres de las autoridades taxonómicas se verificaron y actualizaron a partir de Tropicos (Tropicos.org, 2022). Los ejemplares de hepáticas recolectados, se encuentran depositados en la colección de briofitas del laboratorio de

Ecología de Poblaciones, del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (colección no registrada) y un duplicado, se depositará en la colección de briofitas del herbario nacional MEXU, con sede en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Se utilizaron valores del peso seco de las muestras (biomasa) para estimar la semejanza en la composición de especies a lo largo del gradiente de altitud, por medio de un análisis de agrupamiento; en el que se eligió como medida de semejanza la distancia Euclidiana y el método de Ward para la unión de grupos (Ludwig & Reynolds, 1988). El análisis se realizó con el programa Statistica versión 7.0 (StatSoft, 2008).

Análisis de la distribución geográfica de las especies

Para obtener información sobre la distribución geográfica de los taxones se consultaron las bases de datos de Global Biodiversity Information Facility-GBIF (GBIF.org, 2022) y Tropicos (Tropicos.org, 2022), además de artículos de investigación, libros y capítulos de libros (Delgadillo, 1993; So, 2005; Dauphin *et al.*, 2011; Gradstein, 1994, 2017, 2020; Gradstein & Hekking, 1989; Heinrichs *et al.*, 1999; Heinrichs & Gradstein, 2000; Maidana, 2013; So, 2005; Valente & Pórto, 2006). Las áreas de distribución o afinidades geográficas, se definieron con base en la distribución de las especies de hepáticas del BMM de Hidalgo, tomando como guía las categorías biogeográficas generales propuestas por Gradstein y Weber (1982) y Dauphin *et al.* (2011) para plantas no vasculares, y por Morrone (2015) para plantas vasculares. Las regiones consideradas fueron: 1) Neotropical, que incluye Sudamérica, Centroamérica, Centro-Sur de México y Antillas; 2) America, que comprende las regiones Neotropical y Neártica (Centro-Norte de México-Sur de Estados Unidos de América), 3) Distribución disyunta, con cuatro distintas combinaciones, especies con distribución Neotropical-África, América-África, América-Oceanía y Neotropical-Europa-África; y 4) Amplia distribución (cuatro o más regiones geográficas).

RESULTADOS

Riqueza de especies

Se registraron nueve familias, 17 géneros, 29 especies y dos variedades de hepáticas epifitas del BMM de Hidalgo (Tabla 2). La familia más representativa fue Lejeuneaceae con siete géneros. Los géneros con mayor número de especies fueron *Lejeunea* Lib. y *Plagiochila* (Dumort.) Dumort., con siete y cinco especies, respectivamente. Las especies de árboles en los que se realizó la recolección de las hepáticas fueron *Quercus* spp. (40 individuos), *Liquidambar styraciflua* L. (8 individuos), *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* (Martínez) A.E. Murray (5 individuos), *Magnolia schiedeana* Schl. (2 individuos), *Pinus* sp. (2 individuos) y *Cyathea fulva* (M. Martens & Galeotti) Fée (1 individuo). En todas las localidades estudiadas, el dosel del bosque mesófilo estaba dominado por especies de encinos, excepto en Zacualtipán de Ángeles, donde dominaban *Fagus* y *Quercus*.

Distribución altitudinal

La mayor riqueza de especies se encontró entre los 1985 y 2001 m (Zacualtipán de Ángeles) y la menor riqueza entre 1345 y 1375 m (Tepehuacán de Guerrero), en los sitios de altitud más baja (Fig. 2). La distribución de cada una de las especies a lo largo del gradiente altitudinal analizado, fue diferente. En el caso de *Ceratolejeunea cubensis* (Mont.) Schiffn. y *Plagiochila raddiana* Lindenb), presentaron distribución amplia, es decir, en todo el gradiente altitudinal analizado. *Plagiochila aerea* Taylor se distribuye entre 1345 y 1564 m; *Plagiochila patula* (Sw.) Nees & Mont. ex Lindenb. entre 1433 y 2019 m, y *Porella swartziana* (F. Weber) Trevis. entre 1519 y 2019 m de altitud. El rango de distribución altitudinal en el resto de los taxones fue más restringido (Fig. 2).

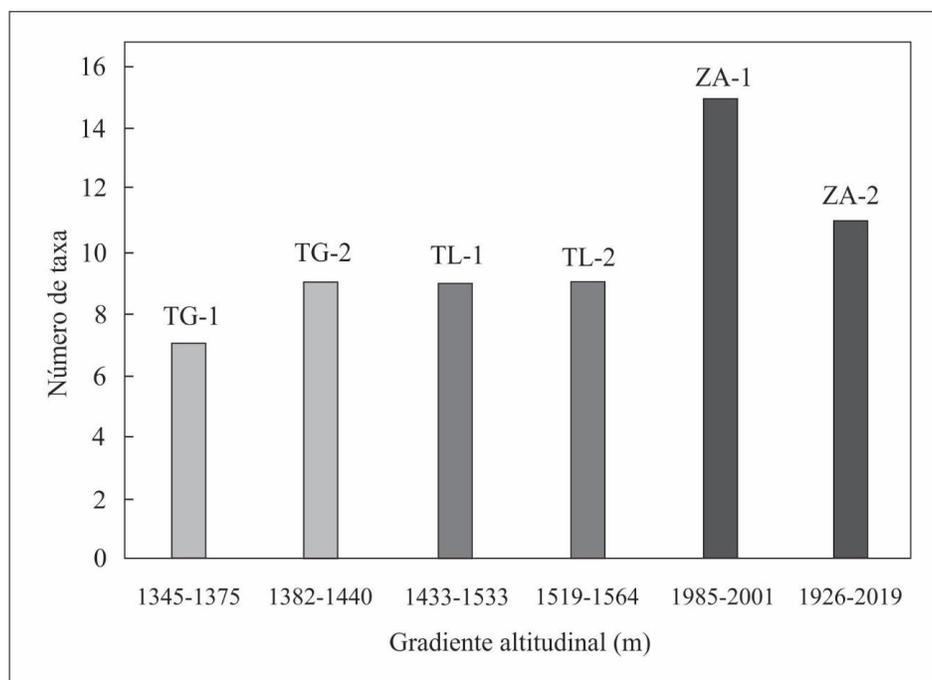


Fig. 2. Riqueza de especies de hepáticas del BMM de Hidalgo en un gradiente altitudinal. **TG-1, TG-2.** Tepehuacán de Guerrero; **TL-1, TL-2.** Tlanchinol; **ZA-1, ZA-2.** Zacualtipán de Ángeles.

Composición de especies

En el dendrograma generado (Fig. 3), se reconocieron tres grupos: el primero conformado por dos sitios de muestreo, ambos en el municipio de Zacualtipán de Ángeles, situados a mayor altitud (entre 1985 y 2019 m) y a mayor distancia geográfica que los demás; el segundo grupo está integrado por los dos sitios de muestreo de mayor altitud en Tepehuacán de Guerrero (1382-1440 m) y Tlanchinol (1519-1564 m); y el tercer grupo está constituido por los dos sitios de muestreo de menor altitud de Tepehuacán de Guerrero (1345-1375 m) y Tlanchinol (1433-1533 m).

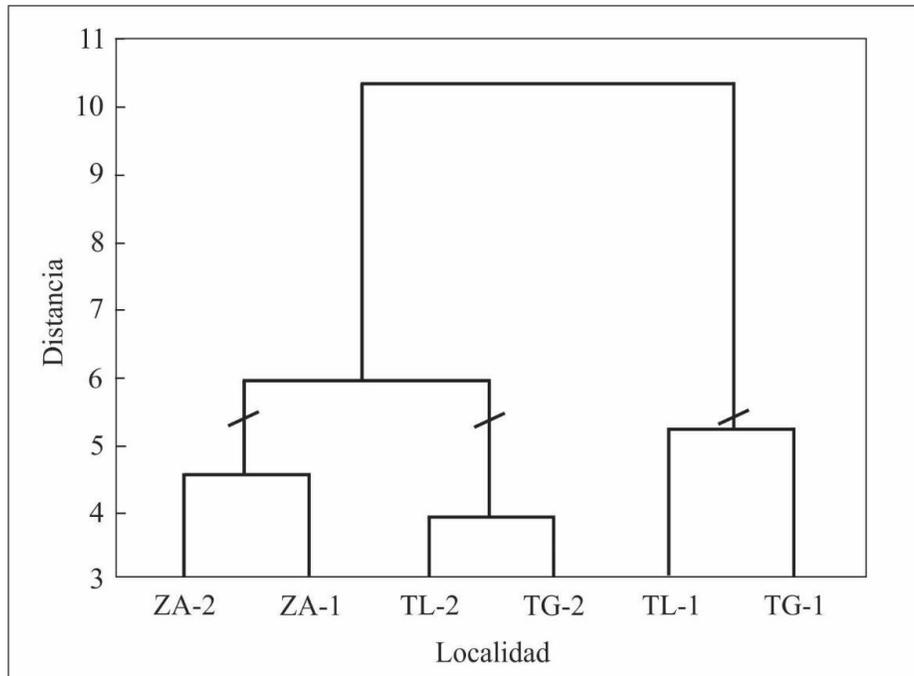


Fig. 3. Dendrograma del análisis de agrupamiento que muestra la semejanza en la composición de especies de hepáticas de diferentes sitios ubicados a distinta altitud en el BMM de Hidalgo. **TG-1.** Tepehuacán de Guerrero (1345-1375 m), **TG-2.** Tepehuacán de Guerrero (1382-1440 m), **TL-1.** Tlanchinol (1433-1533 m), **TL-2.** Tlanchinol (1519-1564 m), **ZA-1.** Zacualtipán de Ángeles (1985-2001 m), **ZA-2.** Zacualtipán de Ángeles (1926-2019 m).

Distribución geográfica

Se definieron siete grupos diferentes con base en la distribución geográfica de las especies de hepáticas epífitas presentes en el BMM de Hidalgo. Los grupos mejor representados fueron: el elemento Neotropical (55% de las especies, que se distribuyen principalmente en Centro y Sudamérica), el de amplia distribución (21%) y el Americano (10%), con especies que se distribuyen en el neotrópico y en el sureste de Estados Unidos de América. Los demás grupos, que incluyen especies con distribución disyunta en África, Europa Occidental y Oceanía, presentaron valores de 3.4%, cada uno (Fig. 4).

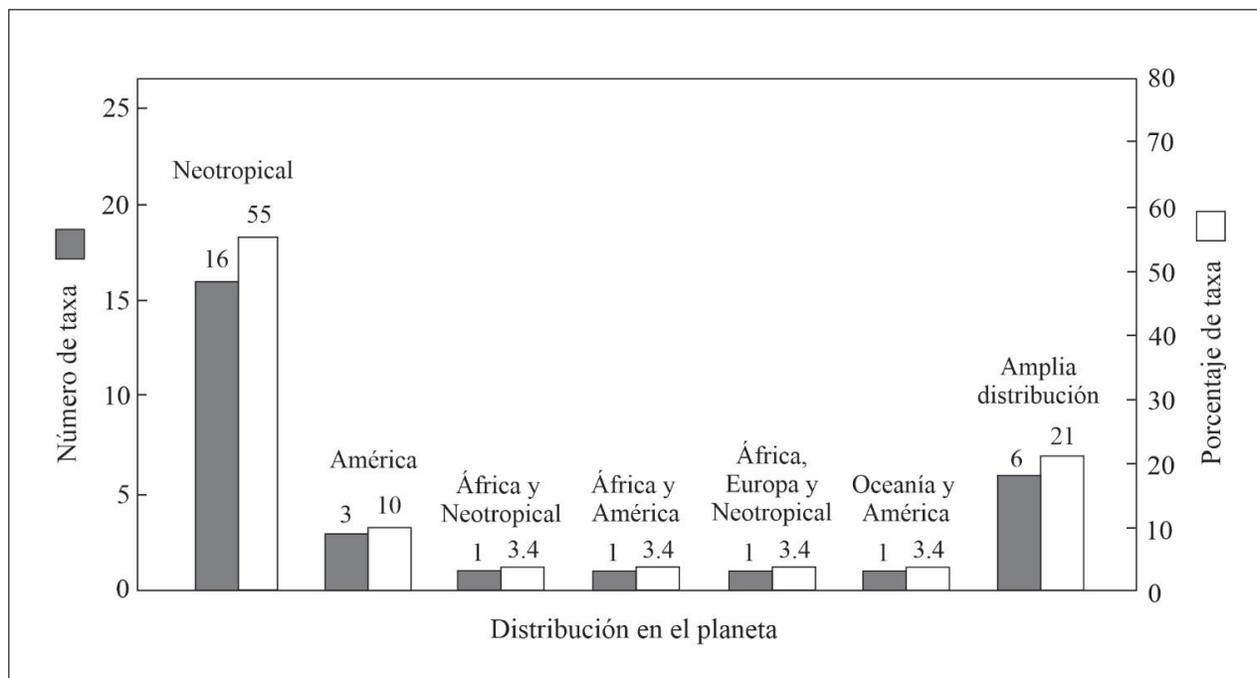


Fig. 4. Distribución geográfica de las especies de hepáticas del BMM de Hidalgo.

DISCUSIÓN

Riqueza de especies. Las familias Lejeuneaceae y Plagiochilaceae fueron las más representativas con 11 y siete especies, respectivamente; lo cual puede estar relacionado con el alto número de especies de hábito epífita que ambas contienen (Cacua-Toledo *et al.*, 2018; Christine *et al.*, 2013; de Oliveira & ter Steege, 2013; Feuillet-Hutado & Torres, 2016; Holz & Gradstein, 2005). Los géneros *Lejeunea* y *Plagiochila* fueron los que presentaron un número más alto de especies, lo cual puede deberse, en parte, a que América tropical es el centro de diversificación principal de Lejeuneaceae (Gradstein, 2020), de ahí que, casi tres cuartas partes de los 72 géneros que integran esta familia a nivel mundial, y probablemente alrededor de un tercio de las especies, se encuentran en el Neotrópico.

La riqueza de especies encontrada en el presente estudio fue baja, comparada con la registrada en otras investigaciones realizadas en BMM en Sudamérica: en la región de Los Andes, Costa Rica y Colombia se determinaron 187, 200 y 166 especies, respectivamente (Campos *et al.*, 2019; Gradstein *et al.*, 2001; Holz & Gradstein, 2005; Wolf, 1993). Sin embargo, en los estudios referidos se recolectaron hepáticas de varios sustratos de crecimiento, microhábitats y/o el tamaño del área de muestreo fue considerablemente mayor que en el presente estudio.

Las 29 especies de hepáticas epifitas que componen la flora del BMM de Hidalgo representan sólo el 5.0% de las 600 especies estimadas para México (Delgadillo-Moya, 2022; Delgadillo-Moya & Juárez-Martínez, 2014). Sin embargo, las condiciones ambientales que prevalecen en el BMM, como la humedad atmosférica alta y la temperatura moderada (Gual-Díaz & Rendón-Correa, 2017; Jardel Peláez *et al.*, 2014), son idóneas para el desarrollo y proliferación de las hepáticas, aunado a ello, este grupo de plantas se desarrolla sobre varios sustratos (suelo y rocas), que no fueron considerados en el presente estudio, por lo que la riqueza de especies debe ser más elevada si se realiza el muestreo en todos los sustratos de crecimiento (Alvarenga & Lisboa, 2009; Marques & Cavalcanti, 2007; Oliveira-da-Silva & Ilkiu-Borges, 2018).

Con respecto a los forófitos, la mayoría de las especies de hepáticas recolectadas crecen sobre árboles de *Quercus* sp. y *Liquidambar styraciflua* L., lo cual probablemente se relaciona con las características de la corteza (fisurada) y con el hecho de que son los árboles dominantes en los sitios de estudio. Tal como lo sugieren Frahm (2003) y Mota De Oliveira *et al.* (2009), las características de la corteza pueden influir sobre la riqueza y composición de las especies epífitas, la textura es importante, ya que las cortezas lisas acumulan poca humedad y humus en comparación con las rugosas. En contraste, solo dos especies de hepáticas crecen sobre *Magnolia schiedeana* (árbol de corteza lisa) y *Cyathea fulva* (helecho arborescente), lo cual puede estar relacionado con la baja importancia estructural de ambas especies de árboles en el BMM analizado; como la selección de los forófitos fue al azar, sólo se recolectaron hepáticas sobre un helecho arborescente y dos árboles de *Magnolia*. Sin embargo, otros factores ambientales tales como la edad, densidad y biomasa de los forófitos, también pueden influir en la variación en la riqueza de especies. Por ejemplo, se ha encontrado que las hepáticas epífitas suelen ser dominantes en bosques montanos maduros (Gradstein *et al.*, 2001; Gradstein & León-Yáñez, 2020; Valente *et al.*, 2013), lo cual coincide con los valores de riqueza más altos, encontrados en los bosques maduros de encino y haya, de las dos localidades de Zacualtipán de Ángeles.

Distribución altitudinal y composición de especies. La composición, riqueza y distribución de las especies de hepáticas del BMM de Hidalgo cambió a lo largo del gradiente de altitud analizado. En general, la semejanza en la composición de especies fue menor entre sitios con altitudes contrastantes o distantes geográficamente entre sí; lo que es acorde con el patrón o fenómeno de decaimiento en la semejanza florística por la distancia, en el cual se asume que las condiciones ambientales locales serán más contrastantes entre sitios más lejanos (Canché-Delgado *et al.*, 2011; Cavieres & Piper, 2004; Nekola & White, 1999; Soininen *et al.*, 2007). En concordancia con lo anterior, Nöske *et al.* (2008) mencionan que las condiciones micro climáticas influyen marcadamente en la composición de especies de briofitas, es decir, cada taxón responde de diferente manera a las condiciones ambientales locales. En el presente estudio, la mayor riqueza de especies se encontró en la localidad de Zacualtipán de Ángeles, en los sitios de mayor altitud (entre los 1926 y 2019 m), por lo que es probable que en este bosque las condiciones micro climáticas (v. gr. temperatura promedio más baja, precipitación total anual > 2000 mm anuales), sean más idóneas para la existencia de un conjunto mayor de especies de hepáticas, que en las demás localidades analizadas.

La humedad y la temperatura del BMM varían, de acuerdo con el intervalo de altitud donde se distribuye en las diferentes regiones de la SMO (Ángeles, 2009; Gual-Díaz & Rendón-Correa, 2017). En el piso altitudinal inferior, el BMM, colinda comúnmente con el bosque tropical subcaducifolio, que se caracteriza por presentar menor humedad y temperatura más alta que el BMM; y en el piso de elevación superior con bosques de coníferas y de encino, en donde hay menor humedad y temperatura más baja que en el BMM; por lo que la afinidad florística de sus componentes está relacionada con las condiciones ambientales que predominan y con el medio local colindante (Valdez *et al.*, 2003).

Distribución geográfica. La influencia del elemento Neotropical sobre la flora de hepáticas del BMM de Hidalgo podría estar asociada con la alta representatividad de especies de Lejeuneaceae, pues se considera que esta región biogeográfica es el centro de diversidad de la familia; por lo que la presencia de *Anoplolejeunea conferta* y *Dicranolejeunea axillaris*, especies endémicas del Neotrópico (Gradstein, 2020) en este ecosistema es plausible.

La distribución de las especies de plantas dentro de las áreas biogeográficas suele ser heterogénea, porque las condiciones ambientales adecuadas para la supervivencia y desarrollo de las especies no son homogéneas dentro de estas áreas; este fenómeno se observa con claridad en los taxones de hepáticas de América, pues en la región Neotropical están mejor representados en Centro y Sudamérica; y en la región Neártica en el Sureste de Estados Unidos de América (Dauphin *et al.*, 2011; Gradstein, 1994, 2017, 2020; Gradstein & Hekking, 1989;

Heinrichs *et al.*, 1999; Heinrichs & Gradstein, 2000; So, 2005; Valente & Pôrto, 2006). Las especies de hepáticas con amplia distribución, que comprenden otro de los componentes más representativo en el presente estudio (segundo lugar), pueden considerarse como semi cosmopolitas, es decir, especies con distribución amplia, que ocupan varias unidades biogeográficas de rango mayor, como reino o región (*sensu* Guerrero *et al.*, 2018), lo cual es un indicio de su alta capacidad de adaptación y dispersión en diferentes ambientes.

La presencia de especies con distribución disyunta, como *Leptoscyphus porphyrius*, que se distribuye en el Neotrópico y África, *Porella swartziana* en América y África, y *Plagiochila bifaria* en el Neotrópico, Europa Occidental y África, son de interés biogeográfico, pues pueden permitir confirmar o refutar hipótesis sobre como ocurrió la dispersión de las especies. La propuesta más aceptada para explicar este fenómeno es la que enfatiza la unión entre América y África, aunque también se han sugerido otras alternativas, como la dispersión de esporas a gran distancia y la migración a partir de áreas que se formaron después de la deriva continental (Delgadillo, 1993). La disyunción que llama más la atención es la de *Plagiochila raddiana*, cuya distribución incluye el Neotrópico, el sur de E.U.A. y el sur de Asia. En este caso, no hay una explicación convincente, pero se han propuesto dos causas posibles: 1) que sus ancestros habitaban originalmente una de las áreas y desde allí se dispersaron hacia las demás, o bien, 2) que sus ancestros ocupaban una superficie amplia, que comprendía las actuales áreas disyuntas, las cuales son restos de la distribución ancestral (Maidana, 2013). Otra explicación plausible es que el área de distribución de las especies es amplia, pero no existen suficientes registros en campo de su presencia, por la carencia de estudios florísticos y ecológicos.

Existen pocos trabajos sobre la composición, distribución y riqueza de especies de hepáticas (epifitas o de cualquier otro sustrato de crecimiento), en los diferentes ecosistemas terrestres de México (incluido el BMM). El listado florístico obtenido y los datos sobre su distribución altitudinal pueden servir como base para conocer otros aspectos biológicos de importancia de estas especies, v. gr. el papel ecológico que desempeñan, el estado de conservación de su hábitat y usos potenciales. Se ha documentado que las hepáticas son vulnerables a los cambios ambientales (humedad, nutrimentos, radiación, entre otros), por ello son consideradas excelentes indicadores de cambios, incluso sutiles, en las condiciones climáticas de los bosques (Ah-Peng *et al.*, 2017).

CONCLUSIONES

En el bosque mesófilo de montaña de Hidalgo se desarrollan al menos 29 especies de hepáticas epifitas, en el gradiente de altitud analizado la distribución de estas especies fue heterogénea. La menor riqueza de especies se encontró en sitios con altitud baja (1345-1375 m), mientras que el mayor número de especies ocurrió en sitios de altitud más elevada (1985-2001 m); probablemente porque las condiciones ambientales de humedad y temperatura en este intervalo de altitud, son más benignas e idóneas para las hepáticas. La semejanza en la composición de especies se relacionó en forma inversa con la distancia geográfica entre sitios, lo cual sugiere que las condiciones ambientales locales tienen alta influencia en la composición y riqueza de especies. El número de especies de hepáticas con distribución Neotropical predominó ampliamente con respecto a las que se distribuyen en otras regiones del planeta. Los resultados obtenidos sobre la composición, riqueza y distribución de las especies de hepáticas epifitas en el gradiente de altitud y a escala biogeográfica, aportan información básica sobre los patrones de distribución de este grupo de plantas, que pueden ser de utilidad en los programas de manejo y conservación de la biodiversidad del BMM de Hidalgo y de México.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada al primer autor para realizar estudios de posgrado. Al Dr. Robert Gradstein por su ayuda en la corroboración de la determinación de algunos ejemplares. Los autores agradecen los comentarios y sugerencias de tres revisores anónimos, lo cuales fueron de gran utilidad para mejorar el manuscrito.

LITERATURA CITADA

- Ah-Peng, C., Cardoso, A. W., Flores, O., West, A., Wilding, N., Strasberg, D., & Hedderson, T. A. J. (2017). The role of epiphytic bryophytes in interception, storage, and the regulated release of atmospheric moisture in a tropical montane cloud forest. *Journal of Hydrology*, 548, 665–673. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2017.03.043>
- Alvarenga, L. D. P., & Lisboa, R. C. L. (2009). Contribuição para o conhecimento da taxonomia, ecologia e fitogeografia de briófitas da Amazônia Oriental. *Acta Amazonica*, 39(3), 495–504. <https://doi.org/10.1590/s0044-59672009000300003>
- Ángeles, P. G. (2009). El bosque mesófilo de montaña en el estado de Hidalgo. In A. I. Monterroso Rivas (Ed.), *El bosque mesófilo de montaña en el estado de Hidalgo: perspectiva ecológica frente al cambio climático* (Primera, pp. 39–54). Universidad Autónoma Chapingo, Colegio de Posgraduados, Gobierno del Estado de Hidalgo.
- Bernecker-Lücking, A. (1999). Key to Latin American species of *Bazzania* S . F . Gray. *Tropical Bryology*, 16, 117–126.
- Cacua-Toledo, C. F., Serrano-Cardozo, V. H., & Ramírez-Pinilla, M. P. (2018). Composición y distribución de hepáticas (Marchantiophyta) en un intervalo altitudinal en la Cordillera Oriental de Colombia. *Revista de Biología Tropical*, 66(2), 559. <https://doi.org/10.15517/rbt.v66i2.33379>
- Campos, L. V., Mota de Oliveira, S., Benavides, J. C., Uribe-M, J., & ter Steege, H. (2019). Vertical distribution and diversity of epiphytic bryophytes in the Colombian Amazon. *Journal of Bryology*, 41(4), 328–340. <https://doi.org/10.1080/03736687.2019.1641898>
- Canché-Delgado, A., García-Jain, E. S., Vaca-Sánchez, M. S., & Cuevas-Reyes, P. (2011). Cambios en la morfología floral y foliar en *Crataegus tracyi*: importancia de la asimetría fluctuante como indicador de estrés ambiental. *Biologicas*, 13(1), 44–49.
- Cavieres, L., & Piper, F. (2004). Determinantes ecofisiológicos del límite altitudinal de los árboles. In H. M. Cabrera (Ed.), *Fisiología ecológica en plantas* (pp. 221–234). Universidad de Concepción.
- Christine, G. D., André, O., Jörg, B., & Robbert, G. (2013). Diversity and vertical distribution of epiphytic liverworts in lowland rain forest and lowland cloud forest of French Guiana. *Journal of Bryology*, 35(4), 243–254. <https://doi.org/10.1179/1743282013Y.0000000070>
- Corrales, A., Duque, A., Uribe, J., & Londoño, V. (2010). Abundance and diversity patterns of terrestrial bryophyte species in secondary and planted montane forests in the northern portion of the Central cordillera of Colombia. *Bryologist*, 113(1), 8–21. <https://doi.org/10.1639/0007-2745-113.1.8>
- Crandall-Stotler, B., Stotler, R. E., & Long, D. G. (2009). Phylogeny and classification of the Marchantiophyta. *Edinburgh Journal of Botany*, 66(1), 155–198. <https://doi.org/10.1017/S0960428609005393>
- Dauphin, G., Wunderlin, R. P., Essig, F. B., & Davison, P. G. (2011). A checklist of the liverworts (Marchantiophyta) and hornworts (Anthocerotophyta) of Florida. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 5(2), 773–814.
- de Oliveira, S. M., & ter Steege, H. (2013). Floristic overview of the epiphytic bryophytes of terra firme forests across the Amazon basin. *Acta Botanica Brasílica*, 27(2), 347–363.
- Delgadillo-Moya, C. (2022). Fifty years of bryology in Mexico. *Botanical Sciences*, 100(2), 263–273. <https://doi.org/10.17129/botsoci.2887>

- Delgadillo-Moya, C., & Juárez-Martínez, C. (2014). Biodiversidad de Anthocerotophyta y Marchantiophyta en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85, 106–109. <https://doi.org/10.7550/rmb.30954>
- Delgadillo, M. C. (1993). The Neotropical-African moss disjunction. *Bryologist*, 96(4), 604–615. <https://doi.org/10.2307/3243992>
- Delgado, V., & Ederra, A. (2013). Long-term changes (1982-2010) in the bryodiversity of Spanish beech forests assessed by means of Ellenberg indicator values of temperature, nitrogen, light and pH. *Biological Conservation*, 157, 99–107. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2012.06.022>
- Estepa-Ruiz, M. T., & Campos, L. V. (2022). Diversidad de hepáticas epífitas (Marchantiophyta) del sector Suasie en el Parque Nacional Natural Chingaza. *Acta Biologica Colombiana*, 27(1), 52–60. <https://doi.org/10.15446/abc.v27n1.87497>
- Feuillet-Hutado, C., & Torres, A. M. (2016). Hepáticas epífitas: riqueza en un gradiente altitudinal Andino, departamento del Cauca, Colombia. *Boletín Científico, Museo de Historia Natural*, 20(2), 33–42. <https://doi.org/10.17151/bccm.2016.20.2.3>
- Frahm, J. P. (2003). Manual of tropical bryology. *Tropical Bryology*, 23, 1–196. <http://tropical-bryology.org/Articles/open/VOL23/TB23.pdf%0Apapers3://publication/uuid/A295B8F2-742A-492E-86F4-B286B6CECB6A>
- Fulford, M. (1945). Studies on America Hepaticae-VI. *Ceratolejeunea*. *Brittonia*, 5(4), 368–403. GBIF.org. (2022). Global Biodiversity Information Facility.
- Glime, J. M. (2018). Tropics: epiphyte ecology. In *Bryophyte ecology. Volume 4. Habitat and Role*. Michigan Technological University and the International Association of Bryologists.
- Gradstein, S. R. (2016). The genus *Plagiochila* (Marchantiophyta) in Colombia. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 40(154), 104–136. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.272>
- Gradstein, S. R. (1994). Lejeuneaceae: Ptychantheae, Brachiolejeuneae. *Flora Neotropica*, 62, 1–216.
- Gradstein, S. R. (2015). Annotated key to the species of *Plagiochila* (Marchantiophyta) from Brazil. *Pesquisas. Botânica*, 67, 23–36.
- Gradstein, S. R. (2017). *Bazzania* (Marchantiophyta) in South America. *Nova Hedwigia*, 105(1–2), 243–266. <https://doi.org/10.1127/nova>
- Gradstein, S. R. (2020). The genera of Lejeuneaceae (Marchantiophyta) of tropical America-an update. *Nova Hedwigia*, 150, 81–96. <https://doi.org/10.1127/nova-suppl/2020/081>
- Gradstein, S. R., Churchill, S. P., & Salazar-Allen, N. (2001). Guide to the Bryophytes of tropical America. *Memoirs of The New York Botanical Garden*, 86, 573.
- Gradstein, S. R., & da Costa, D. P. (2003). *The Hepaticae and Anthocerotae of Brazil* (Vol. 87). Memoirs of The New York Botanical Garden.
- Gradstein, S. R., & Hekking, W. H. . (1989). A catalogue of the bryophytes of the Guianas I. Hepaticae and anthocerotae. *The Journal of the Hattori Botanical Laboratory*, 66, 197–230.
- Gradstein, S. R., & Weber, W. A. (1982). Bryogeography of the Galápagos Islands. *Journ. Hattori Bot. Lab.*, 52, 127–152.
- Gradstein, S. R., & León-Yáñez, S. (2020). Liverwort diversity in *Polylepis pauta* forests of Ecuador under different climatic conditions. *Neotropical Biodiversity*, 6(1), 138–146. <https://doi.org/10.1080/23766808.2020.1809273>
- Granados-Sánchez, D., López-Ríos, G. F., Hernández-García, M. Á., & Sánchez-González, A. (2003). Ecología de las plantas epífitas. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 9(2), 101–111.
- Gual-Díaz, M., & Rendón-Correa, A. (2017). Los bosques mesófilos de montaña de México. *Agroproductividad*, 10(1), 3–9.
- Guerrero, E. L., Apodaca, M. J., Dosil-Hiriart, F. D., & Cabanillas, P. A. (2018). Análisis biogeográfico de los humedales del sistema fluvial del Río de la Plata basado en plantas trepadoras y epífitas. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89, 1190–1200.
- Gupta, R., & Asthana, A. K. (2016). Diversity and distribution of liverworts across habitats and

- altitudinal gradient at Pachmarhi Biosphere Reserve (India). *Plant Science Today*, 3(4), 354–359. <https://doi.org/10.14719/pst.2016.3.4.263>
- Heinrichs, J., & Gradstein, S. R. (2000). A revision of *Plagiochila* sect. *Crispatae* and sect. *Hypnoides* (Hepaticae) in the Neotropics. I. *Plagiochila disticha*, *P. montagnei* and *P. raddiana*. *Nova Hedwigia*, 70(1–2), 161–184. <https://doi.org/10.1127/nova.hedwigia/70/2000/161>
- Heinrichs, J., Renker, C., & Gradstein, S. R. (1999). A taxonomic revision of *Plagiochila subplana* Lindenb., a widespread of tropical America. *Hausknechtia Beiheft*, 9, 171–181.
- Holz, I., & Gradstein, S. R. (2005). Cryptogamic epiphytes in primary and recovering upper montane oak forests of Costa Rica - Species richness, community composition and ecology. *Plant Ecology*, 178, 89–109. <https://doi.org/10.1007/s11258-004-2496-5>
- Holz, I., Gradstein, S. R., Heinrichs, J., & Kappelle, M. (2002). Bryophyte diversity, microhabitat differentiation, and distribution of life forms in Costa Rican upper montane *Quercus* forest. *The Bryologist*, 105(3), 334–348. [https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1639/0007-2745\(2002\)105\[0334:BDMDAD\]2.0.CO;2](https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1639/0007-2745(2002)105[0334:BDMDAD]2.0.CO;2)
- INEGI. (2022). *Mapa de uso de suelo y vegetación*. INEGI. Instituto Nacional de Geografía y Estadística. <https://www.inegi.org.mx/temas/ususuelo/>
- Jardel-Peláez, E., Cuevas-Guzmán, R., Santiago-Pérez, A. L., & Rodríguez-Gómez, J. M. (2014). Ecología y manejo de los bosques mesófilos de montaña en México. *Bosques Mesófilos de Montaña de México Diversidad, Ecología y Manejo*, 141–187.
- Johnson, A., & Kokila, P. (1970). The resistance to desiccation of ten species of tropical mosses. *The Bryologist*, 73(4), 682–686.
- Köhler, L., Tobón, C., Frumau, K. F. A., & Bruijnzeel, L. A. (2007). Biomass and water storage dynamics of epiphytes in old-growth and secondary montane cloud forest stands in Costa Rica. *Plant Ecology*, 193, 171–184. <https://doi.org/10.1007/s11258-006-9256-7>
- Ludwig, J. A., & Reynolds, J. F. (1988). *Statistical ecology: a primer on methods and computing*. Wiley-Interscience Publication.
- Maidana, G. E. (2013). Aportes de la biogeografía histórica y la tectónica de placas. *Contribuciones Científicas GEA*, 25, 137–148.
- Marques, de O. J. R. do P., & Cavalcanti, P. K. (2007). Composição, riqueza e padrões de distribuição das hepáticas (Marchantiophyta) epífitas da Estação Ecológica Murici, AL, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(2), 1041–1043.
- Morrone, J. J. (2015). Biogeographical regionalisation of the world: a reappraisal. *Australian Systematic Botany*, 28, 81–90
- Mota De Oliveira, S., Ter Steege, H., Cornelissen, J. H. C., & Robbert Gradstein, S. (2009). Niche assembly of epiphytic bryophyte communities in the Guianas: A regional approach. *Journal of Biogeography*, 36(11), 2076–2084. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2009.02144.x>
- Nekola, J. C., & White, P. S. (1999). The distance decay of similarity in biogeography and ecology. *Journal of Biogeography*, 26(4), 867–878. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2699.1999.00305.x>
- Norris, D. H., Kraichak, E., Risk, A. C., Lucas, D., Allard, D. J., Rosengren, F., Clark, T. A., Fenton, N., Tessler, M., Phephu, N., & Lennette, E. T. (2017). On the diversity and richness of understory bryophytes at *Nectandra* cloud forest reserve, Costa Rica. *Biodiversity Data Journal*, 5(1), 1–18. <https://doi.org/10.3897/BDJ.5.e11778>
- Nöske, N. M., Hilt, N., Werner, F. A., Brehm, G., Fiedler, K., Sipman, H. J. M., & Gradstein, S. R. (2008). Disturbance effects on diversity of epiphytes and moths in a montane forest in Ecuador. *Basic and Applied Ecology*, 9, 4–12. <https://doi.org/10.1016/j.baaec.2007.06.014>
- Oliveira-da-Silva, F. R., & Ilkiu-Borges, A. L. (2018). Bryophytes (Bryophyta and Marchantiophyta) of the canga of the Serra dos Carajás, Pará, Brazil. *Rodriguesia*, 69(3), 1405–1416. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869334>
- Quiñonez, B. G., Cruz, C. F., Vargas, L. B. & Javier, H. F. (2012). Estimación del diámetro, altura y volumen a partir del tocón para especies forestales de Durango. *Revista*

Recibido:
2/febrero/2023

Aceptado:
16/junio/2023

- Mexicana de Ciencias Forestales*, 9(3), 23–39
- Reiner-Drehwald, M. E. (2000). Las Lejeuneaceae (Hepaticae) de Misiones, Argentina VI. *Lejeunea* y *Taxilejeunea*. *Tropical Bryology*, 19, 81–131.
- Rodríguez-Quiel, E. E., Kluge, J., Mendieta-Leiva, G., & Bader, M. Y. (2022). Elevational patterns in tropical bryophyte diversity differ among substrates: a case study on Baru volcano, Panama. *Journal of Vegetation Science*, 33, 1–11. <https://doi.org/10.1111/jvs.13136>
- Ruiz-Agudelo, C., & Aguirre-Ceballos, J. (2004). Las comunidades de briófitos y su relación con la vegetación fanerogámica (tipos de paisaje) en Tarapacá (Amazonas-Colombia). *Caldasia*, 26(1), 65–78.
- Ruiz-Jiménez, C. A., Téllez-Valdés, O., & Luna-Vega, I. (2012). Clasificación de los bosques mesófilos de montaña de México: afinidades de la flora. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83, 1110–1144. <https://doi.org/10.7550/rmb.29383>
- Santos, N. D. Dos, Costa, D. P. Da, Kinoshita, L. S., & Shepherd, G. J. (2017). Variations in bryophyte communities in a short elevational gradient in Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Cryptogamie, Bryologie*, 38(2), 191–211. <https://doi.org/10.7872/cryb/v38.iss2.2017.191>
- Silva, J. B., Germano, S. R., Maciel-Silva, A. S., & dos Santos, N. D. (2019). A small elevational gradient shows negative bottom-to-top bryophyte richness in a seasonally dry forest in Brazil. *Cryptogamie, Bryologie*, 40(17), 219–231. <https://doi.org/10.5252/cryptogamie-bryologie2019v40a17>
- So, M. L. (2005). *Porella* (Porellaceae, Marchantiophyta) in Latin America. *New Zealand Journal of Botany*, 43(1), 301–321. <https://doi.org/10.1080/0028825X.2005.9512956>
- Soininen, J., McDonald, R., & Hillebrand, H. (2007). The distance decay of similarity in ecological communities. *Ecography*, 30, 3–12. <https://doi.org/10.1111/j.2006.0906-7590.04817.x>
- StatSoft. (2008). Statistica for Windows (Data Analysis Software System), Version 7.0. Statsoft. Inc.
- Tabua, M., Riley, R., Renner, M. A. M., Söderström, L., Hagborg, A., & Konrat, M. Von. (2017). Are epiphytic bryophyte communities characterized by changes along an elevational gradient?—A preliminary study on eastern Viti Levu, Fiji Islands. *Bryophyte Diversity and Evolution*, 39(1), 28–37. <https://doi.org/10.11646/bde.39.1.6>
- Tropicos.org. (2022). Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>. (accessed October, 11, 2022).
- Valdez, T. V., Foroughbakhch, P. R., & Alanís, F. G. (2003). Distribución relictual del bosque mesófilo de montaña en el noreste de México. *Ciencia UANL*, 6(3), 360–365.
- Valente, E. D. B., & Pôrto, K. C. (2006). Hepáticas (Marchantiophyta) de um fragmento de Mata Atlântica na Serra da Jibóia, município de Santa Teresinha, BA, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 20(2), 433–441.
- Valente, E. de B., Pôrto, K. C., Bastos, C. J. P., & Ballejos-Loyola, J. (2013). Diversity and distribution of the bryophyte flora in montane forests in the Chapada Diamantina region of Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 27(3), 506–518. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062013000300008>
- Wolf, J. H. D. (1993). Diversity patterns and biomass of epiphytic bryophytes and lichens along an altitudinal gradient in the Northern Andes. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 80(4), 928–960.
- Wolf, J. H. D. (1995). Non-vascular epiphyte diversity patterns in the canopy of an upper montane rain forest (2550–3670 m), Central cordillera, Colombia. *Selbyana*, 16(2), 185–195.

Tabla 2. Listado de especies epifitas de Marchantiophyta del BMM del estado de Hidalgo, presentes a lo largo del gradiente altitudinal analizado. **TG-1.** Tepehuacán de Guerrero (1345-1375 m); **TG-2.** Tepehuacán de Guerrero (1382-1440 m); **TL-1.** Tlanchinol (1433-1533 m); **TL-2.** Tlanchinol (1519-1564 m); **ZA-1.** Zacualtipán de Ángeles (1985-2001 m), **ZA-2.** Zacualtipán de Ángeles (1926-2019 m). **F.** Especie de Forófito: **1.** *Cyathea fulva* (M. Martens & Galeotti) Fée; **2.** *Fagus grandifolia* subsp. *mexicana* (Martínez) A.E. Murray; **3.** *Liquidambar styraciflua* L.; **4.** *Magnolia schiedeana* Schl.; **5.** *Pinus* L.; **6.** *Quercus* L. Los símbolos indican presencia (+) o ausencia (-).

Familia	Taxa	TG-1	TG-2	TL-1	TL-2	ZA-1	ZA-2	F
Calypogeiaceae	<i>Calypogeia peruviana</i> Nees & Mont.	+	-	-	-	-	-	6
Frullaniaceae	<i>Frullania brasiliensis</i> Raddi	-	-	-	-	-	+	6
Lejeuneaceae	<i>Anoplolejeunea conferta</i> (C.F.W. Meissn. ex Spreng.) A. Evans	-	-	-	-	+	-	6
	<i>Bryopteris filicina</i> (Sw.) Nees	-	-	-	+	-	-	6
	<i>Ceratolejeunea cubensis</i> (Mont.) Schiffn.	+	+	+	-	+	+	3, 6
	<i>Cheilolejeunea rigidula</i> (Nees ex Mont.) R.M. Schust.	+	-	-	-	+	+	2, 6
	<i>Dicranolejeunea axillaris</i> (Nees & Mont.) Schiffn.	-	-	+	-	-	-	6
	<i>Lejeunea calcicola</i> R.M. Schust.	-	+	-	-	-	-	6
	<i>Lejeunea cavifolia</i> (Ehrh.) Lindb.	-	+	-	-	-	+	2, 6
	<i>Lejeunea flava</i> (Sw.) Nees	-	+	-	-	-	+	3, 6
	<i>Lejeunea laetevirens</i> Nees & Mont.	+	-	-	+	+	+	4, 6
	<i>Lejeunea pterigonia</i> (Lehm. & Lindenb.) Mont.	-	-	+	-	-	-	6
	<i>Lepidolejeunea involuta</i> (Gottsche) Grolle	-	+	+	-	-	-	6
Lepidoziaceae	<i>Bazzania falcata</i> (Lindenb.) Trevis	+	-	+	-	-	-	1, 3, 6
	<i>Bazzania hookeri</i> (Lindenb.) Trevis var. <i>hookeri</i>	-	-	+	-	-	-	1, 6
	<i>Lepidozia cupressina</i> (Sw.) Lindenb.	+	-	-	-	+	-	3
Lophocoleaceae	<i>Leptoscyphus porphyrius</i> (Nees) Grolle	-	-	-	-	+	-	5
	<i>Lophocolea muricata</i> (Lehm.) Nees	-	+	-	-	-	-	5
Metzgeriaceae	<i>Metzgeria conjugata</i> Lindb.	-	+	-	+	+	-	5, 6
Plagiochilaceae	<i>Plagiochila aerea</i> Taylor	+	+	+	+	-	-	6
	<i>Plagiochila bifaria</i> (Sw.) Lindenb. var. <i>bifaria</i>	-	-	-	-	+	-	6
	<i>Plagiochila patula</i> (Sw.) Nees & Mont. ex Lindenb.	-	-	+	+	+	+	2, 6
	<i>Plagiochila raddiana</i> Lindenb.	+	+	-	+	+	+	3, 6
	<i>Plagiochila rutilans</i> Lindenb.	-	+	+	+	-	-	3, 6
	<i>Plagiochila simplex</i> (Sw.) Lindenb.	-	-	-	+	-	-	6
	<i>Plagiochila subplana</i> Lindenb.	-	-	-	-	-	+	2
Porellaceae	<i>Porella swartziana</i> (F. Weber) Trevis	-	-	-	+	+	+	2, 6
Radulaceae	<i>Radula javanica</i> Gottsche	-	-	-	-	+	+	2, 4, 5
	<i>Radula mexicana</i> Lindenb. & Gottsche	-	-	-	-	+	-	6

**DESCRIPCIÓN E ILUSTRACIÓN DEL
DESARROLLO MORFOGÉNICO DE LOS
GAMETÓFITOS Y ESPORÓFITOS
JÓVENES DE *Asplenium blepharophorum*
Bertol. (ASPLENIACEAE-POLYPODIIDAE)
EN TRES SUSTRATOS NATURALES**

**DESCRIPTION AND ILLUSTRATION OF
THE MORPHOGENIC DEVELOPMENT OF
THE YOUNG GAMETOPHYTES AND
SPOROPHYTES OF *Asplenium blepharophorum*
Bertol. (ASPLENIACEAE-POLYPODIIDAE) IN
THREE NATURAL SUBSTRATES**

Rojas-Cano, Adriana; María de la Luz Arreguín-Sánchez; Rafael Fernández-Nava y David Leonor Quiroz-García

DESCRIPCIÓN E ILUSTRACIÓN DEL DESARROLLO MORFOGÉNICO DE LOS GAMETÓFITOS Y ESPORÓFITOS JÓVENES DE *Asplenium blepharophorum* Bertol. (ASPLENIACEAE-POLYPODIIDAE) EN TRES SUSTRATOS NATURALES

DESCRIPTION AND ILLUSTRATION OF THE MORPHOGENIC DEVELOPMENT OF THE YOUNG GAMETOPHYTES AND SPOROPHYTES OF *Asplenium blepharophorum* Bertol. (ASPLENIACEAE-POLYPODIIDAE) IN THREE NATURAL SUBSTRATES



Descripción e ilustración del desarrollo morfogénico de los gametófitos y esporófitos jóvenes de *Asplenium blepharophorum* Bertol. (Aspleniaceae-Polypodiidae) en tres sustratos naturales.

Description and illustration of the morphogenic development of the young gametophytes and sporophytes of *Asplenium blepharophorum* Bertol. (Aspleniaceae-Polypodiidae) en tres sustratos naturales.

Rojas-Cano, Adriana; María de la Luz Arreguín-Sánchez; Rafael Fernández-Nava y David Leonor Quiroz-García

Adriana Rojas-Cano
María de la Luz Arreguín-Sánchez¹ / luzma1950ipn@gmail.com
Rafael Fernández-Nava¹
David Leonor Quiroz-García¹

Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Departamento de Botánica, Instituto Politécnico Nacional, Plan de Ayala y Carpio, Col. Santo Tomás, CDMX, CP 11340.
¹Becarios de COFAA del IPN

DESCRIPCIÓN E ILUSTRACIÓN DEL DESARROLLO MORFOGÉNICO DE LOS GAMETÓFITOS Y ESPORÓFITOS JÓVENES DE *Asplenium blepharophorum* Bertol. (ASPLENIACEAE-POLYPODIIDAE) EN TRES SUSTRATOS NATURALES

DESCRIPTION AND ILLUSTRATION OF THE MORPHOGENIC DEVELOPMENT OF THE YOUNG GAMETOPHYTES AND SPOROPHYTES OF *Asplenium blepharophorum* Bertol. (ASPLENIACEAE-POLYPODIIDAE) IN THREE NATURAL SUBSTRATES

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 17-37. Julio 2023

DOI:

10.18387/polibotanica.56.2

RESUMEN: El desarrollo de los prótalos y de los esporófitos jóvenes de *Asplenium blepharophorum* Bertol. se describen y se ilustran. Los ejemplares fueron recolectados en un bosque mesófilo de montaña en San Antonio, 1 km al norte de Amecameca, Municipio de Amecameca, Estado de México. Las esporas fueron sembradas en frascos de vidrio de 125 ml con cerámica (barro molido), piedra de río, tela de mosquitero y tres soportes de cultivo: maquique, musgo y tierra de hoja, todo previamente esterilizado y cerrado con plástico y alambre de cobre. El ciclo fue isospórico con germinación tipo *Vittaria* y desarrollo del prótalo tipo *Aspidium*. Los gametófitos fueron unisexuados masculinos y femeninos; en maquique se formaron solo femeninos. Se observó dimorfismo sexual, los prótalos masculinos cordados con cauda y los femeninos cordados con gran cantidad de rizoides y cojinete, los gametangios se apreciaron inmaduros. Los esporófitos apogámicos se obtuvieron en maquique a partir de los 351 días, en musgo a los 356 y en tierra de hoja a los 473 días. Se discute la posibilidad de que sea una entidad híbrida o poliploide debido a que se desarrollaron esporófitos apogámicos en los tres sustratos y la mayoría de los esporangios tenían 32 esporas.

Palabras clave: apogamia, dimorfismo sexual, esporófitos, gametangios, helecho.

ABSTRACT: Prothallus development and the young sporophytes of *Asplenium blepharophorum* Bertol., are described and illustrated. The studied material was collected in a cloud forest in San Antonio, 1 km north of Amecameca municipality, State of México. The spores were sown in a glass vessel of 125 ml prepared in the following manner: the glasses were layered with ceramic, river stone, mosquito net and the three natural substrates: maquique, moss and plant litter, all previously sterilized and enclosed in a plastic bag tied with copper wire. The cycle was isosporeus with *Vittaria* type germination and prothallial development corresponding to the *Aspidium* type. The gametophytes were male and female; in maquique, only gametophyte female. The prothallus with sexual dimorphism, the male chordate with cauda and the female chordate with numerous rhizoids and pads, the gametangia did not mature. Young sporophytes were apogamous obtained around 351 days after sowing in maquique, 356 in moss and the plant litter 473. The possibility of it being a hybrid or polyploid entity is discussed because apogamic sporophytes developed in the three substrates and most of the sporangia had 32 spores.

Key words: apogamy, sexual dimorphism, sporophytes, gametangia, fern.

INTRODUCCIÓN

Los helechos son plantas que presentan en su gran mayoría raíces, tallos, hojas y ciclo de vida diplofásico, con dos generaciones libres e independientes, la esporofítica diploide y la gametofítica haploide que requiere del agua para su reproducción (Ballesteros-Montiel, Arreguín-Sánchez, Fernández-Nava, & Quiroz-García, 2019, pág. 2). Los estudios de ciclos de vida y su desarrollo morfogénico permiten obtener datos para el manejo de los helechos relacionados con el cultivo comercial, preservación de los taxones, además de aportar referencias de interés taxonómico y ecológico debido a que las esporas al ser liberadas de los esporangios se dispersan a diferentes sitios, lo que hace factible que cuando lleguen a lugares que cumplan con condiciones ambientales específicas de luz, humedad, temperatura y tipo de sustrato, pueda establecerse el esporófito y esta es una de las formas de ir colonizando nuevas regiones (Salazar-Aguilar, Arreguín-Sánchez, & Tejero-Díez, 2015, pág. 22).

Las Aspleniaceae es una de las familias más ricas dentro de los helechos leptosporangiados con aproximadamente 700 especies donde se han incluido a géneros como *Asplenium* L., *Schaffneria* Fée ex T. Moore y *Phyllitis* Hill (Moran, 1995, pág. 290). También se han reconocido a otros géneros como *Asplenium*, *Loxoscaphe* T. Moore, *Holodictyum* Maxon y *Schaffneria* Fée ex T. Moore (Mickel & Smith, 2004, pág. 6). En trabajos más recientes se reconocen dos géneros: *Asplenium* e *Hymenasplenium* Hayata (Christenhusz, X. Chun, & Schneider, 2011, pág. 15; Giudice, Luna, & Ganem, 2013, pág.; PGI, 2016, pág. 582; Xu, y otros, 2020, pág. 22).

Para el género *Asplenium* se tienen diferentes tratamientos taxonómicos, por ejemplo, se ha segregado al género en secciones como *Asplenidictyum*, *Ceterachopsis*, *Hymenasplenium* y *Thamnopteris* (Tryon & Tryon, 1982, pág. 630). En otras investigaciones se han reconocido agrupaciones de especies como el grupo de *Asplenium salicifolium* L. (Maxon, 1908); grupo de *Asplenium trichomanes* L. (Maxon, 1913) y grupo de *Asplenium fragile* C. Presl (Weatherby, 1931) y en este último se analizó el complejo de poliploides e híbridos que se presentan en este conjunto de especies.

Se han realizado estudios de biología molecular como los de Murakami & Schaal, (1994) y Murakami (1995), en ambas investigaciones se estudió la filogenia de la sección *Hymenasplenium*. En el estudio de Murakami, Nogami, Watanabe & Iwatsuki, (1999) se aborda la filogenia de Aspleniaceae. Gastony & Johnson (2001) proponen la filogenia de *Loxoscaphe* y Schneider et al., (2004) proponen la filogenia de las asplenoides basada en la secuencia del cloroplasto rbcL y trnL-Fspacer y sus implicaciones para la biogeografía. A través de estudios morfológicos y moleculares actualmente se considera que la familia Aspleniaceae incluye dos géneros: *Asplenium* e *Hymenasplenium* (Christenhusz, Chun y Schneider, 2011; Regalado & Prada, 2011; Giudice, Luna y Ganem 2013 y PPGI 2016).

La circunscripción del género *Asplenium* incluye a plantas terrestres, rupícolas o epífitas; rizoma rastrero, ascendente o erecto con escamas presentes dispuestas desde la base del peciolo y que se extienden a toda la lámina, a veces pequeñas escamas filiformes, generalmente clatradas, monomorfas o diplomorfas, así como tricomas que pueden o no ser glandulares; peciolos cilíndricos o alados, brillantes u opacos con dos haces vasculares en forma de “C” uniéndose distalmente en forma de “X”; lámina simple o dividida, equiláteras o no, coriáceas a membranosas; raquis y costas a veces alados, escamosos, glabros o pilosos, a veces con yemas prolíferas en las pinnas terminales, venas libres o bifurcadas, con o sin hidátodos evidentes, márgenes enteros o profundamente serrados; soros superficiales o lineares, indusio entero, subentero o eroso, raramente ciliado o glanduloso, esporangios globosos sin parafisos; esporas bilaterales con perisporio reticulado, crestado, a veces equinado o liso. Algunas especies del género se les confunde con *Diplazium* Sw. (Athyriaceae), la diferencia entre ambas entidades taxonómicas es que *Asplenium* presenta un soro lineal a lo largo de las venas, mientras que *Diplazium* tiene soros en pares que se unen dorso con dorso (Moran, 1995, p. 290-291). En

México se encuentran unos 86 taxones y es un género que con frecuencia forma híbridos en zonas tropicales y templadas (Mickel y Smith, 2004, p. 73).

Los esporófitos de *Asplenium blepharophorum* (Fig. 1) de los cuales se tomaron las esporas presenta las siguientes características: planta terrestre a veces epífita con rizoma erecto de 10 a 15 mm de diámetro, cubierto por escamas de 10 a 14 mm de largo por 1.5 a 3 mm de ancho, lanceoladas, de inserción basal, densas con el margen entero a ligeramente dentado, base cordada, ápice filiforme; frondes uniformes de 30 a 60 cm de largo, peciolo 1/3 a 1/6 más corto que la longitud de la lámina, cubierto por escamas de 5 a 11 mm de largo por 0.1 a 0.3 mm de ancho, linear a linear-lanceoladas, de inserción basal, densas margen irregularmente fimbriado, base cordada, ápice filiforme, castaño claras, raquis también escamoso, ligeramente alado, escamas parecidas a las del peciolo, lamina de contorno ovado- deltoideo a ovado-lanceoladas de 25 a 35 cm de largo bipinnada a bipinnada-pinnatífida, ápice pinnatífido con o sin yema prolifera subterminal, pinnas de 15 a 30 pares, de 5 a 15 cm de largo por 0.5 a 2 cm de ancho, de contorno lanceolar, peciólulo de 1 mm de largo, segmentos ovados de 0.7 a 1.2 cm de largo por 0.4 a 0.8 mm de ancho con base decurrente y margen lobado, glabros en el haz, levemente escamoso el envés, venación libre; soros 2 a 3 por segmento, alargados ubicados en la porción media de las nervaduras secundarias y cubiertos por un indusio alargado o bien curvado adquiriendo la forma semilunar; esporas monoletes, vista proximal de 48 a 76 μm de largo por 41 a 53 μm de ancho, vista lateral de 49 a 66 μm de largo por 37 a 47 μm de profundidad, sexina equinada, perina de 4 a 7 μm formando una red con proyecciones equinadas (Arreguín-Sánchez, Fernández-Nava, & Quiroz-García, 2004, págs. 188-190).



Fig. 1. Ejemplar herborizado de *Asplenium blepharophorum*

Al no encontrar datos del desarrollo morfogénico del taxón en estudio, se incluyen referencias de otras especies que corresponden a diferentes secciones y grupos taxonómicos del género *Asplenium* como los de Raghavan (1965, 1969) y Raghavan & Tung (1967) que tratan diversos aspectos del desarrollo en gametófitos de *Asplenium nidus* (L.) J. Sm. Morlang (1967), estudió la hibridación y poliploidía en gametófitos de *Asplenium platyneuron* (L.) Britton, Sterns & Poggenb., *A. rhizophyllum* L. y *A. montanum* Willd. Herrero et al. (1993) describen gametófitos en cuatro subespecies de *Asplenium trichomanes* L. Mucciflora & Gori (1995) observaron prótalos de *Asplenium trichomanes* L. var. *trichomanes*. Prada et al. (1995) investigaron los gametófitos del complejo *Asplenium adiantum-nigrum*. Aragón y Pangua (2004) observaron la germinación de las esporas de *A. adiantum-nigrum* L. var. *adiantum-nigrum*, *A. adiantum-nigrum* L. var. *silesiacum* (Milde) Viane & Reichst., *A. septentrionale* (L.) Hoffm. subsp. *septentrionale* y *A. ruta-muraria* L. subsp. *ruta-muraria*. Lavallo & Prada (2007) estudiaron el esporófito y gametófito de *Asplenium dareoides* Desv. Sánchez-Montiel, Arreguín-Sánchez y Fernández-Nava (2008) describen el desarrollo de los gametófitos y esporófitos de *Asplenium monanthes* L. Testo y Watkins (2013) indagaron el desarrollo de los gametófitos del complejo *Asplenium scolopendrium* L. y Estrelles & Ibars, (2017) describen la germinación y gametófitos de *Asplenium majoricum* Litard.

Se incluyen antecedentes de estudios relacionados con nuevos híbridos y algunas formas de detectarlos a través de la morfología de los ejemplares, debido a que *Asplenium* es un género que con frecuencia se presenta este evento. Gastony (1970) describe el híbrido *Asplenium pinnatifidum* X *trichomanes* y Pangua, Prada, Pajarón, y Salvo (1992) describen un nuevo híbrido para España relacionado con *Asplenium majoricum*.

Los trabajos relacionados con estudios de cariotipo se citan como una forma de detectar hibridaciones y poliploidías, así como, una manera para dilucidar las relaciones entre grupos de especies como los de Morzeti (1966) que aclaran la posición de taxones del complejo *Asplenium heterochroum-resiliens*. Dong (2011) se apoyó en estudios citológicos para separar los taxones de *Asplenium* sect. *Thamnopteris*. Hunt, Ansell, Russell, Schneider, & Vogel (2011) establecen que *Asplenium majoricum* es un alotetraploide. De la Fuente, Gabriel y Galán, Molino, Sessa y Quintanilla (2020) describen la expresión del carácter, barreras reproductivas y origen del híbrido *Asplenium* X *aran-tohanum*.

El propósito de este trabajo es describir y comparar el desarrollo morfogénico de los gametófitos y esporófitos jóvenes de *Asplenium blepharophorum* Bertol. en condiciones de cultivo en tres sustratos naturales: maquiue, tierra de hoja y musgo, recomendando el mejor de ellos para su reproducción.

MÉTODOS

Trabajo de campo

El ejemplar fue recolectado en San Antonio, a 1 km al norte de Amecameca, Municipio de Amecameca, Estado de México, en un bosque mesófilo de montaña, por M. L. Arreguín a una altitud de 2500 msnm. Además, se tomaron muestras de frondes con soros y esporas maduras de tres organismos (Fig. 2), que se depositaron en sobres de papel blanco. El ejemplar que se recolectó se llevó al laboratorio para la herborización, identificación, y resguardo en el herbario ENCB.



Fig. 2. Detalle de una pinna mostrando los soros donde se encuentran las esporas maduras que se utilizaron para la siembra.

Trabajo de laboratorio

Los sobres que contienen las muestras de los frondes con las esporas maduras se mantuvieron en la obscuridad por quince días, en tanto el material recolectado se identificó con bibliografía especializada como la de Moran (1995); Arreguín-Sánchez, Fernández-Nava y Quiroz-García, (2004); Mickel y Smith (2004) y Vázquez (2006). Así también se contaron el número de esporas de diez esporangios. El ejemplar quedó depositado en el Herbario antes mencionado.

Posteriormente se realizó la siembra de las esporas con la técnica de Montoya Casimiro, Álvarez Varela, Pérez Hernández, & Arreguín Sanchez (2000). Las esporas se sembraron en quince frascos de vidrio de 125 ml y se utilizaron cinco frascos por sustrato. A cada frasco se les agregó 20 g de piedra de río, otro tanto de barro molido, encima se colocó un círculo de tela de mosquitero y se adicionó 20 g de tierra de hoja, otro tanto a cinco de maquique y los últimos cinco frascos se adicionó 20 g de musgo (*Sphagnum*), todo lo anterior previamente esterilizado en autoclave. Todos los frascos se taparon con bolsas de plástico y se amarraron con alambre de cobre y se etiquetaron con los datos del género y especie, sustrato y fecha. El maquique es el nombre tradicional del tallo de los helechos arborescentes, este material se tiene molido desde más de 30 años en el laboratorio debido a que una vez que se termina un estudio todos los materiales son reutilizados (frascos, piedra de río, barro molido, mosquitero, sustratos, alambre de cobre).

Continuando la técnica de Montoya-Casimiro, Álvarez-Varela, Pérez-Hernández y Arreguín-Sánchez (2000), en total por cada sustrato se sembraron 0.03 g de material que resultó de raspar los soros, mismos que se mezclaron en 0.5 g de arena de río esterilizada y este material se repartió por partes iguales en cada uno de los cinco frascos de cada sustrato. Las condiciones en que se mantuvieron los quince frascos germinadores fueron con luz natural en el invernadero a una temperatura de 20 a 25 °C. Cada frasco contenía 2 ml del agua de la que se esterilizó cada sustrato. Se tomaron muestras de un frasco por sustrato cada 15 días en condiciones de asepsia, uno se quedó como testigo y los otros germinadores se abrían una vez que se hubiera agotado el material biológico del anterior, la cantidad de muestra que se tomaba cada dos semanas era la que se alcanzaba al obtener con unas pinzas de punta fina. El material se fijó en formaldehído Mallinckrodt en solución al 2% por 48 horas y posteriormente se teñía con safranina acuosa Hycel de México. Con lo anterior se realizaron preparaciones permanentes que se montaron con

una mezcla de miel de maíz karo, agua 1:1 y trazas de fenol de la marca Meyer. Cada preparación se etiquetó con la fecha en que se fijó el material de cada sustrato. La serie de preparaciones se observaron, interpretaron, se tomaron medidas y fotomicrografías tanto al microscopio óptico binocular Zeiss como en el microscopio estereoscópico Nikon.

Cada una de las etapas correspondientes del desarrollo morfogénico como germinación, fase filamentosa, laminar y esporofítica fueron observadas y descritas de acuerdo a las características de cada una de ellas. En la germinación se menciona el tipo de la misma, en la fase filamentosa: largo de los filamentos, número de células, rizoides y tipo de desarrollo protálico como las concibieron Nayar y Kaur (1969, 1971); fase laminar: gametófito joven, largo, ancho, número de rizoides, gametófito adulto, largo, ancho, forma, sexualidad, número de rizoides; gametangios anteridios y arquegonios: tamaño, forma, número de anterozoides, número de células del canal del cuello; esporófitos: tricomas, forma de los primofrondes, venación. Estas medidas se tomaron cada 15 días para determinar el rango de desarrollo con el propósito de establecer cuál de los tres soportes tenía las mejores características y condiciones para el desarrollo de la fase sexual de esta planta.

Las medidas que se mencionan en las descripciones son los promedios de diez esporas y diez estructuras de cada fase y se incluyen tres cifras, la primera es la menor de las mediciones realizadas, entre paréntesis la media y la última es la mayor del total de mediciones que se realizaron en cada etapa del desarrollo morfogénico de los gametófitos y esporófitos. Las fotomicrografías se tomaron con una cámara de 7 megapíxeles Canon.

RESULTADOS

Esporas

Al contar el número de esporas de diez esporangios, se apreció que la mayoría tenía 32 y en dos esporangios había 26; no se observaron esporas colapsadas o con morfología diferente. Las esporas (Figs. 3) fueron monoletes, de color marrón, anchamente elípticas de 52.8 (63.3) 78 μm de eje polar por 42.2 (43.2) 46.4 μm de eje ecuatorial, nexina y sexina de 2.1 μm de grosor, sexina equinada, perina de 4.2 a 8.4 μm formando crestas equinadas (Figs. 3A), vista superficial granular (Fig. 3 B).

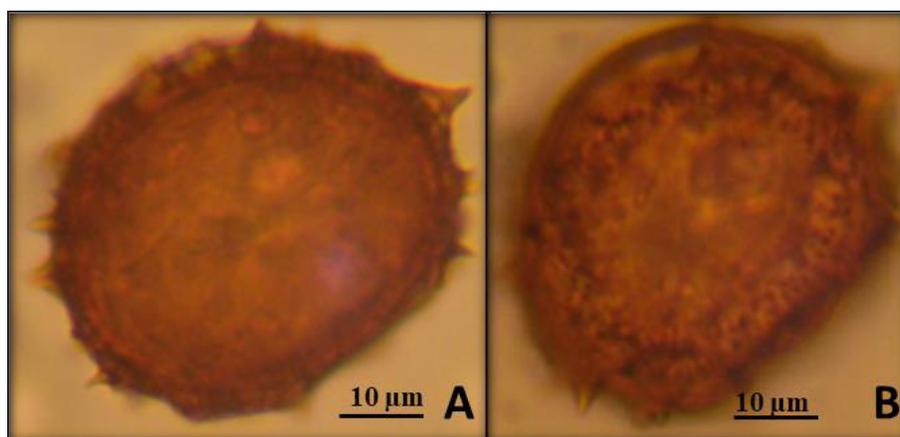


Fig. 3. Morfología de las esporas. 3A. Espora mostrando capas de la exina y proyecciones equinadas de la perina. 3B. Vista superficial granular.

Germinación

La germinación fue tipo *Vittaria* (Nayar y Kaur, 1971) y se presentó en los tres sustratos desde los 29 días, el rizoide es mucho más pequeño, unicelular de 19.21 μm de largo y el filamento protálico midió entre 68(70)80 μm con 7 a 12 células (Fig. 4).

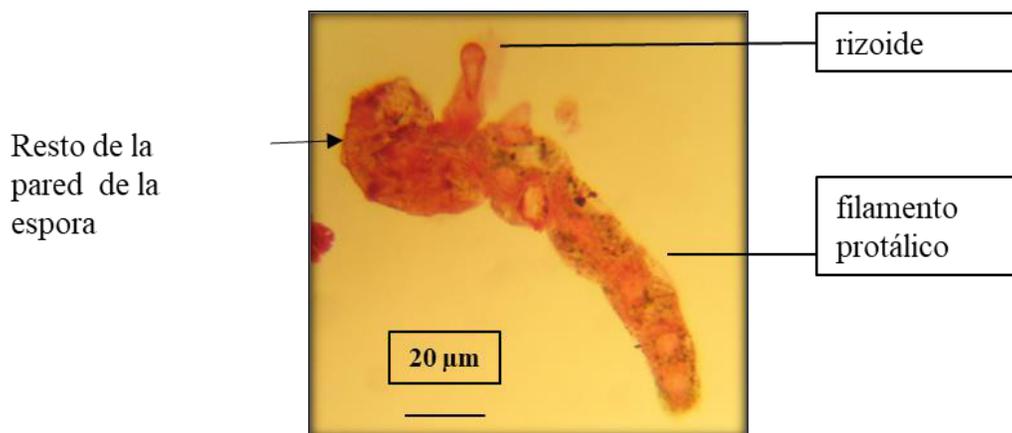


Fig. 4. Germinación tipo *Vittaria*, 29 días.

Gametófitos jóvenes

Se desarrollaron entre los 46 a los 81 días en los tres sustratos (Fig. 5) fue posible apreciar diferentes estadios de desarrollo (Fig. 5 A), donde se incluyen el filamento con hasta 21 células clorofílicas (5a), la formación de prótalos más grandes de entre 0.9(1)1.1 mm de largo por 1.8(2.15)2.7 mm de ancho que presentan varios tricomas en el margen de los mismos (5c izquierda) y el inicio del desarrollo protálico tipo *Aspidium* que se caracteriza por presentar desde la fase de filamento y los primeros estadios del prótalo, la presencia de un tricoma apical y rizoides (Fig. 5B) y la formación de un segundo pelo (Fig. 5 A) que delimita la diferenciación de la zona meristemática (5c derecha) y posteriormente la zona de la escotadura .

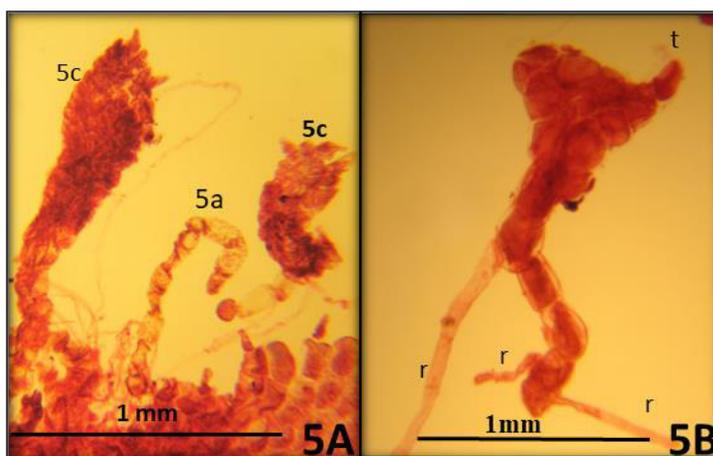


Fig. 5. Primeras etapas del desarrollo de los gametófitos. 5A. Prótalos jóvenes que se observaron desde los 46 a 81 días, 5a filamento clorofílico, 5c prótalos en etapas más desarrolladas con varios tricomas marginales. 5B.- Desarrollo protálico tipo *Aspidium* mostrando el tricoma inicial (t) y tres rizoides (r).

Gametófitos cordados

El desarrollo de esta etapa en maquique y tierra de hoja se apreció de los 56 a los 456 días y en musgo de 81 a los 456 días (Figs. 6), esta amplitud de tiempo se debe al desarrollo anacrónico de los prótalos. Todos presentaron forma cordada con la diferencia que unos tenían cauda (Fig. 6 A) y otros carecían de ella (Fig. 6B). La cauda varió entre 6 a 14 células. Los rizoides se encontraron de 10 a 30 en la superficie ventral en ambos tipos de prótalos. La forma de los tricomas marginales es triangular y en algunos se observaron una pequeña cabezuela (Fig. 6C).

Sustratos	Tamaño prótalos con cauda	Tamaños Prótalos sin cauda	Tamaño de los tricomas marginales
Maquique	4.2(11.5)27 mm de largo y 5.9(17.3)33.1 mm de ancho	3.7(11.7)22.5 mm de largo y 3.1(10.2)19.5 mm de ancho	4.25(5.23)6.8 μ m de largo
Musgo	3.4(12.5)27.2 mm de largo y 5.5(18.9)34.2 mm de ancho	4.6(16.7)28.9 mm de largo y 4.5(20.3) 31.3 de ancho	3.4(5.7)11.9 μ m de largo
Tierra de hoja	4.4(10.7)18.7 mm de largo y 7.1(15)21.5 mm de ancho	4.8(12.8)28 mm de largo y 3.4(9.2)25.8mm	3.4(5.7)11.9 μ m de largo

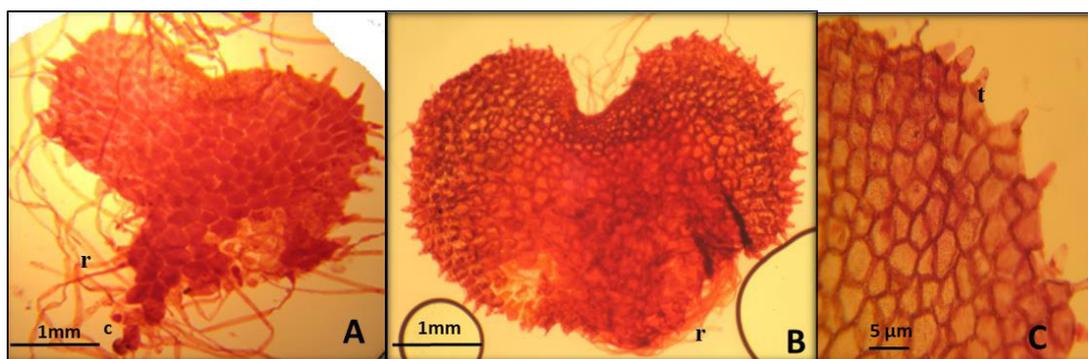


Fig. 6. Desarrollo de los gametófitos cordados en los tres sustratos. 6A Gametófito cordado con cauda (c) y rizoides (r). 6B Gametófito cordado sin cauda y menor cantidad de rizoides (r). C.- Detalle de los tricomas del margen de los gametófitos (t).

Gametangios

Se observaron desde los 154 a los 428 días, los gametófitos fueron protándricos unisexuados masculinos y femeninos y en maquique solo unisexuales femeninos, todos los prótalos presentaron tricomas marginales. Los gametangios se presentaron en los tres sustratos, aunque en ninguno de ellos maduraron. Los anteridios no formaron célula del pie, ni célula opercular, así como tampoco células parietales; los arquegonios no desarrollaron células del cuello, ni del canal del cuello, tampoco célula ventral y ovocélula, ambos gametangios se quedaron en las primeras etapas de desarrollo.

Anteridios

En maquique no se observaron, pero sí estuvieron presentes en musgo y tierra de hoja (Fig. 7). En musgo los anteridios se apreciaron a partir de los 154 hasta los 428 días, se desarrollaron trece días antes que los arquegonios en gametófitos que mostraban cauda con rizoides, estos gametangios se encontraron en la parte basal y central del prótalo y midieron 25(30)35 μ m de diámetro y son de forma circular. En tierra de hoja se observaron solo el día 111 después de la siembra y se desarrollaron 111 días antes que los arquegonios. Los prótalos mostraron una cauda y rizoides en la parte ventral, los anteridios fueron circulares de 41.6 (46) 50 μ m de diámetro y se encontraban en la base del prótalo (7 A y 7B). En algunos anteridios se apreció la formación de anterozoides inmaduros.

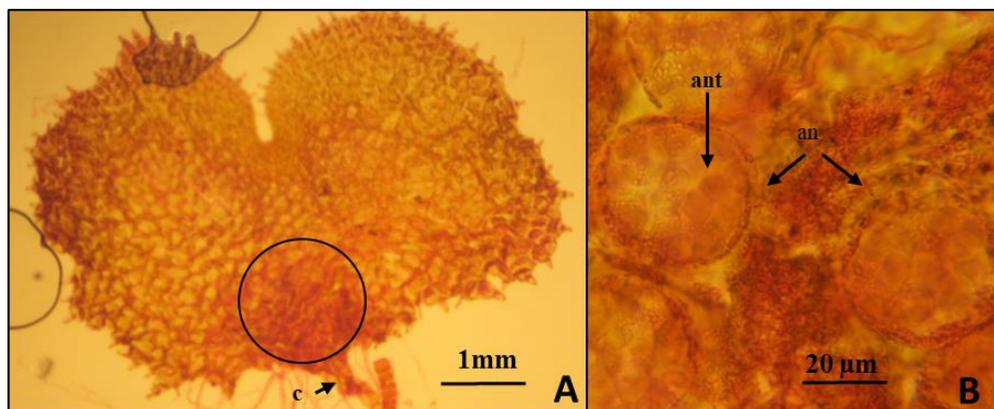


Fig. 7. Gametófitos unisexuados masculinos y detalle de los anteridios. 7A. Gametófito cordado con cauda (c) mostrando con el círculo el sitio donde se desarrollaron los anteridios. 7B. Detalle de anteridios (an) mostrando algunos anterozoides inmaduros (ant) en el interior.

Arquegonios

Se desarrollaron en todos los sustratos y después que los anteridios en gametófitos unisexuales. La forma de los prótalos fue cordada a cordada-lobulada, formaron un cojinete con más de 50 rizoides en la parte ventral.

Los arquegonios se apreciaron en los tres sustratos (Fig. 8). En maqui que los arquegonios se desarrollaron de los 334 a los 428 días (Fig. 8 A) en prótalos cordados a cordados-lobulados sobre un cojinete recorriendo toda la parte media. En musgo se apreciaron de los 167 a los 428 días (Fig. 8B) localizados en la parte central de los gametófitos cordados-lobulados sobre un cojinete. En tierra de hoja de los 222 a los 308 debajo de la escotadura sobre un cojinete formando una media luna (8C). En todos los prótalos se observaron gran cantidad de rizoides, más de 50 y arquegonios inmaduros (Fig. 8D).

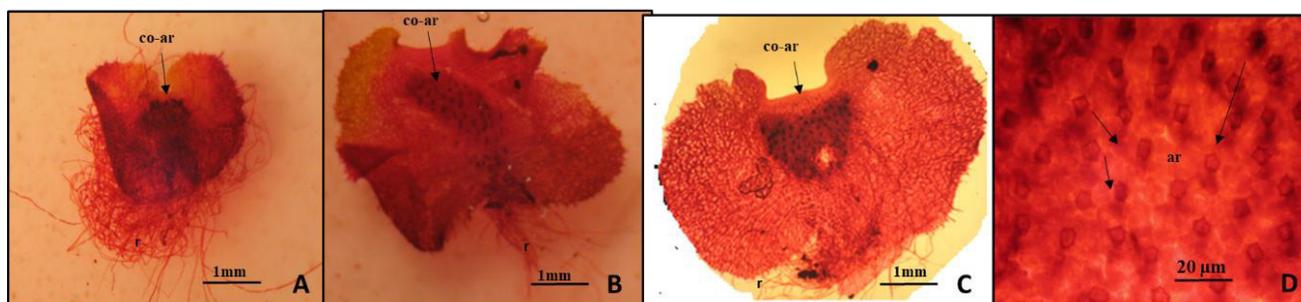


Fig. 8. Desarrollo de los arquegonios en los tres sustratos a los 308 días. 8A. Gametófito cordado en maqui que con arquegonios sobre un cojinete recorriendo toda la parte media. 8B. Gametófito cordado-lobulado en musgo, en la parte central se encuentran los arquegonios sobre un cojinete. Gametófito cordado en tierra de hoja con los arquegonios sobre un cojinete debajo de la escotadura formando una media luna. Cojinete y arquegonios (co-ar). Rizoides (r).

Formación de la yema apogámica

Se presentó en los tres sustratos (Fig. 9). En maqui que a partir del día 351 hasta los 456 (Fig. 9A), en musgo partir de los 351 días hasta los 456 días (Fig. 9B) y en tierra de hoja inició el día 202 hasta los 308 (Figs. 9C).

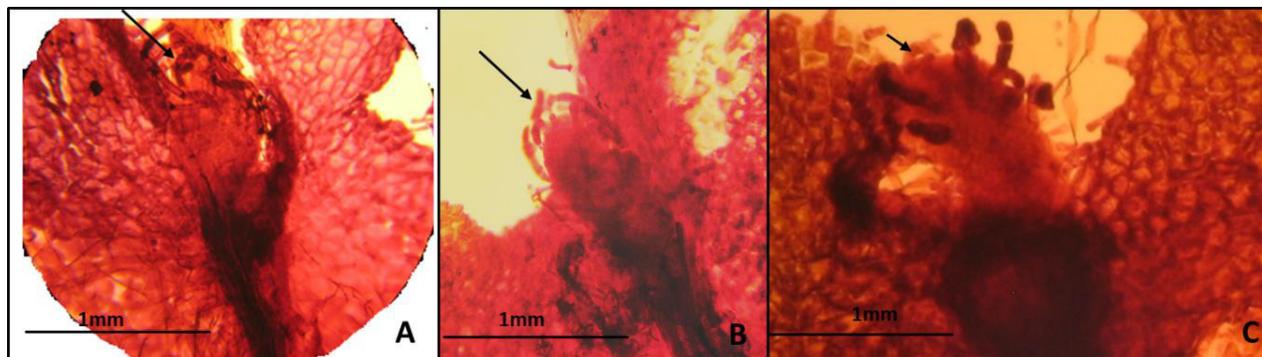


Fig. 9. Desarrollo de la yema apogámica (flecha). 9A.- Maquique a los 473 días. 9B.- Musgo a los 351 días. 9C.- Tierra de hoja a los 202 días.

Esporófito

Se presentó en los tres sustratos (Fig. 10); en maquique se apreció a partir de los 351 a los 473 días constituido por un peciolo de 4.5 mm de largo, una lámina entera oblanceolada con venación dicotómica y tricomas de 1.7 mm de largo, esparcidos que cubren el peciolo y margen del primofronde (Fig. 10 A). En musgo se observaron a partir de los 456 a los 473 días, los esporófitos presentaron un peciolo de hasta 4.9 mm de largo, con dos tipos de láminas, una entera oblanceolada y otras flabeladas con venación dicotómica y pequeños tricomas dispersos de 1 mm de largo que cubren el peciolo y margen de la lámina (Fig. 10B). En tierra de hoja se observó a los 473 días con un peciolo de hasta 4.5 mm de largo, con láminas enteras a oblanceoladas y otras de forma flabelada con venación dicotómica y tricomas dispersos de 1.7 mm de largo que cubren peciolo y primofrondes (Fig. 10 C). La observación del experimento terminó a los 473 días, fecha en que se comenzaron a observar esporófitos en el último sustrato en que se desarrollaron y que fue el de tierra de hoja.

En los esporófitos se encontró el mismo desarrollo morfogénico en los tres sustratos, en los esporófitos más jóvenes como los de la Fig. 15 A, a los 351 días mostraron solo láminas foliares enteras, en días posteriores esos frondes comienzan a dividirse y forman una lámina flabelada como se muestra en las Figs. 15 B y 15 C a los 356 y 473 días respectivamente y así continúa la división de la lámina hasta la formación esporófitos con láminas más divididas y más grandes.

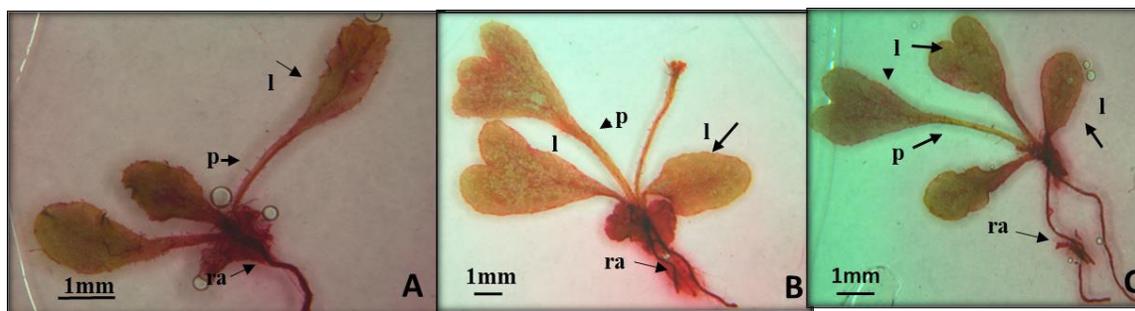


Fig. 10. Esporófitos jóvenes. 10A.- Maquique 351 días. 10B.- Musgo 356 días. 10C.- Tierra de hoja 473 días. Lámina foliar (l). Peciolo (p). Raíz (ra).

El cuadro 1 muestra la comparación del desarrollo morfológico de *Asplenium blepharophorum* en los tres sustratos, lo cual permitirá analizar los tiempos de desarrollo, las diferencias en el desarrollo morfológico de las fases y así poder definir el mejor sustrato para esta planta. En la figura 11 se sintetiza el desarrollo de los gametófitos y esporófitos de esta especie,

Cuadro 1. Etapas del desarrollo morfológico de *Asplenium blepharophorum* en los tres sustratos.

Fases de desarrollo morfológico	Tipos de germinación, desarrollo protálico y otros datos	Maquique (los números indican días)	Musgo (los números indican días)	Maquique (los números indican días)
Germinación	<i>Vittaria</i>	A partir 29	A partir 29	A partir 29
Gametófito joven	<i>Aspidium</i>	46-81	46-81	46-81
Gametófito cordado		92-456 unisexuados femeninos	81-456 unisexuados femeninos y masculinos	56-456 unisexuados femeninos y masculinos
Anteridios	Protandria, se apreciaron inmaduros	No se observaron	154-428 en la parte basal de gametofitos con cauda	Solo se observaron a los 111 días en la parte basal de gametofitos con cauda
Arquegonios	Se apreciaron inmaduros	334-428 Gametófitos con cojinete ventral y abundantes rizomas	167-428 Gametófitos con cojinete ventral y abundantes rizomas	222-308 Gametófitos con cojinete ventral y abundantes rizomas
Yema apogámica		351-456	351-456	202-308
Esporófito	Apogámico	351-473	456-473	473 fin de muestreo

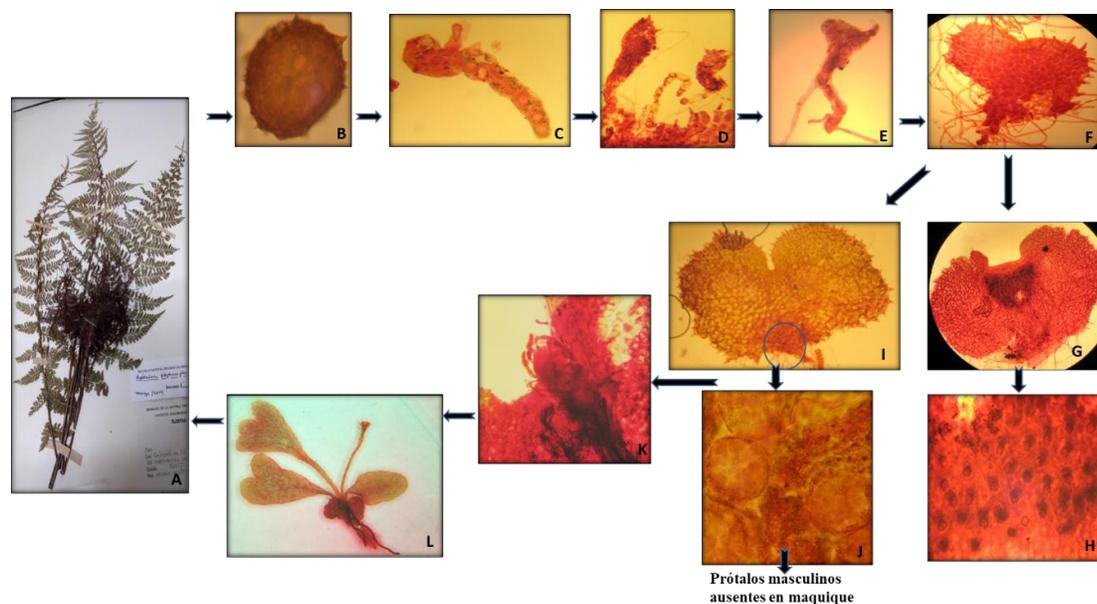


Fig. 11. Síntesis del desarrollo morfológico de *Asplenium blepharophorum* Bertol. A.- Ejemplar herborizado de donde se obtuvieron las esporas. B.- Esporas (40x). C.- Germinación tipo *Vittaria* (10x). D.- Diferentes estadios de desarrollo de los gametófitos (10x). E.- Desarrollo protálico tipo *Aspidium* (10x). F.- Protálico cordado mostrando tricomas marginales y rizoides (10x). G.- Gametófito cordado unisexuado femenino con arquegonios debajo de la escotadura y cojinete. (10x). H.- Detalle de arquegonios inmaduros (40x). I.- Protálico cordado unisexuado masculino con cauda, con el círculo se muestra el sitio donde se encuentran los anteridios (10x). J.- Detalle de los anteridios (40x). K.- Detalle de la yema apogámica (10x). L.- Esporófito joven (10x).

DISCUSIÓN

Al comparar los resultados del cuadro 1 se aprecia que los tres sustratos presentaron las mismas etapas del desarrollo morfogénico de *Asplenium blepharophorum*, excepto en el sustrato de maquique que no se formaron anteridios. En el musgo estos gametangios se observaron durante 274 días, entre los 154 hasta los 428 después de la siembra; en tierra de hoja sólo se apreciaron el día 111 después de la siembra. Durante las observaciones del desarrollo morfogénico de esta especie, las condiciones de luz, humedad y temperatura se mantuvieron controladas, así que las diferencias que se encontraron en este trabajo se deben a las particulares de los sustratos. Los tres sustratos que se utilizaron son elementos de los bosques mesófilos de montaña, aunque en particular, en el sitio de recolección del ejemplar no se presentan helechos arborescentes; la especie puede encontrarse con hábitos terrestres y epífita. La factibilidad de reproducir esta especie se encuentra en los tres sustratos, sin embargo, en maquique los esporófitos se empezaron a desarrollar a los 351 días, esto es, 105 días antes que el musgo y 122 antes que en tierra de hoja.

En maquique, musgo y tierra de hoja se obtuvieron esporófitos apogámicos y el número de esporas por esporangio fue en la mayoría de 32 esporas y solo en dos se contaron 26, lo cual nos lleva a considerar que es una entidad híbrida o poliploide y que por lo tanto, independientemente del sustrato, no hubo reproducción sexual al no madurar los gametangios, situaciones que se han observado en otras especies del complejo *Asplenium auritum* cubano-*monodon* (Regalado, Prada, & Gabriel y Galán, 2010, pág. 137) y en otros géneros como *Pteris* (Huang, Chou, Hsieh, Wang, & Chiou, 2006, págs. 262-263; Huang, Hsu, Hsieh, Chou, & Chiou, 2011, pág. 79).

En el caso particular de los sustratos, Watson & Vázquez (1981, pág. 7) indican que el microhábitat es trascendental en la historia de vida de las especies y las propiedades del sustrato son importantes. Según estos autores el desarrollo apropiado del esporófito requiere de la asociación con musgos, ya que este evita la desecación y a la raíz del helecho joven le otorga agentes antimicóticos. Bryan & O'Kelly (1967, pág. 27) mencionan que *Woodsia obtusata* requiere de ciertas cantidades de calcio para que se desarrolle el esporófito y debido a eso se asocia a diferentes especies de musgo. En *Woodsia mollis* (Vivero-Barón, Arreguín-Sánchez, Quiroz-García, Fernández-Nava, & Acosta-Castellanos, 2012, pág. 82) encuentran que el desarrollo del esporófito sólo ocurrió en el musgo debido posiblemente a la relación con el calcio que requieren las especies de woodsias hasta ahora estudiadas. Lo anterior, nos lleva a sustentar que los sustratos son de vital importancia para el desarrollo morfogénico de los helechos y que las diferencias encontradas en *A. blepharophorum* se deben a los componentes de cada uno de ellos.

Al analizar el papel de cada uno de los sustratos en el desarrollo morfogénico de *Asplenium blepharophorum*, el musgo y la tierra de hoja proporcionan a los gametófitos elementos nutritivos que pueden ser aprovechados para la germinación de las esporas y las siguientes fases de desarrollo. El maquique es un sustrato usado tradicionalmente para el cultivo de orquídeas, bromelias, helechos y otras plantas epífitas compuesto por raíces muertas que conservan por mucho tiempo la humedad, tiene buen drenaje y se descomponen lentamente (Palacios Ríos, sin fecha http://naturalia.org.mx/publicaciones/helechos_arborescentes-compressed.pdf) y por las observaciones que hemos realizado en los cultivos de helechos, este material sirve para la fijación de los gametófitos desde la fase filamentosa hasta la adulta y esto también nos llevaría a dilucidar que en las primeras fases de desarrollo de los helechos es muy importante un sitio de fijación para los gametófitos.

Wagner y Evers (1963), Farrar (1967), McAlpin y Farrar (1978) estudiaron en diferentes regiones y especies, la relación de la dispersión de las esporas y la distribución geográfica de los esporófitos e indican, que los prótalos alcanzan mayor área de dispersión que los esporófitos. A través de estudios ecológicos y fisiológicos encuentran que la existencia final de

los esporófitos depende de la fecundación en la generación de gametófitos y esto es lo que marca los patrones de distribución que, además, tienen que ver con presiones selectivas como luz, temperatura y sustratos que actúan sobre las generaciones gametofítica y esporofítica y que tienen un impacto único en la ecología y fisiología de una especie. Lo anterior sostiene la importancia de los sustratos para el desarrollo de los esporófitos y explicaría el desarrollo morfogénico de gametófitos y esporófitos en los tres sustratos de *A. blepharophorum* que son propios de los bosques mesófilos de montaña, de los bosques de pinos y pinos-encino donde crece esta especie.

Al comparar los resultados de esta investigación con la información bibliográfica recabada, se apreció que las descripciones de las diferentes investigaciones del desarrollo morfogénico de los gametófitos y esporófitos son heterogéneas, razón por la cual los datos que se aportan son las partes que incluyen los diferentes trabajos.

Con relación a las esporas del género *Asplenium* (Tryon & Lugardon, 1991, págs. 541-542), las han descrito en lo general como monoletes, de tamaños y formas variables, con exosporio cavado, generalmente con columelas que sostienen al *tectum* en la parte interna, superficie con pliegues generalmente prominentes, formando largas alas (o sin ellas), crestadas, equinuladas o reticuladas o con las areolas entre pliegues lisos o generalmente equinadas, fenestradas o reticuladas. Las especies de *Asplenium dareoides* Desv. y *A. monanthes* L. descritas por (Lavalle y Prada, 2007, p. 17; Sánchez-Montiel, Arreguín-Sánchez. Fernández-Nava, 2008, p. 35) respectivamente, cumplen con las descripciones generales de las esporas del género al igual que las de *Asplenium blepharophorum*.

Al comparar los datos aportados por otros autores que estudiaron diferentes especies del género *Asplenium*, coinciden que la germinación de las esporas es tipo *Vittaria* según Herrero, Prada, Pangua, Escudero, Rubio y Pajarón (1993, p. 67) para cuatro subespecies de *Asplenium trichomanes* y Sánchez-Montiel, Arreguín-Sánchez y Fernández-Nava, (2008, p. 29) para *Asplenium monanthes* también la mencionan. *Asplenium blepharophorum* también presenta este tipo de germinación.

El tiempo de inicio de la germinación varió según la especie, en las cuatro subespecies de *Asplenium trichomanes* L. (Herrero, Prada, Pangua, Escudero, Rubio y Pajarón, 1993, p. 70) fue entre los 5 a los 20 días. Para *Asplenium trichomanes* spp. *trichomanes* (Muccifera y Gori, 1995, p. 266) fue de los 8 a 10 días. En el complejo *Asplenium adiantum-nigrum* (Prada, Pangua, Pajarón Herrero, Escudero y Rubio, 1995, p. 109) se llevó a cabo entre los 10 días hasta los tres años. Para *Asplenium dareoides* (Lavalle y Prada, 2007, p. 18) se obtuvo a los 10 días. En el caso de *Asplenium monanthes* (Sánchez-Montiel, Arreguín-Sánchez. Fernández-Nava, 2008, p. 34) a los 28 días y (Testo y Walkins, 2013, p. 2262) se presentó de los 6 a los 120 días. En *Asplenium blepharophorum* se observó a los 29 días lo cual se encuentra entre los rangos de tiempo de las otras especies.

El desarrollo protálico en *Asplenium blepharophorum* fue el tipo *Aspidium* que se comparte con autores como (Prada, Pangua, Pajarón Herrero, Escudero y Rubio, 1995, p. 107; Lavalle y Prada, 2007, p. 34 y Sánchez-Montiel, Arreguín-Sánchez. Fernández-Nava, 2008, p. 34), en muchos trabajos no se incluye este dato, sin embargo, Herrero, Prada, Pangua, Escudero, Rubio y Pajarón (1993, p. 70), al observar el desarrollo protálico de tres subespecies de *Asplenium trichomanes*, ssp. *trichomanes*, *A. trichomanes* ssp. *quadrialeans* y *A. trichomanes* ssp. *pachyrachis* consideran que es de tipo *Adiantum*, es decir, que los prótalos no presentan tricomas marginales en las primeras etapas de formación de los gametófitos y estos se presentan después de los 30 a los 40 días.

En el complejo *Asplenium auritum-monodon* también mencionan como desarrollo protálico el tipo *Adiantum* (Regalado, Prada y Gabriel y Galán, 2010, p. 137). Así también (Muccifera y Gori, 1995, p. 266-269) estudiaron *Asplenium trichomanes* ssp. *trichomanes* y si bien, no

mencionan el tipo de desarrollo protálico, por las fotomicrografías que incluyen es evidente que se trata del tipo *Adiantum* y muestran gametófitos adultos cuyo margen no presenta tricomas y más bien, el término tricomas corresponden a rizoides que se producen en la parte ventral de los talos. Lo anterior sugiere que el desarrollo protálico en el género *Asplenium* puede ser de tipo *Aspidium* o *Adiantum*. En *Asplenium blepharophorum* es el típico desarrollo *Aspidium* con tricomas en el margen de los prótalos, los rizoides se encuentran en la parte ventral y que al momento de desarrollarse los gametangios adultos son abundantes y en particular en los gametófitos femeninos.

Una vez que los gametófitos presentan la forma cordada comienzan a diferenciarse los gametangios, los anteridios antes que los arquegonios que se presentan por lo menos dos semanas antes que los arquegonios según datos de Herrero, Prada, Pangjia, Escudero (1993) para las cuatro subespecies de *Asplenium trichomanes*; Prada, Pangua, Pajarón, Herrero, Escudero y Rubio (1995) para el complejo *Asplenium adiantum-nigrum*. Lavallo y Prada (2007) para *A. dareoides* y Estrelles e Ibars (2017) para *A. mayoricum*. En *Asplenium blepharophorum* los anteridios se presentan primero y varios días después los arquegonios, concretamente en musgo los anteridios se observaron 13 días antes que los arquegonios, en tierra de hoja a los 111 días antes que los gametangios femeninos y en maqui que no se formaron.

En relación a la diferenciación sexual de los gametófitos se cita que en el complejo de *Asplenium adiantum-nigrum* los gametófitos son unisexuales masculinos, femeninos y bisexuados, los tres tipos se encuentran en un mismo cultivo, además observaron que los gametófitos con anteridios son más pequeños que los femeninos y bisexuados (Prada, Pangua, Pajarón, Herrero, Escudero y Rubio, 1995). En *Asplenium monanthes* se describe la bisexualidad de los prótalos y ambos gametangios alcanzaron la madurez (Sánchez-Montiel, Arreguín-Sánchez y Fernández-Nava, 2008). Lo mismo ocurre con *Asplenium trichomanes* ssp. *trichomanes* donde se mencionan gametófitos bisexuados con arquegonios que constan de cuatro filas de cuatro células y anteridios que consisten en células operculares, anulares y basales, lo cual indica que alcanzaron la madurez (Muccifera y Gori, 1995).

Para *Asplenium doroides* se muestran tanto anteridios como arquegonios, sin embargo, explícitamente no se especifica si se encuentran en prótalos unisexuados o en gametófitos bisexuados (Lavallo y Prada, 2007), lo mismo sucede con *Asplenium majoricum* (Estrelles e Ibars, 2017) y aunque no se menciona este dato, en las fotomicrografías de estos trabajos se aprecia que tantos anteridios como arquegonios alcanzaron la madurez.

En *Asplenium blepharophorum* se encontraron datos diferentes a los anteriores, como gametófitos estrictamente unisexuados femeninos y masculinos que se presentan en un mismo cultivo como ocurre en el complejo *Asplenium adiantum-nigrum* (Prada, Pangua, Pajarón, Herrero, Escudero y Rubio, 1995), pero nuestro estudio difiere en que no se observaron prótalos bisexuados y la diferenciación entre gametófitos no es tanto en el tamaño cuando son masculinos o femeninos, sino más bien en la presencia de cauda en los masculinos y la ausencia de esta en los femeninos. Otra diferencia de *Asplenium blepharophorum* con relación a los demás trabajos es que en el sustrato de maqui que no se formaron anteridios y los prótalos femeninos desarrollaron un cojinete que demarcó la zona de desarrollo de los arquegonios, estructura que no se había mencionado con anterioridad en otras investigaciones.

Schneller (2013, pág. 145) indica que está demostrada la presencia de anteridiógenos que se reconocen como feromonas empleadas por algunas especies de helechos para favorecer la reproducción sexual y que preferentemente se han investigado en medios nutritivos. Este autor señala que hay pocos estudios en relación de lo que sucede en el medio natural; las primeras evidencias de los efectos de los anteridiógeno en estudios de campo resaltan observaciones relacionadas con el patrón de desarrollo y la sexualidad que se estudiaron en los gametófitos de *Asplenium pimpinellifolium* Fée y *Lygodium heterodoxum* Kunze, con estas observaciones se explica las diferentes etapas de la sexualidad de estos helechos. En *Asplenium blepharophorum*

la formación de anteridios y arquegonios en musgo y tierra de hoja y la ausencia de anteridios en el maquique, puede deberse a la acción de los anteridiógenos que están influyendo en los patrones de sexualidad en este sustrato.

En el género *Asplenium*, (Regalado, Prada, Gabriel y Galán, 2010) encontraron que en el complejo *Asplenium auritum* cubano-*monodon* ocurre la formación de esporófitos sexuales y apogámicos. En *A. auritum* que es un helecho sexual contiene 64 esporas por esporangio, mientras que *A. monodon* que es una especie apógamica produce 32 esporas. También estos autores observaron caracteres morfológicos apogámicos en *A. monodon* y en *A. × lellingianum* con esporas principalmente abortadas y donde los arquegonios se produjeron regularmente en ambas superficies dorsal y ventral del prótalo, pero parecían ser algo gruesos y con cuellos inusualmente largos, los anteridios fueron escasos y los anterozoides parecían no ser funcionales y se produjeron esporófitos apogámico. Los autores no mencionan la presencia de yema apogámica en el desarrollo morfogénico, que pudiera ser indicio de hibridación o poliploidía. De acuerdo a estos autores la presencia de 32 esporas en *Asplenium blepharophorum* indicaría el origen apogámico de esta especie, lo cual se corroboró en esta investigación.

Sheffield, 2013, menciona que la apogamia se presenta en los ciclos de vida de los helechos apogámicos obligados y se caracteriza por dos eventos consecutivos: el número de cromosomas que normalmente se reducen en la meiosis, aquí no sucede y esto significa, que las esporas tienen el mismo número de cromosomas que la planta madre y la formación del esporófito se realiza sin la unión de los gametos y se desarrolla directamente del tejido gametófito. La apogamia facultativa puede suceder debido a condiciones externas o del cultivo como exceso o carencia de agua para la planta, exceso de nutrientes entre otros.

Con base en lo anterior, *Asplenium blepharophorus* es una especie apogámica donde posiblemente no tuvo lugar la reducción del número de cromosomas en la meiosis, situación que sólo se comprobaría con el conteo cromosómico para considerarla apogámica obligada o bien, al guiarnos por el número de esporas presente en los esporangios, que en este caso son de 32 esporas, este rasgo asegura la apogamia obligada como lo explica (Regalado, Prada, Gabriel y Galán (2010) para el complejo *Asplenium auritum* cubano-*monodon*. Esto también está avalado por otros trabajos en otros géneros de helechos como sucede en *Pteris* (Huang, Chou, Hsieh, Wang y Chiou, 2006; Huang, Hsu, Hsieh, Chou y Chiou, 2011; Martínez, 2010). Por lo anterior se considera que *A. blepharophorus* no es una especie apogámica facultativa, debido a que la técnica de cultivo ocupa sustratos naturales y no químicos como los medios de cultivo y las esporas no estuvieron sometidas a condiciones ambientales estresantes y más bien, la apogamia que sucede en este taxón es obligada al presentarse 32 esporas por esporangio.

Los híbridos tienen ciclos apogámicos obligados y esta es una condición dominante, además hay una mayor proporción de esporangios en los que no se forman núcleos de restitución, lo que da como resultado 16 células madres de esporas en lugar de ocho. La meiosis entonces es irregular y da como resultado menos de 64 esporas, algunas colapsadas y en gran parte inviables Bell (1992, pág. S131). En *A. blepharophorum* se contaron en la gran mayoría de los esporangios 32 esporas y solo en dos 26, lo que sugeriría un posible origen híbrido de esta entidad taxonómica, aunque no se observaron esporas colapsadas.

Los procesos de hibridación han sido ampliamente estudiados en el género *Asplenium* donde se ha observado que son comunes (Pangua, Prada, Pajarón y Salvo, 1992, p. 1-13; Pérez & Fernández, 1992, págs. 15-25; Pérez & Fernández, 1996, págs. 106-125 y Hunt, Ansell, Russell, Schneider y Vogel, 2011, p. 143). En estos trabajos se reconoce la hibridación con base en análisis citológicos y conteo de cromosomas, pero no en el desarrollo de gametófitos y de esporófitos.

Existen evidencias que en el género *Asplenium* pueden presentarse hibridaciones y poliploidías que están probadas por caracteres morfológicos, conteo de cromosomas y biología molecular. La presencia de entidades de origen poliploide en helechos se explica a través de numerosas meiosis que aumentan la probabilidad de formación de esporas poliploides, que desarrollarán gametófitos poliploides bisexuados que por autofecundación intragametofítica formarán esporófitos poliploides (Haufler, 2013, págs. 318-321). Estrelles e Ibars (2017), estudiaron la germinación de esporas y caracterización del desarrollo de los gametófitos de *Asplenium majoricum* con formación de gametófitos, gametangios y esporófitos. De acuerdo (Hunt, Ansell, Russell, Schneider y Vogel, 2011) esta entidad taxonómica se trata de un alotetraploide, sin embargo, Estrelles e Ibars (2017) no mencionan la formación de yema apogámica lo que implicaría el desarrollo sexual de los esporófitos, entonces cómo explicar los resultados del desarrollo morfogénico de *A. majoricum* al ser una especie poliploide y desarrollar esporófitos de origen sexual.

La explicación a los resultados de Estrelles e Ibars (2017) puede argumentarse por lo propuesto por (Hunt Ansell, Russell, Schneider y Vogel, 2011), quienes citan que en *A. majoricum*, pueden encontrarse poblaciones diploides y una gran mayoría de poliploides que al parecer estas son más exitosas en el aislamiento geográfico en relación al progenitor diploide. Estos autores no hacen mención a la importancia de la apogamia en la biología reproductiva, aunque seguramente es parte de las estrategias para aprovechar la oportunidad ecológica y facilitar el establecimiento de poblaciones poliploides. Por lo anterior, es probable que en el trabajo de Estrelles e Ibars (2017, p. 1-6) se realizó el estudio de los gametófitos en organismos diploides y no en poliploides. Por la información referida, queda claro que en el género *Asplenium* puede haber hibridaciones, poliploidías, así como progenitores diploides que tienen la encomienda de la reproducción sexual.

La formación de esporófitos en cultivos se cita en *Asplenium platyneuron* (Crist & Farrar, 1983, pág. 1809), quienes mencionan haber obtenido esporófitos producto de la siembra de esporas entre un 89 a 93%. Con *A. monanthes* (Sánchez-Montiel, Arreguín-Sánchez y Fernández-Nava, 2008, p. 29) obtuvieron esporófitos sexuales a los 349 días. En *A. auritum*, *A. monodon* y *A. × lellingianum* (Regalado, Prada, Gabriel y Galán, 2010, p. 237) indican la formación de esporófitos sexuales en la primera especie y en *A. monodon* y *A. × lellingianum* fueron apogámicos. En el caso de *A. scolopendrium* var. *americanum* (Testo y Waikins, 2013 2261) indican la formación de muy pocos esporófitos que se originaron a los 200 días después de la siembra de esporas y no se menciona el origen de los mismos. En *A. majoricum* (Estrelles e Ibars, 2017, p. 3) obtuvieron esporófitos y no se menciona el origen. En *A. blepharophorum* se desarrollaron esporófitos apogámicos en los tres sustratos, lo que sugiere un origen híbrido o poliploide de la especie.

Se estudió el híbrido *Asplenium ×aran-tohanum* que coexiste con sus especies parentales *A. billotii* y *A. tricomanes* subsp. *quadri-valens* en Europa occidental. La investigación consistió en la caracterización completa de las tres entidades y encontraron que el híbrido tiene caracteres morfológicos en su mayoría intermedios entre los padres, se detectó que los padres y el híbrido son tetraploide, los padres de *A. billotii* solo desarrollaron gametangios femeninos. Solo el 7% de las esporas fueron viables y los gametófitos resultantes no podían formar esporófitos, ni sexual ni apogámicos, lo que sugiere que existen barreras postcigóticas entre los padres. Este helecho es incapaz de completar su ciclo de vida o producir descendencia viable, al parecer, este es un raro ejemplo de hibridación en helechos (De la Fuente, Gabriel y Galán, Molino, Sessa y Quintanilla 2020, p. 1). En *A. blepharophorum* las esporas fueron viables, no se observaron colapsadas, se produjeron gametangios inmaduros y en maquique solo desarrollaron arquegonios, como sucedió en *A. billotii*, pero finalmente en los tres sustratos se formaron esporófitos apogámicos.

CONCLUSIONES

Las etapas del desarrollo morfogénico fueron las mismas en los tres sustratos, con germinación de las esporas tipo *Vittaria*, sin esporas colapadas; desarrollo morfogénico de los gametófitos tipo *Aspidium*, unisexuados con dimorfismo sexual, los gametangios masculinos se desarrollaron en prótalos con cauda y los femeninos con la forma típica cordada a cordada-lobulada con gran cantidad de rizoides ventrales y cojinete. En el sustrato de maqui que estuvieron presentes solo arquegonios. La presencia de cojinete en los gametófitos femeninos no se ha citado en otros trabajos para el género *Asplenium*.

Los anteridios y arquegonios no maduraron y los esporófitos fueron de origen apogámico, los esporófitos jóvenes se presentaron a partir de los 351 días en maqui que, 356 en musgo y 473 en tierra de hoja.

La presencia de gametangios que no maduraron, la formación de esporófitos apogámicos y la presencia de 32 esporas por esporangios son elementos para considerar que *Asplenium blepharophorum* se trata de una entidad híbrida o poliploide.

LITERATURA CITADA

- Aragón, C., & Pangua, E. (2004). Spore viability under different storage conditions in four rupicolous *Asplenium* L. taxa. *Amer. Fern J.*, 94(1), 28-38.
- Arreguín-Sánchez, M. L., Fernández-Nava, R., & Quiroz-García. (2004). Pteridoflora del Valle de México. Distrito Federal, México: Instituto Politécnico Nacional.
- Ballesteros-Montiel, B. J., Arreguín-Sánchez, M. L., Fernández-Nava, R., & Quiroz-García, D. L. (2019). Descripción del desarrollo morfogénico de los prótalos y esporófitos jóvenes de *Pteris quadriaurita* Retz (Pteridaceae-Polypodiidae) en tres soportes naturales. *Polibotánica*(48), 65-80.
- Bell, P. (1992). Apospory and apogamy: implications for understanding the plant life cycle. *International J. Plant Sci.*, 153(3), S126-S136.
- Bryan, A. L., & O'Kelly, J. C. (1967). The influence of replacing calcium with strontium on the development of *Woodsia obtusa*. *Amer. Fern J.*(57), 27-31.
- Christenhusz, M. J., X. Chun, Z., & Schneider, H. (2011). A linear sequence of extant families and genera of lycophytes and ferns. *Phytotaxa*(19), 7-54.
- Crist, K. C., & Farrar, D. R. (1983). Genetic load and long-distances dispersal in *Asplenium platyneuron*. *Canad. J. Bot.*(61), 1809-1814.
- De la Fuente, P., Gabriel y Galán, J. M., Molino, S., Sessa, E. B., & Quintanilla, L. G. (2020). Character expression, reproductive barriers, and origin of the rare fern hybrid. *Plant Systematics and Evolution*(306), 1-12.
- Dong, S. (2011). Taxonomic studies on *Asplenium* sect. *Thamnopteris* (Aspleniaceae) I: Cytological observations. *Amer. Fern J.*, 101(3), 156-171.
- Estrelles, E., & Ibars, A. M. (2017). Protocolo de germinación de esporas y caracterización del desarrollo de los gametofitos de *Asplenium majoricum* Litard. (ASPLENIACEAE). *Botanic asPPECTS*(3.1), 1-6.
- Farrar, D. R. (1967). Gametophytes of four tropical fern genera reproducing independently of their sporophytes in the south Appalachians. *Science*(155), 1266-1267.
- Gastony, G. J. (1970). *Asplenium pinnatifidum* X *trichoma*, es. A new record for Indiará. *Amer. Fern J.*, 81(71), 32-33.
- Gastony, G. J., & Johnson, W. P. (2001). Phylogenetic placements of *Loxoscaphe thecifera* (Aspleniaceae) and *Actinopteris radiata* (Pteridaceae) based on analysis of rbcL nucleotide. *Amer. Fern J.*(91), 197-213.
- Giudice, G. E., Luna, M. L., & Ganem, M. A. (2013). El género *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) en Argentina. *Darwiniana nueva serie*, 1(1), 46-53.

- Haufler, C. H. (2013). "Species and speciation" (pp. 303-331). En: Ranker, T. A. and Haufler, C. H. (eds.). *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes*. United Kingdom: Cambridge University Press.
- Herrero, A., Prada, C., Pangija, E., Escudero, S., Rubio, A., & Pajaron, S. (1993). Gametophyte morphology of four subspecies of *Asplenium trichomanes* L. *Botánica Complutensis*(18), 67-77.
- Huang, Y. M., Chou, H. M., Hsieh, T. H., Wang, J. C., & Chiou, L. C. (2006). Cryptic characteristics distinguish diploid and triploid varieties of *Pteris fauriei* (Pteridaceae). *Can. J. Bot.*(84), 261-268.
- Huang, Y. M., Hsu, S. Y., Hsieh, T. H., Chou, H. M., & Chiou, W. L. (2011). Three *Pteris* species (Pteridaceae: Pteridophyta) reproduce by apogamy. *Botanical Studies*(52), 79-87.
- Hunt, H. V., Ansell, S. W., Russell, S. J., Schneider, H., & Vogel, J. C. (2011). Dynamics of polyploid formation and establishment in the allotetraploid rock fern *Asplenium majoricum*. *Annals of Botany*(108), 143-157.
- Lavalle, M. C., & Prada, C. (2007). Morfología del esporófito y el gametófito de *Asplenium dareoides* (Aspleniaceae, Pteridophyta). *Darwiniana*, 45(1), 13-22.
- Maxon, W. R. (1908). Studies of tropical American ferns-No. 1. *Asplenium salifolium* and confused species. *Contr. U. S. Natl. Herb.*(10), 473-508.
- Maxon, W. R. (1913). Studies of tropical American ferns-No. 4. *Asplenium trichomanes* and its allies. *Contr. U. S. Natl. Herb.*(17), 134-153.
- McAlpin, B., & Farrar, D. R. (1978). *Trichomanes gametophytes* in Massachusetts. *Amer. Fern J.*(68), 97-98.
- Mickel, J. T., & Smith, A. (2004). The Pteridophytes of Mexico. *Memoirs of the New York Botanical Garden*, 88: 72-132.
- Montoya Casimiro, M. C., Álvarez Varela, R., Pérez Hernández, S., & Arreguín Sanchez, M. L. (2000). Ciclos biológicos de *Blechnum occidentale* L. var. *occidentale* (Blechnaceae-Pteridophyta) y *Thelypteris resinifera* (Desv.) Proctor (Thelypteridaceae-Pteridophyta). *An. Esc. Nac. Cienc. Biol.*, 46(3), 317-339.
- Moran, R. C. (1995). Aspleniaceae. Moran, R. C. y R. Riba (Eds.) "Pilotaceae a Salviniaceae. In: G. Davidse, M. Sousa y S. Knapp (Eds. Grales). *Flora mesoamericana*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México-Missouri; Botanical Garden-The Natural History Museum (Londres), México, D.F. 1:290-298.
- Morlang, C. (1967). Hybridization, polyploidy and adventitious growth in the genus *Asplenium*. *Amer. J. Bot.*(54), 887-897.
- Morzeti, V. M. (1966). Morphological and cytological data on Southeastern United States species of the *Asplenium heterochroum-resiliens* complex. *Amer. Fern J.*(56), 167-176.
- Muccifera, S., & Gori, P. (1995). *Asplenium trichomanes* spp. *trichomanes* Gametophyte. A light and electron microscope study. *Caryologia*, 48(3-4), 265-274.
- Murakami, N. (1995). Systematics and evolutionary biology of the fern genus *Hymenasplenium* (Aspleniaceae). *Journal of Plant Research*(108), 257-268.
- Murakami, N., & Schaal, B. A. (1994). Variación del ADN del cloroplasto y la filogenia de *Asplenium* sect. *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) en los trópicos del Nuevo Mundo. *Revista de Investigación de Plantas*, 107(3), 245-251.
- Murakami, N., Nogami, S., Watanabe, M., & Iwatsuki, K. (1999). Phylogeny of Aspleniaceae inferred from rbcL nucleotide sequences. *Amer. Fern. J.*(89), 232-243.
- Nayar, B. K., & Kaur, S. (1969). Types of prothallial development in homosporous ferns. *Phytomorphology*, 19(2), 179-188.
- Nayar, B. K., & Kaur, S. (1971). Gametophytes of Homosporous. *Ferns. Bot. Rev.*, 37(3), 295-396.
- Palacios Ríos, M. (s.f.). El porte y soporte de los helechos arborescentes. Obtenido de http://naturalia.org.mx/publicaciones/helechos_arborescentes-compressed.pdf
- Pangua, E., Prada, C., Pajarón, S., & Salvo, E. (1992). Un nuevo híbrido de *Asplenium* de Valencia (España) relacionado con *A. majoricum* Litard. *Botanical Journal of the Linnean Society*(1), 1-13.

- Pérez, C. F., & Fernández, A. M. (1992). *Asplenium petrarchae* nothosubsp. diazii (Aspleniaceae, Pteridophyta), un híbrido natural nuevo para la flora levantina y precisiones sobre sus progenitores. *Anales Jard. Bot. Madrid*, 50(1), 15-25.
- Pérez, C. F., & Fernández, A. M. (1996). Híbridos del género *Asplenium* L. (Aspleniaceae) en la Península Ibérica. *Anales Jardín Botánico de Madrid*(54), 106-125.
- PPGI. (2016). Una clasificación derivada de la comunidad para lycophytes y helechos existentes. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jse.12229>
- Prada, C., Pangua, E., Pajarón, S., Herrero, A., Escudero, A., & Rubio, A. (1995). A comparative study of gametophyte morphology, gametangial ontogeny and sex expression in the *Asplenium adiantum-nigrum* complex (Aspleniaceae, Pteridophyta). *Ann. Bot. Fern*(32), 107-115.
- Raghavan, V. (1965). Action of purine and pyrimidine analogs on the growth and differentiation of the gametophytes of the fern *Asplenium nidus*. *Amer. J. Bot.*(52), 900-910.
- Raghavan, V. (1969). Interaction of light quality and nucleases in the growth of the gametophytes of *Asplenium nidus*. *Amer. J. Bot.*(56), 871-879.
- Raghavan, V., & Tung, H. F. (1967). Inhibition of two-dimensional growth and suppression of ribonucleic acid and protein synthesis in the gametophytes of the fern, *Asplenium nidus*, by chloramphenicol, puromycin and actinomycin. *Amer. J. Bot.*, 54(2), 198-204.
- Regalado, G. L., Prada, C., & Gabriel y Galán, J. M. (2010). Sexualidad y apogamia en el complejo *Asplenium auritum cubano-monodon* (Aspleniaceae). *Plant Syst. Evol.*(289), 137-146.
- Regalado, L. R., & Prada, C. (2011). The genus *Hymenasplenium* (Aspleniaceae) in Cuba, including new combinations for the neotropical species. *Am. Fern J.*(101), 265-281.
- Salazar-Aguilar, S., Arreguín-Sánchez, M. L., & Tejero-Díez, J. D. (2015). Descripción del desarrollo del prótalo de tres especies cortícolas (*Polypodium colpodes* Kunze, *Polypodium arcanum* Maxon var. *bakerii* (Daven.) Mickel et Tejero y *Phlebodium inaequale* T. Moore) (Polypodiaceae-Polypodiophyta). *Polibotánica*(39), 21-48.
- Sánchez-Montiel, L., Arreguín-Sánchez, M. L., & Fernández-Nava, R. (2008). Gametófitos y esporófitos jóvenes de dos Pteridophytas: *Asplenium monanthes* L. (Aspleniaceae-Pteridophyta) y *Elaphoglossum minutum* (Pohl ex Fée) T. Moore (Lomariopsidaceae-Pteridophyta). *Polibotánica*(25), 29-43.
- Schneider, H., Russell, S. J., Cox, C. J., Bakker, F., Henderson, S., Rumsey, F., . . . Vogel, G. C. (2004). Chloroplast phylogeny of Asplenioid ferns based on rbcL and trnL-F spacer sequences (Polypodiidae, Aspleniaceae) and its implications for biogeography. *Systematic Botany*(29), 260-274.
- Schneller, J. J. (2013). Antheridiogenus. pp.134-158. En: Ranker, T. A. and Haufler, C. H. (eds.). *Biology and Evolution of Ferns and Lycophytes*. United Kingdom: Cambridge University Press.
- Testo, W. L., & Watkins, E. (2013). Understanding mechanisms of rarity in pteridophytes: Competition and climate change threaten the rare fern *Asplenium scolopendrium* var. *americanum* (Aspleniaceae). Comparative development and gametophyte morphology of the hart's-tongue fern, *Asplenium scolopendrium*. *Am. J. Bot.*, 100(11), 2261-2270.
- Tryon, A. F., & Lugardon, B. (1991). *Spores of the Pteridophyta*. New York: Springer Verlag.
- Tryon, R. M., & Tryon, A. F. (1982). *Ferns and Allied Plants with Special Reference to Tropical America*. New York, USA: Springer Verlag.
- Vázquez, M. E. (2006). Aspleniaceae. Flora de Guerrero. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México. Fascículo 32: 1-63.
- Vivero-Barón, J., Arreguín-Sánchez, M. L., Quiroz-García, D. L., Fernández-Nava, R., & Acosta-Castellanos, S. (2012). Seguimiento del ciclo de vida de *Woodsia mollis* (Kaulf.) J. Sm. (Athryiaceae-Pteridophyta) en tres sustratos naturales. *Polibotánica* (33), 75-83.
- Wagner, W. H., & Evers, R. A. (1963). *Sterile prothallial clones* (Trichomanes?) locally abundant on Illinois sandstones. *Amer. J. Bot.*(50), 623.

Recibido:

22/noviembre/2022

Aceptado:

30/junio/2023

- Watson, P. J., & Vázquez, M. (1981). Comparative ecology of *Woodsia scopulina* sporophytes and gametophytes. *Amer. Fern J.*, 71(1), 3-9.
- Weatherby, C. A. (1931). The group of *Asplenium fragile* in South America. *Contr. Gray Herb. Harv. Univ.*(95), 49-52.
- Xu, K. W., Zhang, L., Rothfels, C. J., Smith, A. R., Ronald, V., Lorence, D., . . . Zhang, L. B. (2020). A global plastid phylogeny of the fern genus *Asplenium* (Aspleniaceae). *Cladística*(36), 22–71.

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE
Agave sensu stricto
(ASPARAGACEAE: AGAVOIDEAE)
EN VERACRUZ Y ÁREAS
ADYACENTES DE PUEBLA, MÉXICO

MORPHOMETRIC ANALYSIS OF
Agave sensu stricto
(ASPARAGACEAE: AGAVOIDEAE)
IN VERACRUZ AND ADJACENTS
AREAS OF PUEBLA, MEXICO

Arzaba-Villalba, Carlos Rafael; Miguel Cházaro-Bazáñez; Mario Luna-Cavazos y Edmundo García-Moya

ANÁLISIS MORFOMÉTRICO DE *Agave sensu stricto* (ASPARAGACEAE: AGAVOIDEAE) EN VERACRUZ Y ÁREAS ADYACENTES DE PUEBLA, MÉXICO

MORPHOMETRIC ANALYSIS OF *Agave sensu stricto* (ASPARAGACEAE: AGAVOIDEAE) IN VERACRUZ AND ADJACENTS AREAS OF PUEBLA, MEXICO



Análisis morfométrico de *Agave sensu stricto* (Asparagaceae: Agavoideae) en Veracruz y áreas adyacentes de Puebla, México

Morphometric analysis of *Agave sensu stricto* (Asparagaceae: Agavoideae) in Veracruz and adjacent areas of Puebla, Mexico

Arzaba-Villalba, Carlos Rafael;
Miguel Cházaro-Bazáñez;
Mario Luna-Cavazos y
Edmundo García-Moya

ANÁLISIS
MORFOMÉTRICO DE
Agave sensu stricto
(ASPARAGACEAE:
AGAVOIDEAE) EN
VERACRUZ Y ÁREAS
ADYACENTES DE PUEBLA,
MÉXICO

MORPHOMETRIC
ANALYSIS OF *Agave sensu*
stricto (ASPARAGACEAE:
AGAVOIDEAE) IN
VERACRUZ AND
ADJACENTS AREAS OF
PUEBLA, MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 39-59. Julio 2023

DOI:
10.18387/polibotanica.56.3

Carlos Rafael Arzaba-Villalba

<https://orcid.org/0000-0003-3213-5033>

Programa de Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados campus Montecillo,
Texcoco, Estado de México

Miguel Cházaro-Bazáñez

<https://orcid.org/0000-0003-3709-2394>

Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz

Mario Luna-Cavazos / mluna@colpos.mx

<https://orcid.org/0000-0003-1672-8154>

Edmundo García-Moya

<https://orcid.org/0000-0003-1100-8553>

Programa de Posgrado en Botánica, Colegio de Postgraduados
campus Montecillo, Texcoco, Estado de México

RESUMEN: El género *Agave* incluye especies de importancia económica y cultural para México. En el estado de Veracruz se tienen diferentes opiniones acerca de los taxones de *Agave* reportados para la entidad. Este hecho causa disparidad en la información disponible sobre la riqueza de especies de este género. Los objetivos de esta investigación fueron: identificar las especies de *Agave* presentes en Veracruz y zonas adyacentes; analizar la variabilidad morfológica y, determinar los caracteres morfológicos que permiten el reconocimiento de los taxones. Se llevó a cabo un análisis multivariado de 29 poblaciones de *Agave* y 57 caracteres morfológicos. Los procedimientos incluyeron un análisis de agrupamiento con el método de la media aritmética no ponderada y el coeficiente de distancia Euclideana. Se aplicó un análisis de componentes principales (ACP) a las 29 poblaciones y 30 caracteres cuantitativos. Los análisis permitieron reconocer 20 taxones de *Agave* que corresponden con 17 especies y tres categorías infraespecíficas. Las características más importantes que diferencian los taxones de acuerdo con el ACP son: longitud de la flor, longitud del canalículo de la espina terminal, longitud de anteras, longitud de las brácteas del escapo, longitud del tubo del perigonio, longitud del tépalo externo, longitud del filamento del estambre y amplitud del ovario. Los análisis multivariados soportan el reconocimiento de 17 especies de *Agave s.s.* en Veracruz y zonas adyacentes. Los altos porcentajes de variación de los caracteres florales considerados apoyan el empleo de las flores como atributos importantes para la clasificación y separación de las especies de *Agave s.s.*

Palabras clave: agrupamiento, análisis multivariado, componentes principales, maguey, variación morfológica.

ABSTRACT: The genus *Agave* includes species of economic and cultural importance for Mexico. In the state of Veracruz there are different opinions about the *Agave* taxa reported for the state. This fact causes disparity in the information available on the species richness of this genus. The objectives of this research were: to identify the species of *Agave* present in Veracruz and adjacent areas; to analyze morphological variability; and to determine the morphological characters that allow the recognition of

taxa. A multivariate analysis of 29 *Agave* populations and 57 morphological characters was carried out. The procedures included a clustering analysis with the unweighted arithmetic mean method and the Euclidean distance coefficient. Principal component analysis (PCA) was applied to the 29 populations and 30 quantitative characters. The analyses allowed the recognition of 20 *Agave* taxa corresponding to 17 species and three infraspecific categories. The most important characteristics that differentiate taxa according to PCA are: flower length, length of the canaliculus of the terminal spine, anther length, length of the bracts of the scape, length of the perigonium tube, length of the external tepal, length of the stamen filament, and ovary breadth. Multivariate analyses support the recognition of 17 species of *Agave s.s.* in Veracruz and adjacent areas. The high percentages of variation of the floral characters considered support the use of flowers as important attributes for the classification and separation of *Agave s.s.* species.

Key words: cluster, maguey, morphological variation, multivariate analysis, principal components.

INTRODUCCIÓN

El género *Agave* L. pertenece a la familia Asparagaceae Juss. subfamilia Agavoideae Herbert (APG III, 2009; APG IV, 2016). *Agave* fue descrito por Linneo en 1753 y, desde entonces, han existido controversias sobre la posición taxonómica del género. *Agave* ha sido incluido en distintas familias botánicas como Amaryllidaceae (Trelease, 1920) y Agavaceae (Cronquist y Takhtajan, 1981; Thiede, 2001). En algunos estudios llevados a cabo mediante análisis genéticos, se ha considerado a las especies de los géneros *Manfreda* Salisb., *Polianthes* L. y *Prochnyanthes* S. Watson que deben ser incluidos dentro del género *Agave* (Eguiarte *et al.*, 2000; Stevens, 2001); sin embargo, algunos investigadores consideran necesario mayores estudios morfológicos, ecológicos y moleculares para efectuar una clasificación más apropiada de este complejo de especies (Eguiarte *et al.*, 2000; Stevens, 2001; García-Mendoza, 2002, 2011; APG III, 2009).

Agave incluye especies de importancia económica y cultural para sociedades antiguas y actuales de México. El género comprende aproximadamente 210 especies distribuidas en ambientes naturales, de las cuales 159 están presentes en México (75% del total); 129 son endémicas del territorio mexicano 81% de las que se distribuyen en México por lo que este país es considerado el centro de origen y diversidad (García-Mendoza, 2002; Villaseñor, 2016; García Mendoza *et al.*, 2017, 2019). Las especies de *Agave* se encuentran desde el sur de los Estados Unidos de Norteamérica hasta Colombia, Venezuela y las islas del Caribe.

En el estado de Veracruz existen diferentes opiniones en relación con la presencia de taxones de *Agave*, por lo que existe disparidad en la información disponible acerca de la riqueza de especies del género. Cházaro-Basáñez (1989) registra nueve especies de *Agave* en la zona centro de Veracruz. Sosa y Gómez-Pompa (1994), enumeran 21 especies y cinco infraespecies de *Agave* en la lista florística de Veracruz. De esos 26 taxones, Cházaro-Basáñez *et al.* (2008) solo reconocen siete como registros válidos para el estado, y consideran al resto de los taxones como errores de identificación y las consideran como plantas cultivadas o las excluyen por sinonimia. En el catálogo de plantas vasculares de México existen 30 especies de *Agave s.s.* distribuidas en Veracruz (Villaseñor, 2016). Sin embargo, no existen estudios suficientes para tener certeza de la riqueza de *Agave* en el estado.

Los análisis morfométricos son usados para explorar los patrones de variación morfológica dentro de las poblaciones de plantas y para diferenciar especies dentro de grupos vegetales. Los análisis de agrupamiento y ordenación por componentes principales son herramientas útiles

para estudiar la variabilidad morfológica (Peirson *et al.*, 2006; Jiménez-Pérez y Lorea-Hernández, 2009; Arroyo-Cosultchi *et al.*, 2010; Gonzalo *et al.*, 2012).

Los análisis multivariados han sido usados para analizar la variabilidad morfológica y contribuyen a resolver problemas taxonómicos en algunos géneros de Asparagaceae (Chung *et al.*, 1991; Solano, 2000; Poulsen y Nordal, 2005, Castro-Castro *et al.*, 2010; Ritchie, 2012; Gutiérrez *et al.*, 2017). La aplicación de este tipo de análisis en *Agave s.s.* se ha enfocado en la evaluación de la variabilidad morfológica a nivel de especies, en complejos especies-taxones domesticados de importancia económica (Colunga-García Marín, 1998; Rodríguez-Garay *et al.*, 2009; Mora-López *et al.*, 2011; Figueredo *et al.*, 2014; Parker *et al.*, 2014; Avendaño-Arrazate *et al.*, 2015; Figueredo-Urbina *et al.*, 2017; Barrientos *et al.*, 2019). Con base en lo anterior, los objetivos del presente estudio fueron: reconocer las especies del género *Agave s.s.* presentes en el estado de Veracruz y parte de Puebla mediante análisis multivariados; analizar la variabilidad morfológica del género en Veracruz y parte de Puebla, e identificar los caracteres morfológicos que contribuyan a la delimitación taxonómica de las especies de *Agave* de Veracruz y áreas adyacentes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Examen de material botánico

Treinta poblaciones de *Agave s.s.* fueron identificadas en Veracruz y áreas adyacentes de Puebla (Fig. 1; Tabla 1), mediante revisión de literatura, de material de herbario y recolectas en campo. Las características generales de las localidades de estudio se muestran en el Apéndice 1 (INEGI, 2010). El presente estudio incluye sólo a las especies de *Agave sensu stricto*, por lo que se excluye a los géneros relacionados, mencionados en la introducción.

Se examinaron 174 especímenes herborizados de *Agave* en los principales herbarios de México tales como CHAPA, ENCB, MEXU y XAL (acrónimos de acuerdo con Index Herbariorum <http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>). En condiciones naturales se examinaron 76 individuos con estructuras reproductivas bien desarrolladas; con base en el número de individuos recolectados y muestras de herbario se consideró una muestra de tres a ocho ejemplares por población de cada taxón, excepto *A. maria-patriciae* Cházaro & Arzaba y *A. warelliana* Hort. ex Baker, de los cuales sólo se pudo consultar un individuo; el número de individuos de campo y herbario examinados se muestra en la Tabla 1.

Selección y determinación de caracteres

Se seleccionaron 65 caracteres morfológicos, 38 cuantitativos y 27 cualitativos, a partir de tallo, rosetas, hojas, inflorescencias, frutos y semillas (Tablas 2 y 3). Se midieron tres hojas, flores y frutos; las flores y los frutos se seleccionaron al azar del ápice, parte media y base de la porción fértil del escapo; se hicieron mediciones de 3 a 5 semillas por ejemplar. Los caracteres empleados en el análisis se seleccionaron con base en las descripciones morfológicas de Gentry (1982) y García-Mendoza (2011); corresponden a los caracteres utilizados con mayor frecuencia para describir a las especies del grupo de estudio. Las medidas fueron hechas en 29 de 30 poblaciones reconocidas para el área de estudio; los individuos analizados corresponden a ejemplares silvestres, excepto *Agave wendtii* Cházaro, especie descrita originalmente de ejemplares cultivados y de la cual no se hicieron colectas en campo. Las poblaciones fueron consideradas como Unidades Taxonómicas Operativas (UTOs) indicadas en la Tabla 1. La población de *Agave filifera* Salm-Dyck no fue incluida en el análisis debido a la falta de material botánico, tanto de herbario como de campo.

Los caracteres cuantitativos fueron medidos con cinta métrica, regla y vernier; cuando fue necesario se usó microscopio estereoscópico con aumento 10x, el cual se utilizó para facilitar la medición de las estructuras florales. La determinación de los caracteres cualitativos se llevó a cabo con observaciones directas de los individuos seleccionados en el campo o de los especímenes de herbario disponibles. Los colores de las estructuras se identificaron con base en las descripciones de Gentry (1982) y García-Mendoza (2011), así como en los protólogos de las especies de reciente descripción. Después se agruparon en las categorías empleadas en el análisis. Las formas de plano longitudinal fueron descritas de acuerdo con Radford *et al.* (1974).

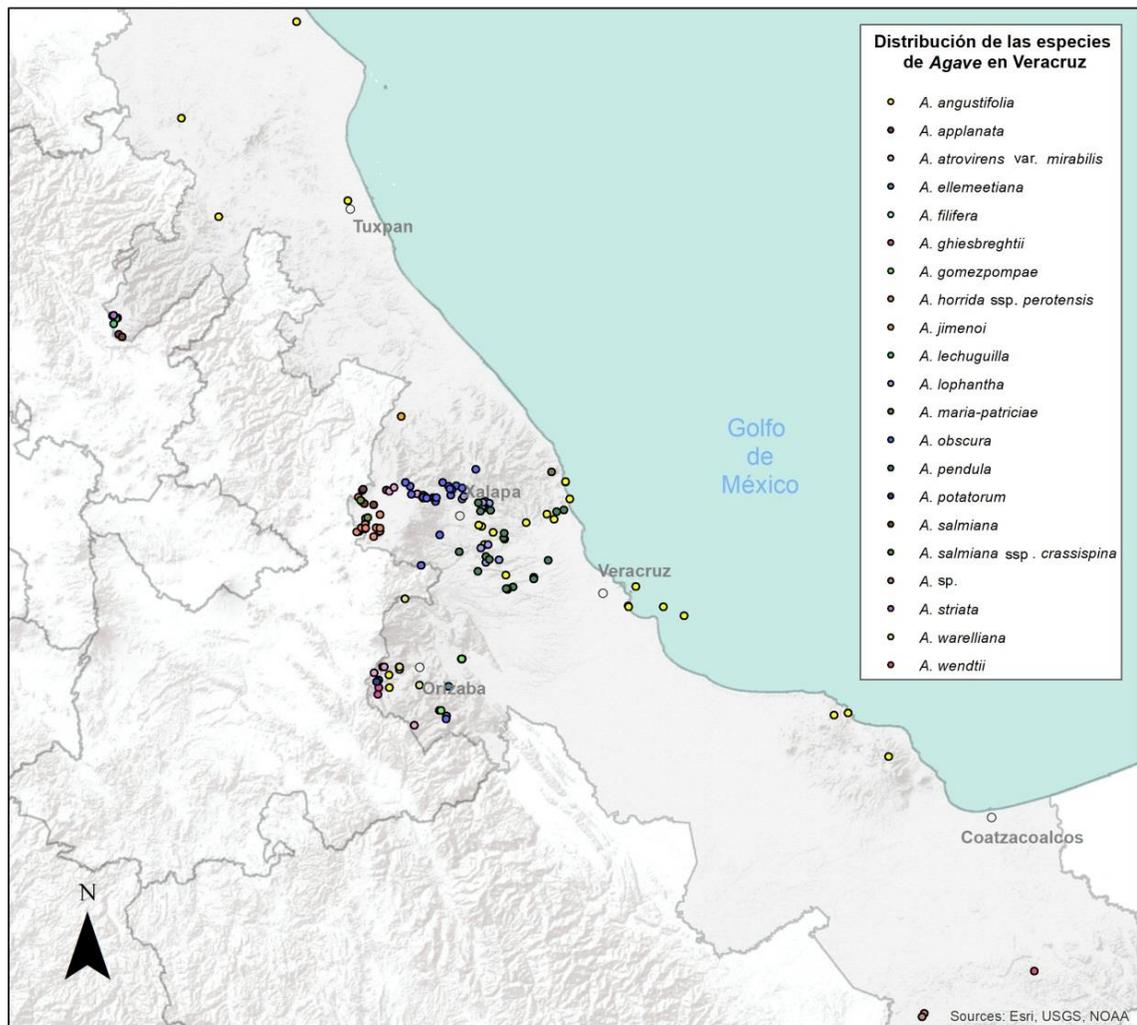


Fig. 1. Ubicación del área de estudio; los símbolos (●) indican la localización de las poblaciones de *Agave* incluidas en el estudio

Análisis de agrupamiento

Este análisis se llevó a cabo con una matriz básica de datos (MBD) elaborada con caracteres cualitativos y cuantitativos; la MBD final consistió de 29 poblaciones y 57 caracteres. Posteriormente, se construyó una matriz de semejanza entre UTOs, con el uso del coeficiente de

distancia Euclidiana; las UTOs fueron agrupadas por el procedimiento de la media aritmética no ponderada (UPGMA-por sus siglas en inglés) y luego representados en un dendrograma (Palacio *et al.*, 2020). Los análisis se llevaron a cabo con el programa PC-ORD versión 6 (McCune y Mefford, 2011).

Tabla 1. Especies de *Agave s.s.* registradas en el estado de Veracruz y áreas aledañas. Poblaciones (UTOs) y acrónimos usados para el análisis fenético de las especies de *Agave L.* en Veracruz. *Poblaciones localizadas en Puebla en los límites con el estado de Veracruz. NIC: número de individuos recolectados en campo; NIH: número de individuos consultados en los herbarios

Población	Especie	Localidad, Municipio	NIC	NIH
Agaang2	<i>A. angustifolia</i> Haw.	Alvarado, Alvarado	4	23
Agaang1	<i>A. angustifolia</i> Haw.	Villa Rica, Actopan	3	
Agaapp1	<i>A. applanata</i> Hort. ex K.Koch	Los Humeros, Chignautla*	3	9
Agaapp2	<i>A. applanata</i> Hort. ex K.Koch	Cerro del Vigía, Mastaloyan, Chignautla*	3	
Agaapp3	<i>A. applanata</i> Hort. ex K.Koch	Tepeyahualco, Tepeyahualco*	3	
Agaatr1	<i>A. atrovirens</i> var. <i>mirabilis</i> (Trel.) Gentry	Tepezteco, Villa Aldama	3	7
Agaell	<i>A. ellemetiana</i> K.Koch	El Precipicio, Zongolica	2	1
Agaghi	<i>A. ghiesbreghtii</i> Hort. ex Jacobi	Maltrata, Maltrata		3
Agagom	<i>A. gomezpompae</i> Cházaro & Jimeno-Sevilla	Divino Rostro, Amatlán		3
Agahor1	<i>A. horrida</i> Lem. ex Jacobi subsp. <i>perotensis</i> B.Ulrich	Cerro del Vigía, Perote	5	15
Agahor2	<i>A. horrida</i> Lem. ex Jacobi subsp. <i>perotensis</i> B.Ulrich	Totalco, Perote	4	
Agajim	<i>A. jimenoii</i> Cházaro & A. Vázquez	El Encanto, Tlapacoyan	3	2
Agalec1	<i>A. lechuguilla</i> Torr.	Santiago, Huayacocotla	4	6
Agalec2	<i>A. lechuguilla</i> Torr.	El Zapote, Huayacocotla	4	
Agalop	<i>A. lophantha</i> Schiede	Almolonga, Alto Lucero	4	17
Agamar	<i>A. maria-patriciae</i> Cházaro & Arzaba	Sierra de Monte de Oro, Alto Lucero		1
Agaobs1	<i>A. obscura</i> Schiede	La Joya, Acajete	3	37
Agaobs2	<i>A. obscura</i> Schiede	Barranca Las Minas, Las Minas	4	
Agapen1	<i>A. pendula</i> Schnittsp.	Trapiche de Rosario, Actopan	3	27
Agapen2	<i>A. pendula</i> Schnittsp.	Cascada Xoltepec, E. Zapata	4	
Agapot	<i>A. potatorum</i> Zucc.	El Rincón, Maltrata	3	2
Agasal2	<i>A. salmiana</i> Otto ex Salm-Dyck subsp. <i>salmiana</i>	Frijol Colorado, Perote	3	6
Agasal1	<i>A. salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i> (Trel. ex L.H. Bailey) Gentry	Frijol Colorado, Perote	3	2
Agasal3	<i>A. salmiana</i> subsp. <i>crassispina</i> (Trel. ex L.H. Bailey) Gentry	Las Blancas, Huayacocotla	3	
Agawar1	<i>A. warelliana</i> Hort. ex Baker	Cañada río Ayohuxtla, Calchahualco	2	6
Agawar2	<i>A. warelliana</i> Hort. ex Baker	Piedra del águila, Cd. Mendoza	2	
Agawar3	<i>A. warelliana</i> Hort. ex Baker	Petalcalca, Tenejapa	1	
Agawen1	<i>A. aff. wendtii</i>	Río Chalchijapa, Uxpanapa	0	3
Agawen2	<i>A. wendtii</i> Cházaro	El Encajonado, Uxpanapa		4

Análisis de componentes principales (ACP)

Se elaboró una matriz básica de datos (MBD) con 29 UTOs y 38 caracteres cuantitativos con las medidas promedio de los individuos examinados. Los datos cuantitativos fueron estandarizados con ajuste a la desviación estándar, y luego se aplicó de manera preliminar un análisis de componentes principales para detectar posibles correlaciones entre caracteres, y eliminar efectos de colinealidad.

Tabla 2. Caracteres cualitativos y sus estados de caracteres usados en el análisis multivariado.

Caracter	Estado de carácter	Código
Tallo	0 = ausente; 1 = presente	tallo
Hábito de roseta	1 = solitario; 2 = surculosa; 3 = cespitosa; 4 = ramificada	habros
Forma de la hoja	1 = linear-lanceolada; 2 = ensiforme; 3 = lanceolada; 4 = ovada-lanceolada; 5 = ovada; 6 = elíptica; 7 = deltoide	forhoj
Color de la hoja	1 = verde; 2 = glauca (blanca); 3 = verde pálido; 4 = verde brillante; 5 = verde amarillento; 6 = verde oscuro	colhoj
Línea central de la hoja	0 = ausente; 1 = presente	linchoj
Color de la espina terminal de la hoja	0 = ausente; 1 = café oscuro; 2 = café rojizo; 3 = castaño; 4 = gris; 5 = mismo color de la hoja	colespt
Forma de la espina terminal de la hoja	0 = ausente; 1 = cónico-aguda; 2 = plana aguda; 3 = cóncava sinuosa	forespt
Patrón de crecimiento de los denticulos	0 = ausente; 1 = rodeando la hoja completamente; 2 = ausente hacia el ápice de la hoja	pcreden
Color de los denticulos	0 = ausente; 1 = café oscuro; 2 = café rojizo; 3 = castaño; 4 = gris; 5 = mismo color que la hoja	colden
Forma de los denticulos	0 = ausente; 1 = triangular; 2 = irregularmente curvado; 3 = curvado cuspidado; 4 = reflexo	forden
Margen córneo de la hoja	0 = ausente; 1 = presente	machoj
Forma de la inflorescencia	1 = paniculada; 2 = espigada	forinf
Zona de floración de la inflorescencia	1 = tercio superior; 2 = arriba de la mitad; 3 = tercio inferior	zflinf
Forma de las brácteas del escapo	1 = linear triangular; 2 = ampliamente triangular; 3 = triangular; 4 = ovada	forbra
Margen de las brácteas del escapo	1 = entero; 2 = entero papiráceo; 3 = entero involuto; 4 = córneo	marbraes
Color de las brácteas del escapo	1 = verde oscuro; 2 = verde rojizo; 3 = verde pálido; 4 = rojizo	colbraces
Forma de las bractéolas	1 = linear triangular; 2 = ampliamente triangular; 3 = triangular; 4 = ovada	forbra
Color de las bractéolas	1 = verde oscuro; 2 = verde rojizo; 3 = verde pálido; 4 = rojizo	colbra
Forma de los tépalos	1 = lanceolado; 2 = linear lanceolado; 3 = oblongo	fortep
Color de tépalos	1 = verde; 2 = amarillo; 3 = púrpura	coltep
Quilla del tépalo interno	0 = ausente; 1 = presente	qutein
Forma del ápice de los tépalos	1 = agudo; 2 = redondo; 3 = obtuso; 4 = cuculiforme	foratep
Color del filamento del estambre	1 = verde; 2 = amarillo; 3 = café; 4 = púrpura	colfiles
Color de antera	1 = amarillo; 2 = púrpura	colant

Color del estilo	1 = verde; 2 = amarillo; 3 = púrpura	colest
Forma del fruto	1 = elíptico; 2 = ovado; 3 = oblongo	forfru
Forma de semilla	1 = lunulada; 2 = auriculada	forsem

Tabla 3. Caracteres cuantitativos seleccionados para el análisis de componentes principales. Medidas en centímetros.
** Valores absolutos

Caracter	Código
Longitud del tallo	lontal
Anchura de roseta	ancros
Número de hojas por roseta**	numhros
Longitud de hojas	lonhoj
Anchura de la parte media de la hoja	anmhoj
Longitud de espina terminal de la hoja	lonespth
Longitud del canalículo de espina terminal	loncanet
Longitud de dentículos	londen
Longitud de inflorescencia	loninf
Número de ramas de la inflorescencia**	numrinf
Longitud de brácteas del escapo	lonbraes
Longitud de bracteolas	lonbra
Anchura de la base de bractéolas	ancbbra
Longitud de flores	lonflo
Longitud del cuello de la flor	loncuef
Anchura del cuello de la flor	ancuef
Longitud del tubo del perigonio	lontubp
Longitud del tépalo externo de la flor	lonteeef
Anchura del tépalo externo de la flor	anteef
Longitud del filamento del estambre	lonfile
Anchura del filamento del estambre	ancfile
Inserción del filamento del estambre en el tubo del perigonio	insfiltp
Longitud de antera	lonant
Anchura de antera	ancant
Longitud del estilo	lonest
Anchura del estilo	ancest
Anchura del ovario	ancova
Longitud del fruto	lonfru
Longitud del pedicelo del fruto	lonpedf
Longitud de semilla	lonsem

Después de esta prueba se eliminaron ocho caracteres, la matriz final de datos incluyó 29 UTOs y 30 caracteres cuantitativos.

Se llevó a cabo el análisis de componentes principales para explorar la relación entre las unidades taxonómicas y ponderar la importancia de los caracteres que mejor discriminan a los taxones. Inicialmente se calculó una matriz de correlación entre los 30 caracteres cuantitativos como base para estimar los valores y vectores característicos. Luego, las UTO's fueron ordenadas en los ejes que representan los primeros tres componentes principales. Los análisis descritos se efectuaron con el programa PC-ORD versión 6 (McCune y Mefford, 2011).

RESULTADOS

Análisis de agrupamiento

El análisis de grupos de las poblaciones de *Agave* diferenció 20 taxa, que corresponde con 17 especies. El dendrograma obtenido (Fig. 2) indica que los dos grupos principales se diferencian a una distancia de 8.3 y corresponden con los subgéneros *Agave* y *Littaea*, los cuales se diferencian morfológicamente por el tipo de inflorescencia; *Agave* (Agaang1-Agasal3) con inflorescencia en panícula, lateralmente ramificada y *Littaea* (Agaell-Agaghi) con inflorescencias espigadas, cuyas flores están agrupadas en pares o en grupos cortamente pedunculados.

A una distancia de 6.9, el subgen. *Agave* está dividido en dos grupos que corresponden con dos secciones. El primero (Agaatr1, Agasal3) está formado por poblaciones con individuos de *A. atrovirens* Karw. ex Salm-Dyck var. *mirabilis* (Trel.) Gentry y *A. salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *crassispinata* pertenecientes a las secciones Hiemiflorae Gentry y Salmianae A. Berger respectivamente. Ambos taxones tienen rosetas mayores de 2 m de ancho, con hojas de más de 1.5 m de largo y 25 cm de ancho e inflorescencias que pueden exceder 7 m de alto.

El segundo grupo (Agaang1-Agaapp3) está dividido en dos subgrupos a una distancia de 5.2. El primero (Agaapp1-Agaapp3) formado por las poblaciones de *A. applanata* Hort. ex K.Koch el cual tiene rosetas de tamaño medio entre 1.2 a 1.5 m de ancho, hojas entre 70 a 80 cm de largo e inflorescencias entre 6 a 9 m de alto. Este taxón es la única especie representativa de la sección Ditepalae Gentry en Veracruz.

El segundo subgrupo (Agaang1-Agasal2) está formado por las poblaciones de tres especies cuya morfología es marcadamente diferente. Dentro de este subgrupo, a una distancia de 0.39, las poblaciones (Agaang1-Agaang2) de *A. angustifolia* Haw. se separan del resto de las poblaciones, ésta es la única especie de la sección Rigidae A. Berger en Veracruz; este taxón presenta una amplia variación morfológica con rosetas entre 1 a 1.4 m de ancho, hojas entre 48 a 91 cm de largo e inflorescencias entre 2 a 4.2 m de alto. La población Agapot está separada a una distancia de 2.7 y corresponde a *A. potatorum* Zucc., esta especie tiene rosetas pequeñas entre 30 a 66 cm de ancho, hojas entre 21 a 31 cm de largo e inflorescencias entre 3.9 a 5 m de alto; junto con *A. atrovirens*, forma parte de la sección Hiemiflorae.

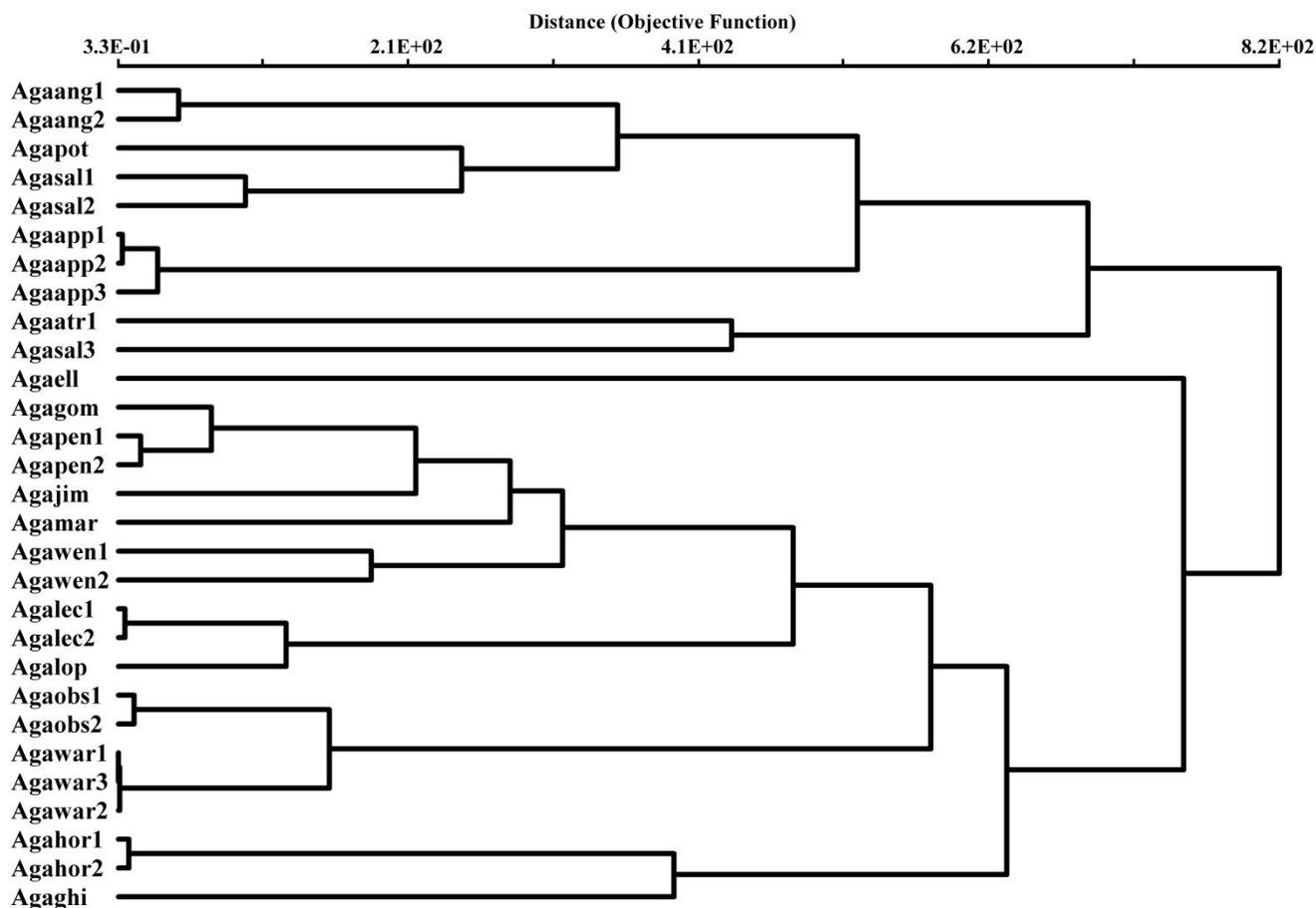


Fig. 2. Dendrograma derivado del análisis de agrupamiento de las especies de *Agave* s.s. en Veracruz y áreas aledañas de Puebla, mediante el método de UPGMA, y el uso del coeficiente de distancia euclidiana

A una distancia de 0.7 se ubican dos poblaciones de *A. salmiana* (Agasal1 y Agasal2) de la sección Salmianae; la primera corresponde con *A. salmiana* subsp. *crassispina* (Trel. ex LH Bailey) Gentry, esta subespecie está caracterizada por presentar rosetas entre 1.4 a 1.5 m de ancho, hojas entre 70 a 90 cm de largo e inflorescencias entre 5 a 7.5 m de alto. La población Agasal2, corresponde con *A. salmiana* subsp. *salmiana* y tiene rosetas de 1.8 a 2.1 m de ancho, hojas de 90 a 100 cm de largo e inflorescencias hasta 7.5 m de alto.

Respecto al subgen. *Littaea*, la población Agaell de *A. ellemeetiana* K. Koch está separada por una distancia de 7.6. Esta especie de la sección Choritepalae Gentry es morfológicamente diferente del resto de las especies de *Littaea*; tiene hojas con dentículos, con margen agudo y sin espina terminal, posee las hojas más anchas (21 cm) de este subgénero y con un muy pequeño tubo del perigonio, 0.2 cm de largo y, en algunos casos, con apariencia discoidal.

Dos grupos se forman a una distancia de 6.3. El primero (Agagom-Agawar2) consiste de 10 especies agrupadas como sigue: el subgrupo (Agagom-Agalop) de ocho especies con rosetas de tamaño pequeño a intermedio, caulescentes o acaulinadas, hojas que no exceden 7.5 cm de

ancho, brácteas del escapo hasta 15 cm de largo y flores entre 2.5 a 5.2 cm de largo. A una distancia de 4.7, se diferencian las poblaciones (Agalec1-Agalop) pertenecientes a *A. lechuguilla* Torr. y *A. lophantha* Schiede de la sección Marginatae Gentry; estas incluyen individuos acaulescentes o subacaulescentes, hojas lineares o linear-lanceoladas con márgenes córneos, espina terminal y largos denticulos, e inflorescencias alrededor de 2.2 m de alto.

Las poblaciones (Agagom-Agawen2) de *A. gomezpompae* Cházaro & Jimeno-Sevilla, *A. pendula* Schnittsp., *A. jimenoii* Cházaro & A. Vázquez, *A. maria-patriciae* Cházaro & Arzaba, *A. wendtii* Cházaro y *A. aff. wendtii* comprenden la mayor parte de la sección Polycephalae Gentry; son caulescentes, excepto *A. wendtii*, con hojas lanceoladas a oblanceoladas sin margen córneo, excepto *A. aff. wendtii*, espina terminal y pequeños denticulos e inflorescencia de menos de 2 m de alto, excepto *A. pendula*. El subgrupo (Agaobs1-Agawar2) está formado por el resto de las especies de la sección Polycephalae *A. obscura* Schiede y *A. warelliana* Hort. ex Baker con rosetas medianas, acaulescentes, hojas hasta de 13 cm de ancho, brácteas hasta 35 cm largo y flores entre 4.1 a 5.8 cm de largo.

El segundo grupo dentro de *Littaea* (Agahor1-Agaghi) está formado por dos especies separadas a una distancia de 3.8. *A. horrida* Lem. ex Jacobi subsp. *perotensis* B. Ulrich y *A. ghiesbreghtii* Hort. ex Jacobi las cuales, junto con *A. lechuguilla* y *A. lophantha*, forman la sección Marginatae en Veracruz. Estas especies pertenecen al complejo cuyos miembros son difíciles de delimitar. Ambos tienen dimensiones semejantes en el tamaño de rosetas, número de hojas por roseta, y similitudes en la forma de las hojas y altura de la inflorescencia, pero diferentes en el largo de las hojas y el tamaño de los denticulos, los cuales son más grandes en *A. ghiesbreghtii* mientras que el largo de las flores y el cuello de la flor son más grandes en *A. horrida* subsp. *perotensis*. Algunas de las especies características de los subgéneros *Agave* y *Littaea* se muestran en la Figura 3.

Análisis de componentes principales (ACP)

La variación acumulada en los primeros tres componentes (CP) fue de 60.8% de la variación total de los caracteres; la distribución bidimensional de las poblaciones en la gráfica concuerda en general con el análisis de agrupamiento (Fig. 4). El primer componente (CP1) explica el 38.7% de la varianza; los caracteres más importantes en este componente son: largo de la flor, largo del canalículo de la espina terminal, largo de la antera, ancho de la parte media de la hoja, largo de las brácteas del escapo y largo del tubo del perigonio, las cuales son las variables con los mayores valores de correlación dentro del CP1 (Tabla 4). La distribución de los taxa en los ejes cartesianos del CP1 separa las poblaciones con individuos que poseen mayor tamaño de estructuras florales, espinas y brácteas del escapo, pertenecientes a las secciones Salmianae, Hiemiflorae y Ditepalae. En el margen opuesto de este eje se encuentran las poblaciones con dimensiones menores en las características antes mencionadas, que pertenecen a las secciones Polycephalae, Choritepalae y Marginatae.

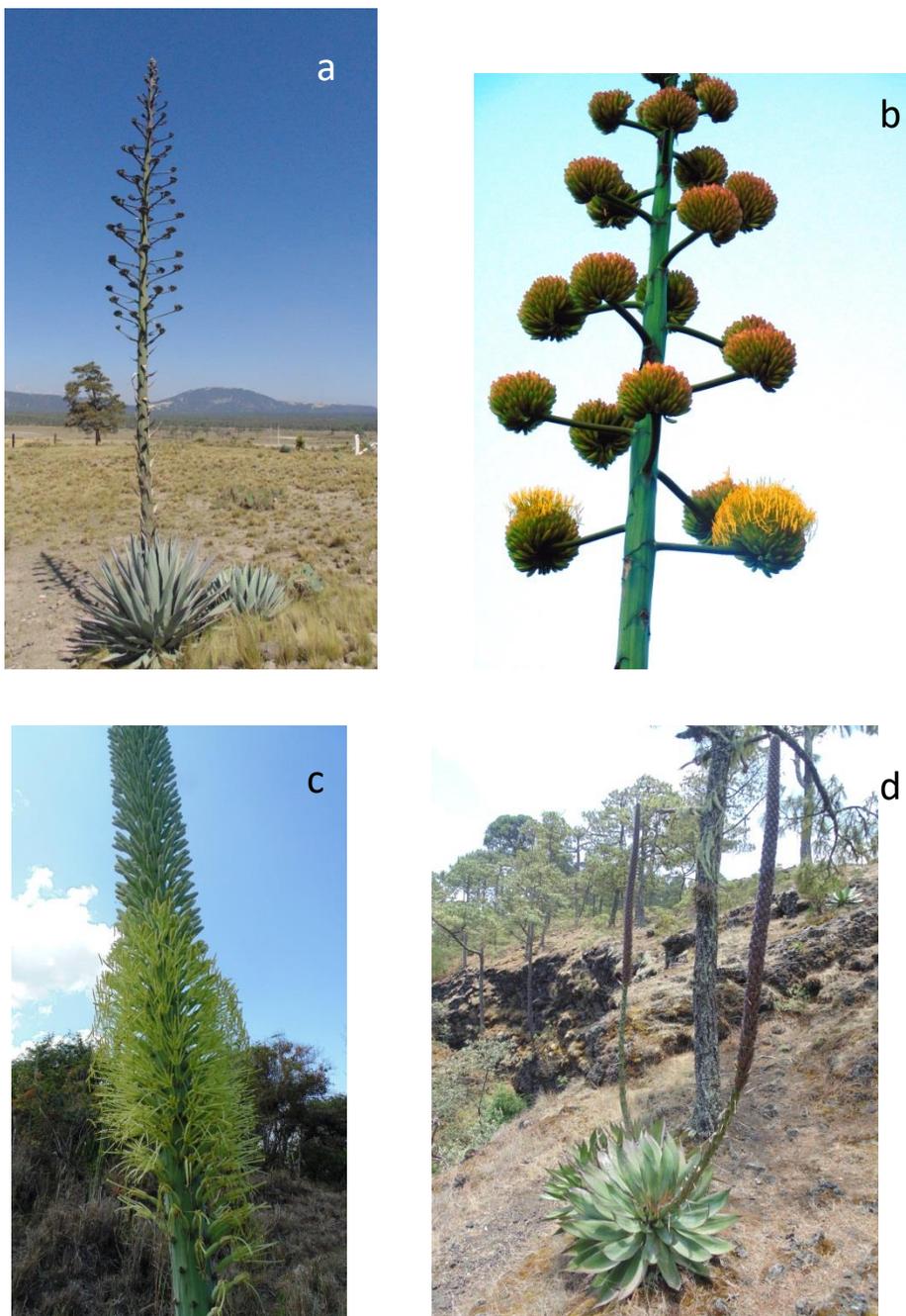


Fig. 3. Especies representativas del género *Agave*. Subgénero *Agave* : a) *A. applanata* secc. Ditepalae; b) *A. atrovirens*, secc. Hiemiflorae. Subgénero *Littaea*: c) *A. lophanta*, secc. Marginatae; d) *A. obscura*, secc. Polycephalae

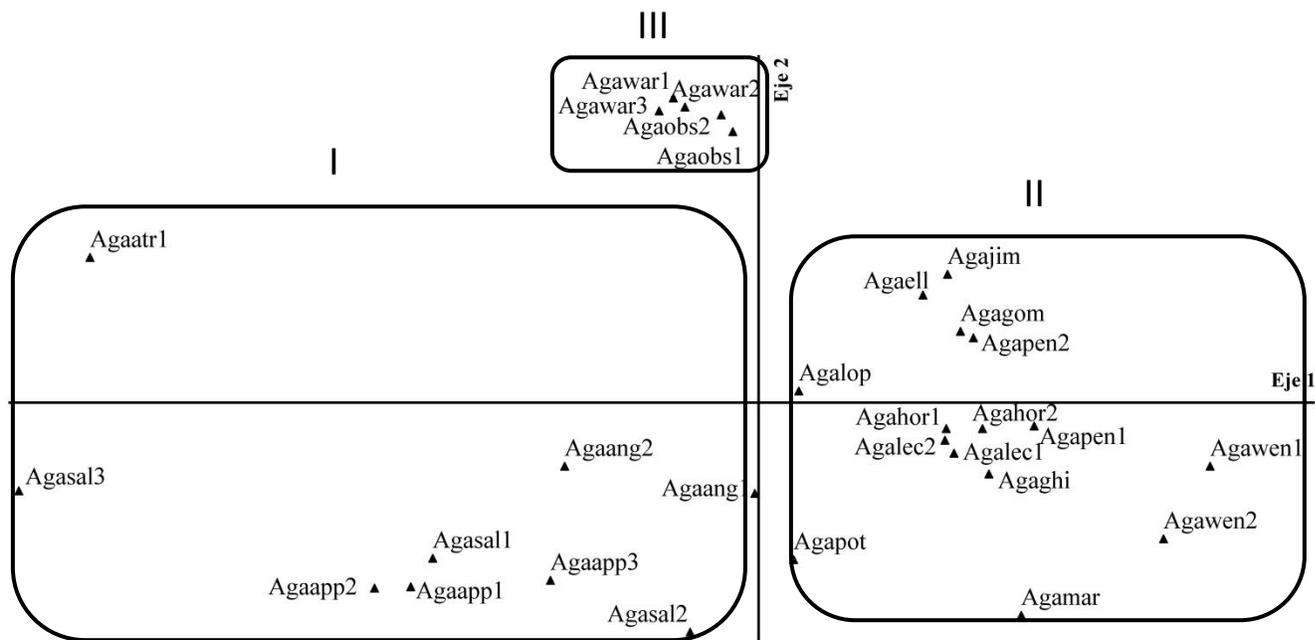


Fig. 4. Representación bidimensional de los componentes CPI y CP2 derivado del análisis de 29 poblaciones y 30 caracteres morfológicos cuantitativos de *Agave s.s.* en Veracruz y áreas aledañas de Puebla. (I) poblaciones que pertenecen a las secciones Salmianae, Hiemiflorae (en parte) y Ditepalae; (II) secciones Polycephalae (en parte), Choritepalae y Marginatae; (III) poblaciones de Polycephalae con estructuras florales de mayor tamaño. Acrónimos de las especies de acuerdo con la Tabla 1.

En el segundo componente (CP2), con una variación explicada de 12.7%, los caracteres de mayor peso son: ancho del tépalo externo de la flor, largo del pedicelo del fruto, largo del estilo, largo del tépalo externo de la flor y longitud del cuello de la flor. El CP2 diferenció claramente las especies con estructuras florales más grandes dentro de la sección Polycephalae. El tercer componente (CP3) explicó un 9.3% de la variación, y los caracteres con mayor peso son: inserción del filamento del estambre en el tubo del perigonio, ancho del cuello de la flor, ancho del filamento del estambre y largo de las bracteolas.

Tabla 4. Correlación de los caracteres con los primeros tres componentes principales derivado del análisis de las especies de *Agave s.s.* en Veracruz.

Variable	Eigenvector		
	1	2	3
lontal	0.3521	-0.0122	0.3808
ancros	-0.6682	0.2783	-0.3604
numhros	0.0283	-0.1997	-0.4453
lonhoj	-0.6955	0.2166	-0.1904
anmhoj	-0.8005	-0.0362	-0.1993
lonespth	-0.6506	-0.4137	-0.4926

loncanet	-0.8613	-0.2856	-0.1829
londen	-0.0611	-0.2365	-0.3693
lonbraes	-0.7917	0.2449	-0.1281
lonbra	0.1609	0.4169	-0.5192
ancbba	-0.5204	0.3906	-0.2872
loninf	-0.5289	-0.2721	0.1987
numrinf	-0.6917	-0.4797	0.2508
lonflo	-0.9311	0.0319	0.0142
loncuf	-0.6787	-0.5082	-0.0045
ancuf	-0.6458	-0.1201	0.5493
lontubp	-0.7823	0.0784	0.4039
lontef	-0.7163	0.5301	-0.1141
anteef	-0.1599	0.6351	0.2381
lonfile	-0.7121	0.4624	-0.2211
ancfile	-0.6189	-0.0009	0.5455
insfiltp	-0.6142	0.2748	0.5534
lonant	-0.8317	0.2577	-0.0593
ancant	-0.4030	0.3257	-0.0206
lonest	-0.6362	0.6193	0.0853
ancest	-0.4288	-0.3889	-0.0263
ancova	-0.7387	-0.2727	0.2512
lonfru	-0.6773	-0.4558	-0.1294
lonpedf	-0.4526	-0.6295	-0.1017
lonsem	-0.5249	-0.1282	-0.2876

La separación de las OTUs en los CP1 y CP3, se muestra en la Figura 5. En la parte superior del CP3, las poblaciones que presentan como característica una mayor distancia de inserción del filamento en el tubo del perigonio, están ordenadas en proporción al tamaño de la flor, lo cual corresponde con las secciones Ditepalae, Rigidiae y las especies de mayor tamaño de la sección Polycephalae.

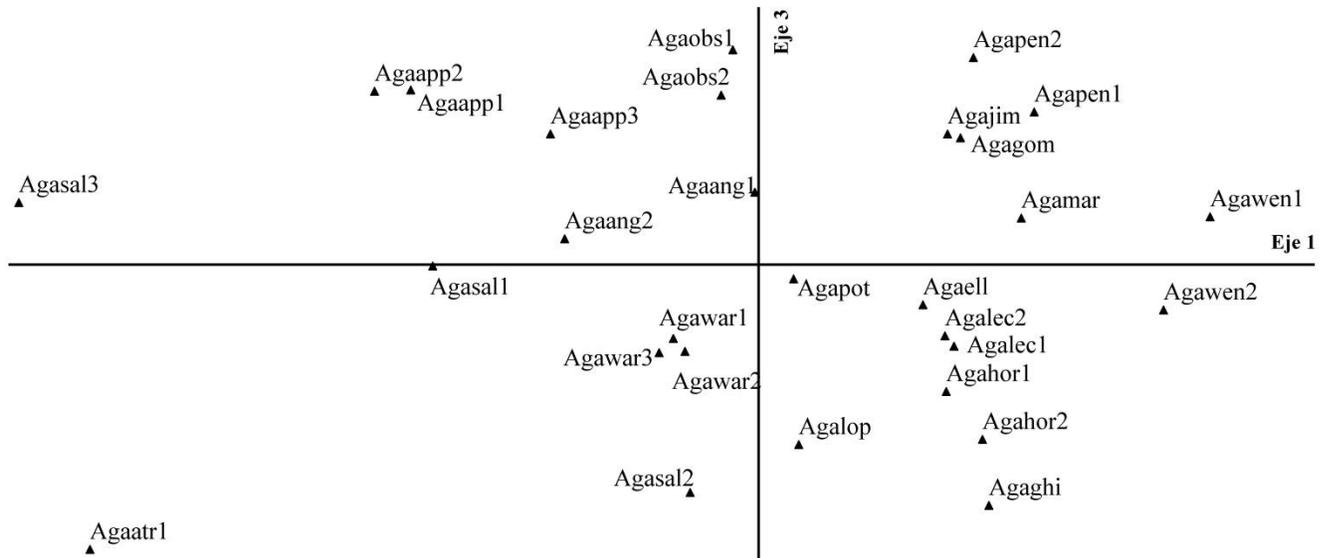


Fig. 5. Representación bidimensional de los componentes CP1 y CP3 derivado del análisis de 29 poblaciones y 30 caracteres morfológicos cuantitativos de *Agave s.s.* en Veracruz y áreas aledañas de Puebla.

DISCUSIÓN

El presente estudio permite reconocer claramente 17 especies en el estado de Veracruz y zonas adyacentes de Puebla, con la excepción de la población Agawen1 que fue determinada como *A. aff. wendtii*, sin embargo, es necesario llevar a cabo un estudio más detallado para confirmar la identidad taxonómica de estos individuos.

Los dos mayores grupos en el dendrograma (subgéneros *Agave* y *Littaea*) y sus subgrupos corresponden con la más aceptada clasificación morfológica tradicional (Gentry, 1982). Algunas características vegetativas tales como el tamaño y forma de las denticulas, espinas y hojas han sido usadas para la separación e identificación de especies dentro de complejos taxonómicos (Rodríguez-Garay *et al.*, 2009; Figueredo *et al.*, 2014).

Los análisis de agrupamiento y de componentes principales mostraron la formación de subgrupos en ambos subgéneros donde las especies pertenecientes a diferentes secciones están combinadas. En *Agave* los subconjuntos (Agaatr1-Agasal3) y (Agapot-Agasal1-Agasal2) comparten especies de las secciones Salmianae y Hiemiflorae y en *Littaea* se observa la disociación de *A. obscura* y *A. warelliana* del resto de las especies de la sección Polycephalae.

La sección Rigidae en Veracruz está claramente identificada y es representada por *A. angustifolia*. La variabilidad morfológica que presentan las poblaciones analizadas no fue suficiente para reconocer categorías infraespecíficas. Es necesario incrementar el número de poblaciones analizadas para verificar la existencia de algunas de las variedades descritas para esta especie, la cual tiene la mayor amplitud de variación morfológica y distribución geográfica en México (Gentry, 1982; García-Mendoza, 2011).

Las poblaciones de *A. salmiana* subsp. *salmiana* y *A. salmiana* subsp. *crassispina* son claramente reconocibles. La subsp. *crassispina* difiere de la variedad *salmiana*, en general, en el tamaño de la planta, forma y tamaño de las hojas y espinas, largo de la inflorescencia, tamaño de las brácteas del escapo y flores. La subespecie *crassispina* representa la forma silvestre de *A. salmiana*, mientras que la subsp. *salmiana* es un conjunto de formas cultivadas principalmente para la elaboración de aguamiel y “pulque”; esta subespecie presenta una gran plasticidad morfológica debido al proceso de domesticación al que ha estado sujeta (Gentry, 1982; Thiede, 2001; García-Mendoza, 2011; Mora-López *et al.*, 2011).

El subgénero *Littaea* contiene el mayor número de especies (12) de *Agave s.s.* en Veracruz. El análisis de agrupamiento indicó una alta diferenciación morfológica de *A. ellemeetiana* con respecto a los otros taxa. Thiede (2014) reconoció la subsp. *subdentata*, la cual está restringida a la Sierra Madre del Sur en el estado de Oaxaca, esta subespecie no fue registrada en Veracruz, sin embargo, debido a los pocos especímenes de *A. ellemeetiana* colectados en el estado, su presencia no puede ser descartada.

La sección Polycephalae concentra la mayor riqueza de especies en Veracruz. Las ocho especies de la sección Polycephalae están separadas de acuerdo al análisis de agrupamiento, por el tamaño de sus estructuras florales. La identidad de la población Agawen1 no fue satisfactoria; ésta difiere de la población Agawen2 por la presencia de tallo, margen córneo e inflorescencia hasta de 2 m de alto. Es necesario llevar a cabo un análisis más detallado para reconocer si *A. wendtii* presenta una mayor plasticidad morfológica de lo que ha sido registrado (Cházaro, 1997; Jimeno-Sevilla, 2010) o si las dos poblaciones estudiadas corresponden a entidades diferentes.

El análisis de ordenación por componentes principales reconoce la sección Marginatae formada por cuatro especies morfológicamente semejantes (Gentry, 1982). Sin embargo, Gil-Vega *et al.* (2007) sugieren que la semejanza morfológica de la sección Marginatae no representa necesariamente una relación genética entre sus miembros, por lo que quizá estudios adicionales de morfología y genética contribuyan a establecer la posición taxonómica de estas especies.

CONCLUSIONES

Los análisis multivariados apoyan el reconocimiento de 17 especies de *Agave s.s.* registradas en Veracruz y zonas adyacentes de Puebla, México. Los altos porcentajes de variación observados en los caracteres florales cuantificados apoyan el empleo de las características de la flor como atributos importantes para establecer las semejanzas o diferencias morfológicas que contribuyan a la taxonomía de las especies de *Agave s.s.*

La morfología descrita para algunas especies como *A. jimenoii*, *A. ghiesbreghtii* y *A. gomezpompae* no pudo ser enteramente representada debido a los pocos individuos conocidos, en algunos casos solo se encontró la población localizada en la localidad tipo de la especie.

Es importante mencionar que, de acuerdo con el análisis de componentes principales, entre las características cuantitativas más relevantes en la diferenciación de los taxones, sobresalen la longitud de las flores, longitud de las anteras y el ancho medio de las hojas.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, México (número de beca 618338), otorgada al primer autor para estudios de Maestría en Ciencias.

LITERATURA CITADA

- APG III, The Angiosperm Phylogeny Group. (2009). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161, 122-127.
- APG IV, The Angiosperm Phylogeny Group. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1-20. <http://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Arroyo-Consultchi, G., Terrazas, T., Arias, S., & López-Mata, L. (2010). Delimitación de *Neobuxbaumia mezcalensis* y *N. multiareolata* (Cactaceae) con base en análisis multivariados. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 86, 53-64.
- Avendaño-Arrazate, C., Iracheta-Donjuan, L., Godínez-Aguilar, J., López-Gómez, P., & Barrios-Ayala, A. (2015). Caracterización morfológica de *Agave cupreata*, especie endémica de México. *Phyton*, 84, 148-162.
- Barrientos-Rivera, G., Esparza, E., Segura, H., Talavera, O., Sampedro, M., & Hernández, E. (2019). Caracterización morfológica de *Agave angustifolia* y su conservación en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(3), 655-668. <http://doi.org/10.29312/remexca.v10i3.1554>
- Castro-Castro, A., Rodríguez, A., Vargas-Amado, G., & Ramírez-Delgadillo, R. (2010). Variación morfológica del género *Prochnyanthes* (Agavaceae). *Acta Botánica Mexicana*, 92, 29-49.
- Cházaro, M. (1997). Aclaración sobre *Agave wendtii*. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 42(4), 95.
- Cházaro-Basáñez, M. (1989). Agavaceae del centro de Veracruz y zona limítrofe con Puebla. *Cactáceas y Suculentas Mexicanas*, 34(1), 3-16.
- Cházaro-Basáñez, M., Jimeno-Sevilla, D., Van der Meer, P., & Van Roosbroek, J. (2008). *Agave warelliana* (Agavaceae), a new record from Veracruz, Mexico. *International Cactus Adventures*, 78, 20-30.
- Chung, M., Jones, S., Hamrick, J., & Chung, H. (1991). Morphometric and isozyme analysis of the genus *Hosta* (Liliaceae) in Korea. *Plant Species Biology*, 6(1), 55-69. <http://doi.org/10.1111/j.1442-1984.1991.tb00210.x>
- Colunga-García Marín, P. (1998). Origen, variación y tendencias evolutivas del henequén (*Agave fourcroydes* Lem.). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 62, 109-128. <http://doi.org/10.17129/botsoci.1555>
- Cronquist, A., & Takhtajan, A. (1981). *An integrated System of Classification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press. <https://books.google.com.mx/books?id=EBqflbmcwC>
- Eguiarte, L., Souza, V., & Silva-Montellano, A. (2000). Evolución de la familia Agavaceae: Filogenia, biología reproductiva y genética de poblaciones. *Botanical Sciences*, 66, 131-151. <http://doi.org/10.17129/botsoci.1618>
- Figueredo, C., Casas, A., Colunga-García Marín, P., Nassar, J., & González-Rodríguez, A. (2014). Morphological variation, management and domestication of "maguey alto" (*Agave inaequidens*) and "maguey manso" (*A. hookeri*) in Michoacán, México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10(1), 1-12. <http://doi.org/10.1186/1746-4269--10-66>

- Figueredo-Urbina, C., Casas, A., & Torres-García, I. (2017). Morphological and genetic divergence between *Agave inaequidens*, *A. cupreata* and the domesticated *A. hookeri*. Analysis of their evolutionary relationships. *PLoS ONE*, 12(11), 1-24. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0187260>
- García-Mendoza, A. (2002). Distribution of *Agave* (Agavaceae) in Mexico. *Cactus and Succulent Journal*, 74(4), 177-187.
- García-Mendoza, A. (2011). Agavaceae. En A. García-Mendoza, *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán* (págs. 1-95). México, D.F.: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- García-Mendoza, A., Cházaro-Basáñez, M., Nieto-Sotelo, J., Sánchez Teyer, L., Tapia Campos, E., Gómez Leyva, J., et al. (2017). *Agave*. En A. Gschaedler, *Panorama del aprovechamiento de los Agaves en México* (págs. 15-68). Guadalajara, México: Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C.
- Gentry, H. (1982). *Agaves of Continental North America*. Tucson, AZ: The University of Arizona Press.
- Gil-Vega, K., Díaz-Quezada, C., Nava-Cedillo, A., García-Mendoza, A., & Simpson, J. (2007). Análisis AFLP del género *Agave* refleja la clasificación taxonómica basada en caracteres morfológicos y otros métodos moleculares. En A. Colunga-García Marín, A. Larqué, L. Eguiarte, & D. Zizumbo-Villarreal, *En lo ancestral hay futuro: del tequila, los mezcales y otros agaves* (págs. 23-40). Mérida, Yucatán: Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.
- Gonzalo, R., Aedo, C., Nickrent, D., & García, M. (2012). A numerical taxonomic investigation of *Stipa* Sect. *Smirnovia* and Sect. *Subsmirnovia* (Poaceae). *Systematic Botany*, 37(3), 655-670.
- Gutiérrez, J., Terrazas, T., & Luna-Vega, I. (2017). Morphometric analysis of *Milla biflora* (Asparagaceae: Brodiaeoideae), with and identification key for *Milla*. *Plant Ecology and Evolution*, 150(1), 76-86.
- INEGI. (2010). Compendio de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, 2010. Aguascalientes, Aguascalientes, México. Recuperado el 14 de Junio de 2023, de Compendio de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos, 2010. inegi.org.mx/app/biblioteca/ficha.html?upc=702825293192
- Jimenez-Pérez, N., & Lorea-Hernández, F. (2009). Identity and delimitation of the American species of *Litsea* Lam. (Lauraceae): a morphological approach. *Plant Systematics and Evolution*, 283, 19-32. <https://doi.org/10.1007/s00606-009-0218-0>
- Jimeno-Sevilla, D. (2010). Especies endémicas: *Agave wendtii* Cházaro. En A. Gómez-Pompa, T. Krömer, & Castro-Cortez, *Atlas de la flora de Veracruz: un patrimonio natural en peligro* (págs. 100-102). Veracruz: Gobierno del Estado de Veracruz, Comisión del estado de Veracruz para la Conmemoración de la Independencia Nacional.
- McCune, B., & Mefford, M. (2011). *PC-ORD, Multivariate Analysis of Ecological Data*. Oregon: MjM Software.
- Mora-López, J., Reyes-Agüero, J., Flores-Flores, J., Peña-Valdivia, C., & Aguirre-Rivera, J. (2011). Variación morfológica y humanización de la sección *Salmianae* del género *Agave*. *Agrociencia*, 45(4), 465-477.
- Palacio, F., Apodaca, M., & Crisci, J. (2020). *Análisis multivariado para datos biológicos: teoría y su aplicación utilizando el lenguaje R*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Fundación de Historia Natural Félix de Azara.
- Parker, K., Trapnell, D., Hamrick, J., & Hodgson, W. (2014). Genetic and morphological contrasts between wild and anthropogenic populations of *Agave parryi* var. *huachucensis* in south-eastern Arizona. *Annals of Botany*, 113(6), 939-952. <http://doi.org/10.1093/aob/mcu016>

Recibido:
2/febrero/2023

Aceptado:
16/junio/2023

- Peirson, J., Cantino, P., & Ballard Jr, H. (2006). A taxonomic revision of *Collinsonia* (Lamiaceae) based on phenetic analyses of morphological variation. *Systematic Botany*, 31(2), 398-409.
- Poulsen, A., & Nordal, I. (2005). A phenetic analysis and revision of Guineo-Congolese rain forest taxa of *Chlorophytum* (Anthericaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 148, 1-20. <http://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2005.00386.x>
- Radford, A., Dickinson, W., Masey, J., & CR, B. (1974). *Vascular plant systematics*. New York: Harper & Row. <https://books.google.com.mx/books?id=fMcnAAAAYAAJ>
- Ritchie, W. (2012). *Taxonomy and DNA Barcoding in the Genus Manfreda (Salisb.) Asparagaceae*. [PhD thesis]. Little Rock: University of Arkansas.
- Rodríguez-Garay, B., Lomelí-Sención, J., Tapia-Campos, E., Gutiérrez-Mora, A., García-Galindo, J., Rodríguez-Domínguez, J., y otros. (2009). Morphological and molecular diversity of *Agave tequilana* Weber var. Azul and *Agave angustifolia* Haw. var Lineño. *Industrial Crops and Products*, 29(1), 220-228.
- Solano, E. (2000). *Sistemática del género Polianthes L. (Agavaceae)*. [Tesis de Doctor en Ciencias]. México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Sosa, V., & Gómez-Pompa, A. (1994). Lista florística. En V. Sosa, *Flora de Veracruz Fascículo 82* (págs. 1-82). Xalapa, Veracruz: Instituto de Ecología, A.C., México y University of California, Riverside.
- Stevens, P. (2001). *Angiosperm Phylogeny Website, version 14*. Recuperado el 25 de Junio de 2018 <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>
- Thiede, J. (2001). Agavaceae. En U. Eggli, *Illustrated Handbook of Succulent Plants Monocotyledons* (págs. 5-102). Berlin: Springer.
- Thiede, J. (2014). A review of *Agave ellemetiana* K. Koch (Asparagaceae/ Agavaceae). *Bradleya*, 32(32), 146-163. <http://doi.org/10.25223/brad.n32.2014.a7>
- Trelease, W. (1920). Amaryllidaceae. En P. Standley, *Trees and Shrubs of Mexico* (págs. 105-142). Washington: Contributions from the United States National Herbarium. <http://doi.org/10.1038/Ejcn.2010.91>
- Villaseñor, J. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 559-902. <http://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.017>

Apéndice 1. Condiciones de clima, suelo y vegetación de las localidades de recolecta de las especies de *Agave* consideradas en el presente trabajo.

Especie	Localidad, Municipio	Clima	T °C	Precipitación	Suelo	Vegetación
<i>A. angustifolia</i> Haw.	Alvarado, Alvarado	Cálido subhúmedo	24-28	1400-2100	Gleysol	Pastizal
<i>A. angustifolia</i> Haw.	Villa Rica, Actopan	Cálido subhúmedo	20-26	1100-1300	Phaeozem y vertisol	Pastizal
<i>A. applanata</i> Hort. ex K.Koch	Los Humeros, Chignautla*	Templado subhúmedo	13-15	600-1600	Regosol, andosol	Pastizal, bosque
<i>A. applanata</i> Hort. ex K.Koch	Cerro del Vigía, Mastaloyan, Chignautla*	Templado subhúmedo	13-15	600-1600	Regosol, andosol	Pastizal, bosque
<i>A. applanata</i> Hort. ex K.Koch	Tepeyahualco, Tepeyahualco*	Semiseco templado	12-16	300-700	Regosol, leptosol	Pastizal, matorral
<i>A. atrovirens</i> var. <i>mirabilis</i> (Trel.) Gentry	Tepozteco, Villa Aldama	Templado subhúmedo	12-16	600-1100	Arenosol, andosol	Bosque
<i>A. ellemeetiana</i> K. Koch	El Precipicio, Zongolica	Semicálido húmedo	14-26	2400-3100	Luvisol, acrisol	Selva
<i>A. ghiesbreghtii</i> Hort. ex Jacobi	Maltrata, Maltrata	Templado subhúmedo	12-20	500-1100	Andosol	Bosque
<i>A. gomezpompae</i> Cházaro & Jimeno-Sevilla	Divino Rostro, Amatlán	Cálido húmedo	20-24	1900-2600	Vertisol, leptosol	Selva
<i>A. horrida</i> Lem. ex Jacobi subsp. <i>perotensis</i> B. Ulrich	Cerro del Vigía, Perote	Semiseco templado	02-14	300-1300	Arenosol, andosol	Bosque, matorral
<i>A. horrida</i> Lem. ex Jacobi subsp. <i>perotensis</i> B. Ulrich	Totalco, Perote	Semiseco templado	02-14	300-1300	Arenosol, andosol	Bosque, matorral
<i>A. jimenoii</i> Cházaro & A. Vázquez	El Encanto, Tlapacoyan	Cálido húmedo	22-24	1900-3600	Phaeozem	Pastizal
<i>A. lechuguilla</i> Torr.	Santiago, Huayacocotla	Templado húmedo	12-22	500-2600	Cambisol, regosol	Bosque, pastizal
<i>A. lechuguilla</i> Torr	El Zapote, Huayacocotla	Templado húmedo	12-22	500-2600	Cambisol, regosol	Bosque, pastizal
<i>A. lophantha</i> Schiede	Almolonga, Alto Lucero	Cálido subhúmedo	14-26	1100-1600	Phaeozem, vertisol	Pastizal, bosque
<i>A. maria-patriciae</i> Cházaro & Arzaba	Sierra de Monte de Oro,	Cálido subhúmedo	14-26	1100-1600	Phaeozem, vertisol	Bosque, pastizal

<i>A. obscura</i> Schiede	Alto Lucero La Joya, Acajete	Templado húmedo	10-18	1400-1600	Andosol	Bosque
<i>A. obscura</i> Schiede	Barranca Las Minas, Las Minas	Templado húmedo	12-20	1100-1600	Andosol	Bosque
<i>A. pendula</i> Schnittsp.	Trapiche de Rosario, Actopan	Cálido subhúmedo	20-26	1100-1300	Phaeozem, vertisol	Pastizal
<i>A. pendula</i> Schnittsp.	Cascada Xoltepec, E. Zapata	Cálido subhúmedo	20-26	900-1300	Phaeozem, vertisol	Pastizal
<i>A. potatorum</i> Zucc.	El Rincón, Maltrata	Templado subhúmedo	12-20	500-1100	Andosol	
<i>A. salmiana</i> Otto ex Salm- Dyck subsp. <i>salmiana</i>	Frijol Colorado, Perote	Semiseco templado	02-14	300-1300	Arenosol, andosol	Bosque, matorral
<i>A. salmiana</i> subsp. <i>crassispinata</i> (Trel. ex L.H. Bailey) Gentry	Frijol Colorado, Perote	Semiseco templado	02-14	300-1300	Arenosol, andosol	Bosque, matorral
<i>A. salmiana</i> subsp. <i>crassispinata</i> (Trel. ex L.H. Bailey) Gentry	Las Blancas, Huayacocotla	Templado húmedo	12-22	500-2600	Cambisol, regosol	Bosque, pastizal
<i>A. warelliana</i> Hort. ex Baker	Cañada río Ayohuxtla, Calchualco	Templado húmedo	1-19	900-1600	Andosol	Bosque
<i>A. warelliana</i> Hort. ex Baker	Piedra del águila, Camerino Mendoza	Templado húmedo	14-20	900-1600	Luvisol	Bosque
<i>A. warelliana</i> Hort. ex Baker	Petalcalca, San AndrésTenejapan	Templado húmedo	14-20	1900-2100	Luvisol	Bosque
<i>A. aff. wendtii</i>	Río Chalchijapa, Uxpanapa	Cálido húmedo	18-26	2900-3100	Luvisol, acrisol	Selva
<i>A. wendtii</i> Cházaro	El Encajonado, Uxpanapa	Cálido húmedo	18-26	2900-3100	Luvisol, acrisol	Selva

**VARIACIÓN CLINAL DE
CARACTERES FENOTÍPICOS Y
FISIOLÓGICOS EN *Pinus hartwegii*
Lindl. PARA LA ESTACIÓN
FORESTAL EXPERIMENTAL
ZOQUIAPAN, MÉXICO**

**CLINAL VARIATION OF
PHENOTYPIC AND PHYSIOLOGICAL
CHARACTERS IN *Pinus hartwegii* Lindl.
FOR THE ZOQUIAPAN EXPERIMENTAL
FOREST STATION, MEXICO**

**López López, Adrián; María Isabel Palacios Rangel; Cuauhtémoc Sáenz Romero;
Antonio Villanueva Morales y Victoria Pacheco Almaraz**

VARIACIÓN CLINAL DE CARACTERES FENOTÍPICOS Y FISIOLÓGICOS EN *Pinus hartwegii* Lindl. PARA LA ESTACIÓN FORESTAL EXPERIMENTAL ZOQUIAPAN, MÉXICO

CLINAL VARIATION OF PHENOTYPIC AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERS IN *Pinus hartwegii* Lindl. FOR THE ZOQUIAPAN EXPERIMENTAL FOREST STATION, MEXICO



Variación clinal de caracteres fenotípicos y fisiológicos en *Pinus hartwegii* Lindl. para la Estación Forestal Experimental Zoquiapan, México

Clinal variation of phenotypic and physiological characters in *Pinus hartwegii* Lindl. for the Zoquiapan Experimental Forest Station, Mexico

López López, Adrián;
María Isabel Palacios Rangel;
Cuahtémoc Sáenz Romero;
Antonio Villanueva Morales y
Victoria Pacheco Almaraz

VARIACIÓN CLINAL DE
CARACTERES FENOTÍPICOS Y
FISIOLÓGICOS EN *Pinus
hartwegii* Lindl. PARA LA
ESTACIÓN FORESTAL
EXPERIMENTAL ZOQUIAPAN,
MÉXICO

CLINAL VARIATION OF
PHENOTYPIC AND
PHYSIOLOGICAL
CHARACTERS IN *Pinus
hartwegii* Lindl. FOR THE
ZOQUIAPAN EXPERIMENTAL
FOREST STATION, MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 61-79. Julio 2023

DOI:
10.18387/polibotanica.56.4

Adrián López López

María Isabel Palacios Rangel / marisa@ciestaam.edu.mx

División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo,
Km 38.5 carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230.

Cuahtémoc Sáenz Romero

Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales.
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. San Juanito Itzicuario s/n,
Col. Nueva Esperanza, Morelia, Michoacán, 58337, México.

Antonio Villanueva Morales

División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5 carretera
México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230.

Victoria Pacheco Almaraz

Centro de Investigaciones Económicas Sociales y Tecnológicas de la Agroindustria y la
Agricultura Mundial. Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5
carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. C. P. 56230.

RESUMEN: En México, las bajas tasas de supervivencia de planta en reforestaciones merman los esfuerzos de restauración ecológica, a pesar de ser una actividad clave en la recuperación de hábitats, de biodiversidad o de servicios ecosistémicos. Una de las razones es el uso de procedencias inadecuadas. Esto influye en la resistencia a frío y sequía, o en la velocidad de crecimiento, por lo que el germoplasma utilizado en reforestaciones debería ser (si es posible) de la misma zona geográfica y altitudinal o de menor altitud que el sitio a reforestar, para compensar los efectos del cambio climático y aumentar la probabilidad de éxito en el establecimiento de individuos. Los objetivos del trabajo se centraron en determinar la variación que existe entre procedencias para rasgos fenotípicos de conos, semillas y acículas; en identificar si esto obedece a un cline ambiental, y en delimitar las zonas provisionales para el abastecimiento de germoplasma. El muestreo se realizó en ocho procedencias naturales de *Pinus hartwegii*, originadas cada 50 m de diferencia altitudinal, a lo largo de un transecto altitudinal (de 3265 metros a 3650 metros), en el cerro "El Papayo", Ixtapaluca, Estado de México, México. Se analizó la variación entre procedencias y su patrón altitudinal. De las características analizadas (largo y ancho de semilla, largo de cono y longitud mayor de acícula; capacidad y velocidad germinativas) solo el *largo de semilla* ($p = 0.0058$) y la *capacidad germinativa* ($p < 0.0001$) indicaron diferencias entre procedencias. El patrón de distribución altitudinal resultó ser cuadrático para el *largo de semilla* ($p = 0.0144$ y un $r^2 = 0.88$) y para la *capacidad germinativa* ($p = 0.0456$ y un $r^2 = 0.7865$). Se delimitaron dos zonas para el abastecimiento y movimiento de germoplasma con anchos de 200 m de altitud y 1 °C de temperatura media anual. Se estimó un incremento en la temperatura media anual de 2.3 °C para el año 2060 con un RCP de 6.0 y un movimiento altitudinal ascendente de las poblaciones de 400 m para compensarlo. Finalmente se sugieren lineamientos para el movimiento de germoplasma dentro y entre zonas con y sin considerar el cambio climático.

Palabras clave: Zonificación, cambio climático, movimiento de germoplasma, supervivencia de planta.

ABSTRACT: In Mexico, low plant survival rates in reforestations undermine ecological restoration efforts, despite being a key activity in the recovery of habitats, biodiversity or ecosystem services. One of the reasons is the use of unsuitable provenances. This influences resistance to cold and drought, or the speed of growth, so the germplasm used in reforestations should be (if possible) from the same geographical and altitudinal zone or lower altitude than the site to be reforested, to compensate for the effects of climate change and increase the probability of success in the establishment of individuals. The objectives of the work focused on determining the variation that exists among provenances for phenotypic traits of cones, seeds and needles, on identifying whether this is due to an environmental cline, and on delimiting provisional zones for germplasm supply. Sampling was carried out in eight natural provenances of *Pinus hartwegii*, originated every 50 m of altitudinal difference, along an altitudinal transect (from 3265 m to 3650 m), in the hill "El Papayo", Ixtapaluca, State of Mexico, Mexico. Variation among provenances and their altitudinal pattern was analyzed. Of the characteristics analyzed (seed length and width, cone length and aculeus length, germination capacity and speed), only seed length ($p = 0.0058$) and germination capacity ($p < 0.0001$) indicated differences between provenances. The altitudinal distribution pattern was quadratic for seed length ($p = 0.0144$ and $r^2 = 0.88$) and germination capacity ($p = 0.0456$ and $r^2 = 0.7865$). Two zones were delimited for germplasm supply and movement with widths of 200 m altitude and 1 °C mean annual temperature. An increase in mean annual temperature of 2.3 °C was estimated for the year 2060 with an RCP of 6.0 and an upward altitudinal movement of the populations of 400 m to compensate for it. Finally, guidelines for germplasm movement within and between zones with and without considering climate change are suggested.

Key words: Zonation, climate change, germplasm movement, plant survival.

INTRODUCCIÓN

Uno de los pasos esenciales durante los proyectos de restauración es la selección de las especies a utilizar (Vargas Ríos, 2011). En México algunos aspectos tomados en cuenta durante la restauración de ecosistemas terrestres han sido, entre otros, favorecer la regeneración natural, así como la selección de material biológico nativo (Méndez-Toribio *et al.*, 2018). Sin embargo, a pesar de esto las bajas tasas de supervivencia del material vegetativo integrado, después del primer año de haber sido plantado, empañan este tipo de opciones como las únicas preferentes.

Aunque existen diversos factores sociales y económicos que pueden mermar la persistencia del material vegetativo utilizado en programas de reforestación u otras acciones de restauración forestal, en el ámbito técnico las posibles razones de la baja supervivencia observada es la utilización de especies y procedencias inadecuadas, por lo que se ha sugerido diversificar las especies y procedencias producidas en viveros, así como establecer ciertos criterios encaminados a mejorar los niveles de ajuste de los genotipos a los ambientes, y realizar acciones encaminadas a mejorar la conservación de los recursos genéticos forestales (Sáenz-Romero & Linding-Cisneros, 2004).

En particular, preocupa la conservación de los recursos genéticos derivados del *Pinus hartwegii*. Esto está relacionado con diversos efectos causados por el cambio climático que han afectado, significativamente, a la distribución de hábitats adecuados para ésta, y otras especies de coníferas, situación que se según Gómez-Pineda *et al.*, (2020) afectará de forma más alarmante, hacia finales de este siglo.

En la actualidad se ha reportado que existe una importante diferenciación genética entre poblaciones de *P. hartwegii*, a lo largo de gradientes ambientales heterogéneos. En ese sentido, Viveros-Viveros *et al.*, (2009) reportaron variación genética en el crecimiento de plántulas de esta especie, provenientes de poblaciones distribuidas a lo largo de un gradiente altitudinal en el Pico de Tancitaro, Michoacán. También, Loya-Rebollar *et al.*, (2013) encontraron diferencias en varios caracteres entre procedencias, indicando la presencia de un patrón de diferenciación

genética atribuido a la altitud, y por tanto al clima. Al respecto Aparicio-Rentería *et al.*, (2020), plantean que resulta necesario realizar investigaciones sobre la variación de los atributos morfológicos (conos, semillas y acículas), ya que esto podría ayudar a delimitar zonas provisionales para el aprovisionamiento y movimiento de germoplasma.

El presente trabajo se centra en el estudio de la relación de caracteres fisiológicos de semillas y fenotipos de *P. hartwegii* asociados con un gradiente altitudinal útil para delimitar zonas preliminares de suministro de germoplasma, con el propósito de que esto sirva de referencia en las actividades de reforestación y conservación de recursos genéticos forestales. La investigación base que da origen al trabajo se realizó en la Estación Forestal Experimental Zoquiapan (EFEZ) de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicada en el Estado de México. Tiene como objetivo determinar el nivel de variación de los caracteres fenotípicos y fisiológicos entre las procedencias (diferentes altitudes) de *Pinus hartwegii* para el tamaño de la semilla, tamaño del cono, longitud de la acícula, capacidad y velocidad de germinación de la semilla, y definir si existe un patrón de variación clinal para estos caracteres en la EFEZ. A la par, se buscó establecer zonas altitudinales para el suministro y movimiento de germoplasma según la variación clinal.

MÉTODOS

Área de estudio

El área de estudio se estableció en la EFEZ, estación de investigación perteneciente a la Universidad Autónoma Chapingo (Fig. 1), ubicada en el municipio de Ixtapaluca, Estado de México, entre las coordenadas 19° 12' 30" y 19° 20' 00" de latitud norte y 98° 42' 30" y 98° 30' 00" de longitud oeste. Su clima es templado subhúmedo con lluvias en verano y estación seca en invierno; presenta una temperatura media anual de 11 °C y una precipitación media anual de 964 mm. La vegetación predominante es bosque de pino, bosque de oyamel, bosque de aile y pastizales (Universidad Autónoma Chapingo, 2020).

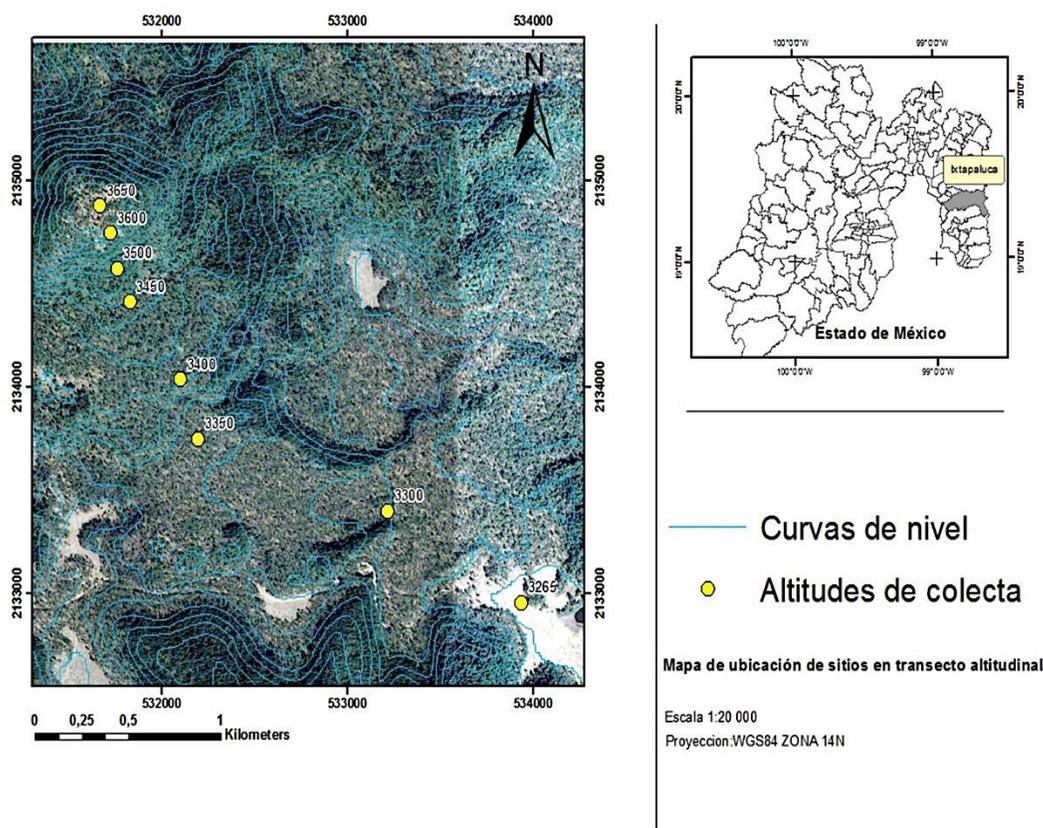


Fig. 1. Ubicación del área de estudio y transecto altitudinal.

Diseño de muestreo

Entre los meses de marzo y mayo de 2022, de forma aleatoria se recolectó material biológico consistente en cinco conos femeninos, maduros y sanos por árbol, de la misma manera se cortaron de la mitad inferior de copa cinco ramas con fascículos maduros (con un ciclo de crecimiento), de las cuales se eligió un fascículo por cada una, al que se le midió la acícula más larga, en un transecto altitudinal (de 3265 a 3650 msnm) que incluyó la variación existente entre las procedencias de *Pinus hartwegii*, en el polígono seleccionado. Se consideró como exposición cardinal promedio la sudeste y una zona en la cual la especie se distribuye de manera natural en el cerro nombrado localmente como “El Papayo”.

Con ayuda de un Sistema de Posicionamiento Global (GPS) (GARMIN, Map 78s), se ubicaron las procedencias recolectadas en promedio cada 50 m de altitud (Tabla 1). Se muestrearon ocho procedencias, excepto la procedencia de 3550 m de altitud, por tener baja densidad de árboles, pocos estróbilos femeninos maduros y ser de difícil acceso. En cada procedencia, se seleccionaron al azar de cinco a 10 árboles, con una distancia mínima de 30 m entre ellos para reducir la probabilidad de parentesco (Erickson & Adams, 1989).

Tabla 1. Localización geográfica en UTM de ocho procedencias muestreadas de *P. hartwegii* en la EFEZ, Ixtapaluca, Estado de México, México.

Procedencia	Altitud (m)	Latitud (norte)	Longitud (oeste)	No. de árboles
1	3650	19.307481	-98.698560	10
2	3600	19.306261	-98.698033	7
3	3500	19.304712	-98.697707	5
4	3450	19.303265	-98.697050	9
5	3400	19.299849	-98.694478	7
6	3350	19.297305	-98.693561	6
7	3300	19.294050	-98.683872	10
8	3265	19.290031	-98.676982	7

Toma de datos

Variables morfológicas

Las variables morfológicas evaluadas fueron: longitud de conos, longitud de acículas, largo y ancho de semillas. Con la ayuda de un vernier digital (STEREN, HER-411) se midieron los conos desde la base hasta la punta; de esta forma se obtuvo la longitud de cada cono por árbol y por procedencia. Igualmente, con la ayuda de una regla graduada, se midió la acícula más larga de cada uno de los cinco fascículos de cada árbol y se ordenaron por procedencia. En cuanto a las semillas, en cada procedencia se recogió la semilla obtenida de sus respectivos árboles y se mezclaron las semillas de los árboles de cada procedencia. De ésta se seleccionaron 90 semillas llenas (obtenida a partir de flotación en agua, donde las semillas sumergidas se consideraron llenas y las que flotaron vanas) al azar de cada procedencia. Las semillas seleccionadas se midieron tanto en largo (de la base a la punta) como en anchura (parte más ancha) con la ayuda del vernier digital.

Prueba de germinación

La prueba de germinación se realizó en una cámara de germinación, acondicionada con bombillas eléctricas domésticas de diferentes voltajes para ajustar la temperatura a una media de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$. En recipientes de plástico de 30 cm de largo por 20 cm de ancho por 15 cm de alto se vertió perlita como sustrato, que fue previamente desinfectada con el fungicida-bactericida OxiDate 2.0® (BioSafe Systems, LLC, USA) a una dosis de 1 ml/l de agua, se agitó la solución con el sustrato y se dejó reposar durante 3 días con el recipiente tapado. La semilla se remojó durante 24 h en agua corriente y luego se desinfectó con el fungicida CAPTANE 50 PH® (Agroquímica Tridente S.A de C.V., México) a una dosis de 3 g/l de agua filtrada durante 30 minutos.

Se utilizó un total de 100 semillas por procedencia, mediante un Diseño experimental en bloques completos al azar, se consideró a 25 semillas en cada bloque una réplica, por lo que en total fueron cuatro bloques en los cuales la semilla se sembró al azar dentro de una franja (el bloque contuvo ocho franjas, una para cada procedencia).

El ensayo tuvo una duración de 40 días en los que la lectura de la germinación se realizó diariamente durante dos semanas (tiempo en el que se presentó una germinación constante), y posteriormente cada tercer día, ya que la germinación fue esporádica. El criterio para considerar una semilla germinada fue el agronómico (emergencia y desarrollo de una plántula) (Pita-Villamil & Pérez-García, 1998). Los datos de *capacidad germinativa* (%) fueron obtenidos con

la siguiente fórmula, y la *velocidad de germinación* contando los días necesarios para alcanzar el 50% de la capacidad germinativa, ambos para cada procedencia.

$$cg = (sg \times 100) \div ts$$

Donde:

cg = capacidad germinativa en porcentaje.

sg = número de semillas germinadas.

ts = total de semillas sembradas.

Procesamiento y análisis de datos

Para análisis de los datos de las variables morfológicas, capacidad *germinativa* y *velocidad de germinación* se empleó el software estadístico SAS (versión 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Para la velocidad de germinación se realizó una comparación de medias utilizando el programa IBM SPSS Statistics© versión 25.

Variabes morfológicas

Para determinar la existencia de variación entre procedencias se realizó un análisis de varianza con el procedimiento Proc Mixed de SAS, para cada una de las variables fenotípicas (*longitud de la acícula*, *longitud del cono*, *largo* y *ancho de la semilla*), usando un nivel de significancia $\alpha = 0.05$, donde el modelo utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + A(P)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

Y_{ijk} = valor de la ijk -ésima observación

μ = media general del experimento

P_i = efecto de la i -ésima procedencia

$A(P)_{ij}$ = efecto del j -ésimo árbol anidado en la i -ésima procedencia

ε_{ijk} = término de error aleatorio

El mismo procedimiento se utilizó para obtener los componentes de la varianza en los efectos considerados como aleatorios (árbol anidado en la procedencia y error aleatorio). Posteriormente, para visualizar qué procedencias diferían entre sí, se realizó la comparación de medias con el método de Tukey-Kramer, usando en este caso un nivel de significancia de 0.2 (valor de α considerado para determinar la zonificación descrita posteriormente).

Diseño experimental para la prueba de germinación

El modelo estadístico de análisis utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + P_j + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ijk} = valor de la ijk -ésima observación

μ = media general del experimento

B_i = efecto del i -ésimo bloque

P_j = efecto de la j -ésima procedencia (altitud)

ε_{ij} = término de error aleatorio

Para estimar la variación entre procedencias se utilizó el procedimiento de SAS Proc Glimmix para la variable *capacidad germinativa*, y Proc Freq (para obtener la prueba no paramétrica de Friedman) para la variable *velocidad de germinación* usando un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$. Asimismo, para esta variable se realizó la prueba no paramétrica de Wilcoxon, que permitió la comparación de medias entre procedencias con un $\alpha = 0.1$.

Posteriormente, para observar el posible comportamiento clinal a lo largo del transecto altitudinal, se realizaron diagramas de dispersión de los porcentajes medios de *capacidad*

germinativa y de los valores medios de *velocidad de germinación* frente a sus respectivas altitudes de origen, ajustando un modelo de regresión a los datos según su significación ($\alpha = 0.05$) y su coeficiente de determinación (r^2).

Zonificación

Zonificación altitudinal

Para los análisis de varianza de las variables morfológicas en los que existió diferencia significativa entre procedencias se calculó la Diferencia Mínima Significativa, DMS (Least Significant Difference: LSD) entre medias correspondiente a un $\alpha = 0.2$. Para observar si existía un patrón altitudinal de la variación entre procedencias, se realizó una regresión entre las medias por procedencia y su altitud de origen. Finalmente, con base en la variable *largo de semilla* se realizó una zonificación altitudinal provisional considerando un clima contemporáneo (promedio 1961-1990), basado en transferir la DMS entre procedencias a su equivalente en altitud y climática (Sáenz-Romero, 2004).

Zonificación para clima contemporáneo y clima futuro (RCP 6.0)

El clima contemporáneo (temperatura) de referencia utilizado fue el promedio de los años 1961 a 1990. El clima futuro fue el centrado en la década de 2060, estimado por un ensamble de modelos-escenarios, spline para todo Norte América, con una Vía de Concentración Representativa o RCP, con un forzamiento radiactivo de 6.0 W/m^2 . Ambos fueron obtenidos de la plataforma online de Investigación sobre el Cambio Climático Forestal: <http://charcoal.cnre.vt.edu/climate/>. La información proporcionada por esta plataforma se generó a partir de datos originados por el Laboratorio de Ciencias Forestales de Moscow del Servicio Forestal en Idaho, USA, del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, USDA.

Una vez obtenidos los datos climáticos puntuales, se repitió el procedimiento descrito en el apartado "Zonificación altitudinal", pero ahora se cambiaron los datos del eje de abscisas por la temperatura media anual del clima contemporáneo (1961-1990) correspondiente a cada una de las altitudes de origen, obteniendo así una zonificación para el clima contemporáneo. Para la zonificación del clima futuro, también se repitió el procedimiento, pero, los datos del eje de abscisas se cambiaron por la temperatura climática media anual estimada para la década de 2060 (Ortiz-Bibian *et al.*, 2017; Sáenz-Romero *et al.*, 2012).

Una vez definida la zonificación, se sugirieron directrices para la toma de decisiones en el movimiento de germoplasma dentro de las zonas y entre ellas, según se consideraran o no los efectos del cambio climático (Loya-Rebollar *et al.*, 2013).

RESULTADOS

Variables morfológicas

El análisis de la varianza indicó que de las cuatro variables analizadas sólo el *largo de semilla* mostró diferencia significativa entre procedencias a un $\alpha = 0.05$. (Tabla 2) muestra los *P-valores* correspondientes al ANOVA de cada variable.

Tabla 2. *P*-valores asociados al análisis de varianza para procedencias originadas a diferentes altitudes, considerando una significancia de 0.05 y porcentaje de contribución a la varianza total.

Variables	<i>P</i> -valor	Porcentaje de contribución a la varianza total (%)		
		Procedencia	Árbol (Procedencia)	Error
Longitud de cono	0.1054	6.49	56.61	36.89
Longitud de acícula	0.0910	8.25	62.52	29.23
Ancho de semilla	0.2671	2.56	57.06	62.52
Largo de semilla	0.0058	16.82	44.46	38.71

La comparación de pares de medias entre procedencias para el *largo de semilla* indicó que las procedencias ubicadas aproximadamente en la mitad del transecto altitudinal difieren en el valor promedio con respecto a las procedencias ubicadas en los extremos del mismo transecto (Tabla 3), no existiendo diferencias entre las demás comparaciones de pares de medias.

Tabla 3. Comparación de Procedencias originadas a diferentes altitudes que resultaron significativamente diferentes para el Largo de semilla según la prueba de Tukey-Kramer ($\alpha = 0.2$).

Altitud de origen (msnm) / media ajustada (mm)	P-valor	
3650 / 4.49	3400 / 5.09	0.1793
3650 / 4.49	3350 / 5.33	0.0205
3400 / 5.09	3265 / 4.37	0.0834
3350 / 5.33	3265 / 4.37	0.0089

Germinación

El factor procedencia tuvo un efecto altamente significativo ($p < 0.0001$) para la variable respuesta *capacidad germinativa*. En el análisis de regresión, se observó un patrón de variación cuadrático (significativo con la omisión de una procedencia atípica) de los valores medios de germinación contra su altitud de origen ($r^2 = 0.7865$; $p = 0.0456$), reforzando así la existencia de variación clinal en la especie para el *largo de la semilla*.

Sin embargo, para la *velocidad de germinación* se encontró una débil variación significativa ($p = 0.0556$) entre procedencias. La comparación de pares de medias indicó que existe una débil diferencia estadística entre las procedencias 4 (3450 m) y 3 (3500 m) con una $p = 0.059$, 8 (3265 m) y 3 (3500 m) con $p = 0.066$, 5 (3400 m) y 4 (3450 m) con $p = 0.066$ y, 8 (3265 m) y 7 (3300 m) con $p = 0.068$, pero sin un patrón aparente de distribución altitudinal. En la Tabla 4 se muestran los valores obtenidos para las variables fisiológicas de la semilla.

Tabla 4. Valores observados para las variables fisiológicas de la semilla por procedencia.

Procedencia	Altitud (msnm)	Capacidad germinativa (%)	Velocidad de germinación (días)
1	3650	22	14.25
2	3600	65	16.00
3	3500	78	13.25
4	3450	68	15.75
5	3400	90	13.00
6	3350	18	12.33
7	3300	69	14.50
8	3265	34	18

Zonificación altitudinal

El valor de la DMS obtenida considerando un alfa de 0.2 para la variable *largo de semilla* fue de 0.27 mm, que por razones prácticas se redondeó a 0.3 mm. El modelo de regresión cuadrática ($r^2 = 0.88$, $p = 0.0144$) entre la media por procedencia para *largo de semilla* contra su altitud de origen fue el que mejor se ajustó, sin tener en cuenta una altitud atípica (por tener un desempeño muy distinto a la tendencia general) a 3350 msnm (Fig. 2).

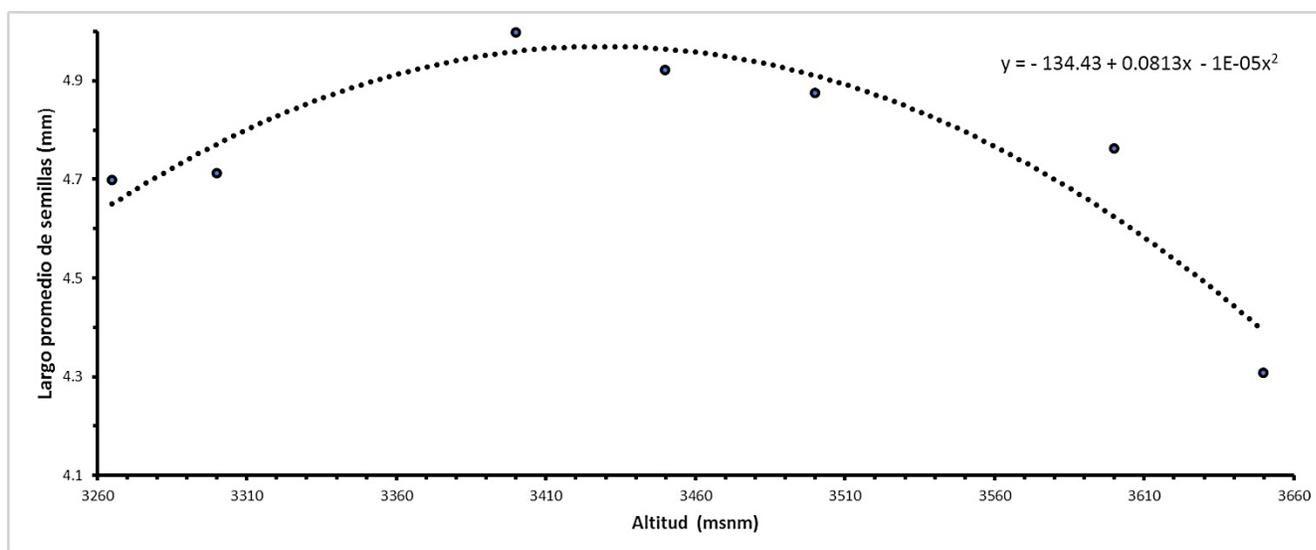


Fig. 2. Comportamiento del *largo promedio de semilla* de *P. hartwegii* respecto a la altitud de origen de siete procedencias en la EFEZ.

Posteriormente, a partir del valor de la DMS, se delimitaron tres zonas altitudinales para el aprovisionamiento y movimiento de germoplasma a lo largo del transecto altitudinal. Debido a que la zona altitudinal más alta cubría un rango muy pequeño (aproximadamente 70 m de diferencia altitudinal), se decidió fusionar las tres zonas en sólo dos zonas, partiendo de una altitud inferior fija de 3250 m como punto de partida. Este punto inicial arbitrario sigue perteneciendo a la distribución altitudinal natural de la especie (Tabla 5).

Tabla 5. Límites altitudinales y climáticos de dos zonas fijas para el aprovisionamiento y movimiento de germoplasma con clima contemporáneo.

Zona	Elevación (m)				Zona	Media anual de temperatura (°C)			
	Límite (m)		Rango (m)	Intervalo (±)		Límite (°C)		Rango (°C)	Intervalo (±)
	Inferior	Superior				Inferior	Superior		
1	3250	3450	200	100	1	8.0	9.0	1.0	0.5
2	3450	3650	200	100	2	7.0	8.0	1.0	0.5

Zonificación para clima contemporáneo y clima futuro (RCP 6.0)

Bajo el mismo razonamiento de simplificación realizado para la zonificación en base a la altitud, para la zonificación climática, la zona número tres (parte más alta del transecto altitudinal) tenía un rango muy estrecho (0.3 °C), por lo que, se decidió fusionarlas dejando solo dos zonas (ver Tabla 5).

En cuanto a la zonificación para el clima proyectado al año 2060, comparando con los límites de las zonas fijas con el clima contemporáneo, se estimó a qué altitudes se tendrían que desplazar las poblaciones para reacomodarse a las temperaturas para las cuales están adaptadas actualmente, pero que ocurrirán a mayor altitud debido al cambio climático. Se estimó que las temperaturas que conforman los límites de las zonas fijas de germoplasma se desplazan altitudinalmente hacia arriba aproximadamente 400 m (Fig. 3).

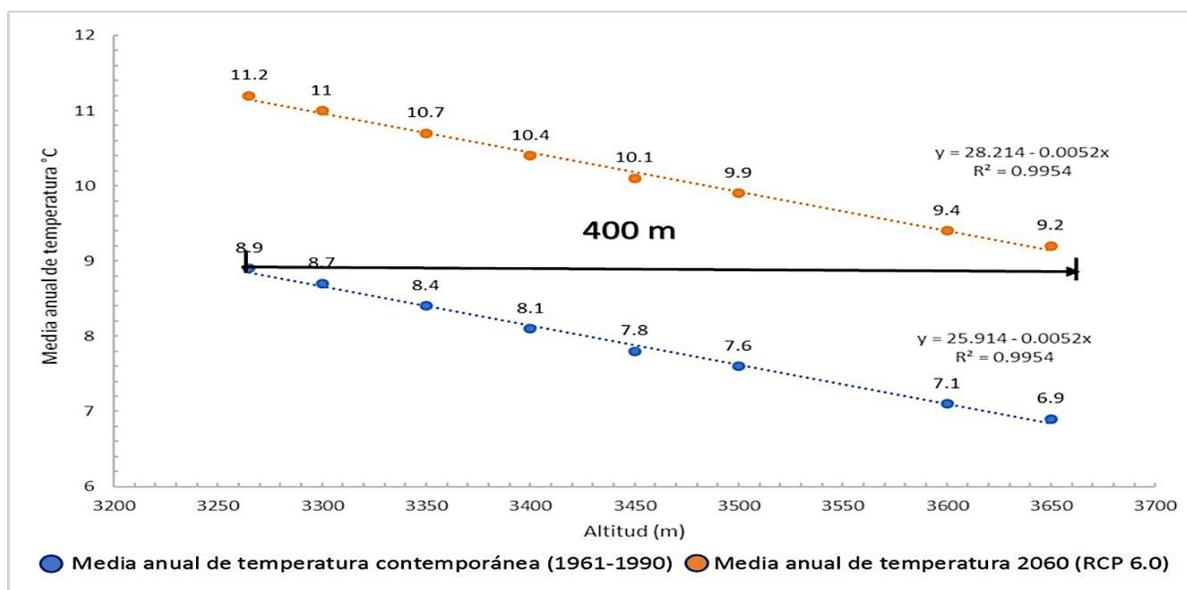


Fig. 3. Proyección del desplazamiento de temperatura contemporánea.

En consecuencia, se esperaría que en aproximadamente cuatro décadas (década centrada en 2060), las zonas climáticas fijas actuales estarían fuera de los límites altitudinales del cerro "El Papayo" (Tabla 6).

Tabla 6. Límites altitudinales y climáticos para dos zonas fijas de germoplasma considerando un clima proyectado al año 2060, RCP 6.0.

Zona	Elevación (m)				Media anual de temperatura (°C)			
	Límite (m)		Rango (m)	Intervalo (±)	Límite (°C)		Rango (°C)	Intervalo (±)
	Inferior	Superior			Inferior	Superior		
1 ₂₀₆₀	3650	3850	200	100	8.0	9.0	1.0	0.5
2 ₂₀₆₀	3850	4050	200	100	7.0	8.0	1.0	0.5

Lineamientos para el movimiento de germoplasma

Las directrices para el abastecimiento y movimiento de germoplasma que se utilizará en actividades de reforestación o restauración ecológica, con base en lo planteado por Loya-Rebollar *et al.*, (2013) serían:

- 1) Sin considerar los inminentes efectos del cambio climático:
 - a) Obtención de germoplasma de una de las zonas fijas, producir plantas en vivero y plantarlas dentro de la misma zona (delimitada ya sea por intervalos altitudinales o climáticos) donde se recolectó el material de propagación.
 - b) Recolectar germoplasma a una altitud **cualquiera dentro del rango natural de distribución de la especie en la región**, producir plantas y plantarlas a intervalos de \pm la mitad del ancho de una zona fija (ver Tabla 5); es decir, ± 100 m hacia arriba o hacia abajo con respecto a la altitud de recolección o ± 0.5 °C con respecto a la temperatura media anual del punto de recolección (zonas de punto focal).
- 2) Si se tienen en cuenta los efectos del cambio climático en la dinámica de las poblaciones de *P. hartwegii*, se debe considerar que las temperaturas actuales a las que se establecen naturalmente las poblaciones se moverán aproximadamente 400 m más arriba (ver Figura 3). Así, los límites climáticos que determinan las zonas fijas para determinar el sitio de plantación se situarán fuera del límite altitudinal del cerro "El Papayo" (3650 m).
- 3) Si se considera que los intervalos climáticos y altitudinales de las zonas futuras₂₀₆₀ son los mismos que los de las zonas contemporáneas, y con el objetivo de realinear poblaciones de *P. hartwegii* a un clima al que actualmente están adaptadas, pero que debido al calentamiento global se espera su desplazamiento a 400 m de altitud más arriba, se recomienda:
 - a) Recolectar germoplasma en una zona contemporánea, producción de planta en vivero y plantarla a 400 m de altitud en promedio más arriba, lo que implica recolectar germoplasma de la zona 1 contemporánea y plantar en la zona 1 futura del año 2060; para la zona 2 contemporánea se debe repetir el proceso descrito para la zona 1.

Cabe mencionar que si las zonas climáticas fijas contemporáneas se desplazaran altitudinalmente fuera de los límites altitudinales del cerro "El Papayo", aún existe la posibilidad de que en el futuro existan condiciones de temperatura adecuadas en el área para las poblaciones de *P. hartwegii* que actualmente se desarrollan a altitudes menores a las consideradas en el transecto altitudinal utilizado en este estudio, y para las cuales podrían transponerse los límites altitudinales o de zona climática aquí delimitados.

DISCUSIÓN

Variables morfológicas

El *largo promedio de semilla* (4.9 mm) encontrado para *P. hartwegii* en este estudio es similar al reportado por Iglesias *et al.*, (2012) y Niembro-Rocas (1992) de 4.9 mm y valores entre 3.4 a 5.4 mm respectivamente. En cuanto al *ancho promedio de semilla* (3.5 mm), éste fue similar al

reportado por Iglesias *et al.*, (2012) de 3.4 mm. Asimismo, estuvo dentro del rango de valores reportado por Niembro-Rocas (1992) de 2 mm a 3.7 mm.

La *longitud promedio del cono* (8.59 cm) fue similar al mostrado por Iglesias *et al.*, (2012) de 7.82 ± 1.1 cm. Asimismo, estuvo dentro del rango de valores descrito por Iglesias-Andreu & Tivo-Fernández (2006) quienes reportaron valores entre 4.2 a 11.7 cm para esta característica. Por su parte, Farjon *et al.*, (1997) los situaron en el rango de 8 a 12 cm.

En cuanto a la *longitud promedio de la acícula más larga* (18.63 cm) fue ligeramente superior al descrito en Guízar-Nolazco (2014) quien indica valores entre 10 y 17 cm, y contrastado drásticamente por lo publicado por Iglesias-Andreu & Tivo-Fernández (2006) quienes indican valores medios para la especie, pero en poblaciones del Cofre de Perote en Veracruz, México de 8.4 ± 1.71 cm, aunque Farjon *et al.* (1997) indican valores de hasta 22 cm de longitud.

En cuanto a la variación morfológica de caracteres con posible valor adaptativo como los estudiados, se plantea que se debe a la plasticidad fenotípica o a la adaptación a diferentes condiciones ambientales o incluso a ambas, como se observó en un estudio realizado en México, relacionado con la variación del tamaño de las hojas para *Quercus rugosa* Nee (Uribe-Salas *et al.*, 2008). Al respecto, se considera que esto podría explicar la variación encontrada en el tamaño de las acículas en el presente estudio con respecto a otros publicados sobre esta especie.

Ahora bien, la diferenciación encontrada entre procedencias para el *largo de semilla* en *P. hartwegii*, también fue reportada por Iglesias *et al.*, (2012) entre las poblaciones del Cofre de Perote y Pico de Orizaba en el estado de Veracruz, México. Cabe decir, a diferencia de ellos en el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas en las variables *longitud de acícula más larga* y *longitud de cono* ($p \leq 0.05$).

Germinación

La existencia de diferencias significativas en la *capacidad germinativa* entre las procedencias de *P. hartwegii* encontradas en este estudio también se han reportado en otras especies de coníferas. Al respecto Ortiz-Bibian *et al.* (2019) para *Abies religiosa*, en Michoacán, México, donde a lo largo de un gradiente altitudinal las procedencias del centro presentaron mayor capacidad germinativa y viabilidad; coincidiendo con este estudio para la *capacidad germinativa* (donde las procedencias de 3400 y 3500 msnm presentaron un 90% y 78% de germinación media respectivamente y una *velocidad de germinación* media de 13 y 13.25 días, respectivamente), siendo las procedencias situadas en los extremos del transecto las de menor porcentaje de germinación media. Estos autores también coinciden con el patrón de variación altitudinal encontrado para la capacidad de germinación, sugiriendo que se debe a las condiciones ambientales que prevalecen en los extremos altitudinales de distribución de la especie, como estrés por heladas (en la parte alta) y eventualmente sequía (en la parte baja).

Montero-Nava (2020) también reportó los valores más altos de germinación en *P. hartwegii* a una altitud de 3400 m (89%), para un transecto altitudinal en Puebla, indicando que los valores de capacidad germinativa disminuían a medida que aumentaba la altitud a partir de esta ubicación (55% a 4000 m), lo que también coincide con lo hallado en el presente estudio (tendencia de menor *capacidad germinativa* promedio).

Cabe mencionar que en el presente estudio se observó que las procedencias de los extremos altitudinales presentaban una menor densidad de árboles de la especie en estudio, lo que podría repercutir en el proceso de polinización, y, por lo tanto, en el desarrollo de las semillas, así como en el proceso de germinación, aunque esto debe tomarse con reserva ya que no se realizaron correlaciones con la densidad de árboles.

Zonificación altitudinal y climática

El patrón de variación altitudinal del *largo promedio de semilla*, indica la existencia de una tendencia (cuadrática) específicamente para el cerro "El Papayo". Según López-Ríos (2009) el óptimo ecológico existente para las especies forestales se sitúa en la parte media de la distribución altitudinal, por lo que hablando de temperatura los valores ecológicos máximos y mínimos se situarían en los extremos altitudinales inferior y superior, respectivamente.

En cuanto a la temperatura se considera que tiene una alta correlación negativa con la altitud, (Fig. 3).

Teniendo en cuenta que los factores ambientales pueden influir en el desarrollo de los individuos en función de la capacidad genética que poseen los taxones en los rangos de tolerancia, se podría inferir que la plasticidad fenotípica de *P. hartwegii* se expresa en este caso, influenciada por la variación de la temperatura a lo largo del gradiente altitudinal, un patrón que ha sido reportado para árboles (Thomas, S. C. 2011), y que posiblemente denote que existe una diferenciación genética entre las procedencias atribuida a la presión de selección ejercida por el mismo cline de temperatura a lo largo del gradiente altitudinal, aunque, no es el único aspecto que influye, ya que hay más factores además de la temperatura que podrían estar interviniendo. Sin embargo, esto último tendría que ser verificado con pruebas que incluyan rasgos cuantitativos con valor adaptativo como lo hicieron Loya-Rebollar *et al.* (2013), quienes determinaron diferencias genéticas entre poblaciones de *P. hartwegii* para diferentes rasgos como: alargamiento total, tasa de alargamiento, altura final de la plántula, diámetro basal, peso seco de acículas, ramas, tallo y peso seco total; mismos que se agruparon en un componente principal y reflejaron un patrón de variación (modelo cuadrático) a lo largo de un gradiente climático-altitudinal.

Asimismo, se reportó que la temperatura media anual, entre otros elementos a considerar, fue una variable climática que resultó significativa debido a que permite predecir los valores medios por población del primer componente principal antes mencionado, lo que coincide con lo encontrado en este trabajo, con un modelo cuadrático ($r^2 = 0.84$, $p = 0.0251$) para el *largo promedio de semilla* por procedencia frente a la temperatura media anual.

Thomas S.C. (2011) indica que las especies arbóreas comúnmente presentan cambios morfológicos y fisiológicos dramáticos cuando se distribuyen a lo largo de gradientes altitudinales, siendo la disminución de la temperatura y su relación con el aumento de altitud el factor que posiblemente más impacta directamente a los procesos fisiológicos de las plantas, ya que con el aumento de altitud se ha encontrado un importante incremento en valores de la fotosíntesis saturada de luz, la conductancia estomática, el nitrógeno foliar, así como la masa foliar por área, y comúnmente el tamaño de las hojas disminuye.

Estos clines climáticos-altitudinales significativos han sido reportados para diferentes especies de coníferas en atributos morfológicos y rasgos cuantitativos, tales como *Pinus devoniana* en Michoacán (Castellanos-Acuña *et al.*, 2013; Sáenz-Romero *et al.*, 2012), *Abies religiosa* (Castellanos-Acuña *et al.*, 2014; Ortiz-Bibian *et al.*, 2017, 2019), *P. patula* en Oaxaca (Viveros-Viveros *et al.*, 2013) y en Veracruz (Aparicio-Rentería *et al.*, 2020).

En este sentido, el rango de altitud y temperatura media anual correspondiente a cada una de las dos zonas delimitadas en este estudio coincidió con el determinado por Loya-Rebollar *et al.* (2013) para la misma especie, y fue el mismo que se especificó por Ruiz-Talonia *et al.* (2014) en *P. patula*, para la altitud. En ambos casos, las zonificaciones se basaron en la diferenciación genética de rasgos cuantitativos, lo cual es similar a lo planteado por Castellanos-Acuña *et al.*, (2014) para *A. religiosa* (250 m).

Lineamientos para movimiento de germoplasma

Una premisa aceptada por la comunidad de investigadores forestales es que la adaptación de las poblaciones arbóreas a ambientes heterogéneos (tanto en el espacio como en el tiempo) depende

de la variación genética que éstas posean, así como de la capacidad que tienen para modificar el fenotipo (a nivel individual) en relación con el ambiente (Chambel *et al.*, 2005). En ese sentido, se considera que cuando el material de propagación disminuye su capacidad de adaptación al enfrentar determinadas condiciones desfavorables presentes en los lugares de plantación, se da una alta mortalidad antes de que los individuos alcancen la edad reproductiva; así como un crecimiento reducido y un descenso en la producción de semillas, e incluso la pérdida de competitividad entre individuos (Thomas *et al.*, 2014).

Bajo el supuesto de que las poblaciones naturales de árboles ocupan su espacio de distribución actual porque están adaptadas a las condiciones ambientales del mismo, como resultado de un largo proceso evolutivo, entonces las directrices sobre el movimiento de germoplasma, sin considerar el cambio climático dentro de la misma zona fija o considerando las zonas de puntos focales, son opciones que se ajustarían al supuesto, ya que se consideran las zonas que proporcionan a las poblaciones arbóreas las condiciones a las que están adaptadas. En consecuencia, el establecimiento de individuos bien adaptados en actividades de reforestación o restauración es más probable que ocurra con más éxito en cada zona, por lo que su uso puede ser una herramienta útil en la gestión forestal.

Por otro lado, no se pueden ignorar los efectos inminentes y potencialmente desastrosos del cambio climático sobre las poblaciones de árboles. En ese sentido, se ha previsto un aumento del fenómeno de la sequía, que afecta el funcionamiento fisiológico de los árboles y por consiguiente los debilita (Del-Val & Sáenz-Romero, 2017; Gómez-Pineda *et al.*, 2022). En el mismo sentido, el aumento proyectado de temperatura media anual promedio para la zona de estudio fue de 2.3 °C (año 2060), lo que puede en un futuro, dificultar los procesos de establecimiento y crecimiento de las plantas, ya que de acuerdo con E. Thomas *et al.* (2014), la presión de selección aumenta cuando el clima es más inhóspito.

La estimación mundial del aumento de la temperatura y su relación con la desviación del lugar de distribución de las poblaciones de varias especies arbóreas ha generado incertidumbre sobre su adaptación a temperaturas más cálidas (Hammond *et al.*, 2022). En México, las coníferas no están exentas de esta situación, en ese sentido, Gómez-Pineda *et al.* (2020) reportaron que para finales de siglo (año 2090) especies como *P. oocarpa* sufrirán una reducción de su hábitat climático propicio de 67%, *P. devoniana* de 58%, *Abies religiosa* de 88%, *P. hartwegii* de 87% con respecto a su área de distribución actual (año 1961-1990) a nivel nacional. Así, para *P. hartwegii* se prevé que para el año 2060 su clima favorable desaparecerá en varias de las montañas donde se distribuye actualmente, y éste aparecerá en montañas que superan los 4300 msnm, como el Nevado de Colima, Nevado de Toluca, Popocatepetl, Iztaccíhuatl, Pico de Orizaba y el Cofre de Perote.

Otros autores como Manzanilla-Quñones *et al.* (2019) reportaron proyecciones de incrementos de temperatura media anual para el Eje Neovolcánico Transversal para el periodo 2041-2060 de entre 0.7 °C y 1.5 °C, con pérdidas del bosque subalpino de *P. hartwegii* de entre 11.7% y 18.3% y, 1.1 °C y 2.1 °C con pérdidas de entre el 18.3% y el 26.9% respecto a su distribución actual, lo que sugiere que para el mismo periodo de tiempo la especie se vería obligada a ascender altitudinalmente entre 100-500 m, lo que coincide con los hallazgos de este estudio, con un desplazamiento de la especie de aproximadamente 400 m para que las poblaciones actuales se vuelvan a acoplar a las condiciones de temperatura a las que están adaptadas.

La migración natural de las poblaciones de algunas especies arbóreas a mayores alturas como posible efecto del cambio climático se ha dado por sentada en México, por ejemplo, para el oyamel (Romahn-Hernández *et al.*, 2020). En el caso de *P. hartwegii*, Alfaro-Ramírez *et al.* (2017) informan que no está claro si la especie podrá migrar altitudinalmente por encima de su límite altitudinal superior, debido a las condiciones ambientales adversas a las que está expuesta la especie en esas alturas.

Sin embargo, aunque las poblaciones pueden migrar altitudinalmente, las tasas de migración pueden ser superadas por las tasas de aumento de la temperatura (Peñuelas *et al.*, 2007), por lo que la migración asistida puede servir como una herramienta con el propósito de reacoplar las poblaciones con sus climas favorables que en el futuro aparezcan en altitudes mayores. Este tipo de acciones han sido probadas en lugares como Canadá (Marris, 2009)) y han sido sugeridas en otros lugares para diferentes especies (Carbajal-Navarro *et al.*, 2019; Loya-Rebollar *et al.*, 2013); donde el uso de plantas nodriza como las del género *Lupinus* en sitios de reforestación a mayor altitud podría ser una estrategia para ayudar al establecimiento de individuos procedentes de áreas fijas ubicadas a menor altitud (Ramírez-Contreras & Rodríguez-Trejo, 2009).

CONCLUSIONES

En la Estación Forestal Experimental Zoquiapan, México, se observa una diferenciación fenotípica (rasgos con posible valor adaptativo) para el largo de semilla, que mostró diferencias entre las procedencias por su altitud dentro de esta población de *P. hartwegii* originadas a lo largo de su transecto natural de distribución altitudinal, donde las procedencias centrales difieren significativamente de las ubicadas en los extremos del transecto climático-altitudinal.

La presencia de un patrón de distribución clinal significativo en los atributos fenotípicos (*largo de semilla y capacidad germinativa*) de *P. hartwegii* con respecto al transecto climático-altitudinal en el cerro “El Papayo”, puede ser utilizado para la delimitación de zonas fijas para el aprovisionamiento y movimiento de germoplasma en actividades de reforestación local.

Se sugiere el uso de las zonas delimitadas con un ancho de 200 m altitudinales o de 1 °C, para actividades de recolección de germoplasma, sin considerar al cambio climático. También, se sugiere un movimiento altitudinal de 400 m hacia arriba de las fuentes de semilla, considerando el cambio climático proyectado al año 2060.

El aumento previsto de la temperatura media anual de 2.3 °C para la década centrada en el año 2060 en la zona de estudio, indica que las poblaciones de *P. hartwegii*, siempre y cuando exista el espacio y las condiciones del suelo lo permitan, necesitarán ayuda para migrar altitudinalmente hacia zonas más altas. Esto no significa necesariamente la desaparición de la especie en la zona, pero sí una mayor presión de selección para las poblaciones actuales que podrían: a) desarrollarse en condiciones menos favorables, con el costo que ello conlleva: menor crecimiento y mayor susceptibilidad al ataque de plagas y enfermedades, o b) la presión de selección eventualmente dejaría sólo a los individuos con la constitución genética adecuada para superar las nuevas condiciones.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Javier López Upton por su apoyo para realizar la prueba de germinación. Al Dr. Ángel Leyva Ovalle por las facilidades otorgadas para realizar el muestreo en la EFEZ y al Ing. Isaac Ramírez Barraza por la ayuda otorgada durante la estancia en la EFEZ.

LITERATURA CITADA

Alfaro-Ramírez, F. U.- Arredondo-Moreno, J. T., Pérez-Suárez, M., y Endara-Agramont, Á. R. (2017). *Pinus hartwegii* Lind. Treeline ecotone: structure and altitudinal limits al Nevado de Toluca, México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 261-273.

- Aparicio-Rentería, A., Viveros-Viveros, H., Hernández-Villa, J., Sáenz-Romero, C., Ruiz-Montiel, C., y Pineda Posadas, J. A. (2020). Zonificación altitudinal de *Pinus patula* a partir de conos y semillas en la sierra de Huayacocotla, Veracruz, México. *Madera y bosques*, 26(2), 1-12.
- Carbajal-Navarro, A. Navarro-Miranda, E., Blanco-García, A., Cruzado-Vargas, A. L., Gómez-Pineda, E., Zamora-Sánchez, C., Pineda-García, O'Neill, G., Gómez-Romero, M., Linding-Cisneros, R., Johnsen, K. H., Lobit, P., Lopez-Toledo, L., Herrerías-Diego, Y., y Sáenz-Romero, C. (2019). Ecological restoration of *Abies religiosa* forest using nurse plants and assisted migration in the Monarch Butterfly Biosphere Reserve, Mexico. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 7(421), 1-16.
- Castellanos-Acuña, D. Linding-Cisneros, R. A., Silva-Farias, M. Á., y Sáenz-Romero, C. (2014). Zonificación altitudinal provisional de *Abies religiosa* en un área cercana a la Reserva de la Biósfera de la Mariposa Monarca, Michoacán. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, XX(2), 215-225.
- Chambel, M. R. Climent, J., Alia, R., y Valladares, F. (2005). Phenotypic plasticity. A useful framework for understanding adaptations in forest species. *Investigación Agraria*, 14(3), 334-344.
- Del-Val, E. & Sáenz-Romero, C. (2017). Insectos descortezadores (Coleoptera: Curculionidae) y cambio climático: problemática actual y perspectivas en los bosques templados. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas*, 20(2), 53-60.
- Erickson, V. J. & Adams, W. T. (1989). Mating success in a coastal Douglas fir seed orchard as affected by distance and floral phenology. *Can. J. For. Res*, 19(10), 1248-1255.
- Farjon, A. P., Pérez de la Rosa, J. A., y Styles, B. T. (1997). Guía de campo de los pinos de México y América Central (Primera). *Continental Printing Belgica*.
- Gómez-Pineda, E., Sáenz-Romero, C., Ortega-Rodríguez, J. M., Blanco-García, A., Madrigal-Sánchez, X., Lindig-Cisneros, R., Lopez-Toledo, L., Pedraza-Santos, M. E., y Rehfeldt, G. E. (2020). Suitable climatic habitat changes for mexican conifers along altitudinal gradients under climatic change scenarios. *Acological Applications*, 30(2), 1-17.
- Gómez-Pineda, E., Hammond, W. M., Trejo-Ramírez, O., Gil-Fernández, M., Allen, C. D., Blanco-García, A., Sáenz-Romero, C. (2022). Drought years promote bark beetle outbreaks in Mexican forests of *Abies religiosa* and *Pinus pseudostrobus*. *Forest Ecology and Management*, 505, (119944), 1-11.
- Guizar-Nolazco, E. (2014). *Manual para identificación de botánica forestal mexicana (Primera)*. Universidad Autónoma Chapingo.
- Hammond, W. M., - Williams, A. P., Abatzoglou, J. T., Adams, H. D., Klein, T., López, R., Sáenz-Romero, C., Hartmann, H., Breshears, D. D., y Allen, C. D. (2022). Global field observations of tree die-off reveal hotter-drought fingerprint for earth's forest. *Nature Communications*, 13(1761), 1-11.
- Iglesias, L. S., Solís-Ramos, L., y Viveros-Viveros, H. (2012). Variación morfométrica en dos poblaciones naturales de *Pinus hartwegii* Lindl. del estado de Veracruz. *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 81, 239-246.
- Iglesias-Andreau, L. G., y Tivo-Fernández, Y. (2006). Caracterización morfométrica de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Ra Ximhai*, 2(2), 449-468.
- López Ríos, G. F. (2009). *Ecofisiología de árboles (Segunda)*. Universidad Autónoma Chapingo.
- Loya-Rebollar, E. , Sáenz-Romero, C., Lindig-Cisneros, R. A., Lobit, P., Villegas-Moreno, J. A., y Sánchez-Vargas, N. M. (2013). Clinal Variation in *Pinus hartwegii* populations and its application for adaptation to climate change. *Silvae genetica*, 62(3), 86-95.
- Manzanilla-Quiñones, U., Aguirre-Calderón, Ó. A., Jiménez-Pérez, J., Treviño-Garza, E. J., y Yerena-Yamallel, J. I. (2019). Distribución actual y futura del bosque subalpino de *Pinus hartwegii* Lindl en el Eje Neovolcánico Transversal. *Madera y Bosques*, 25(2), 1-16.
- Marris, E. (2009). Planting the forest of the future. *Nature*, 459, 906-908.

- Méndez-Toribio, M., Martínez-Garza, C., Ceccon, E., y Guariguata, M. R. (2018). la restauración de ecosistemas terrestres en México: estado actual, necesidades y oportunidades. *Center for International Forestry Research (CIFOR)*.
- Montero-Nava, R. M. (2020). *Diferenciación de los indicadores reproductivos, sobrevivencia y crecimiento de plántulas de Pinus hartwegii procedentes de un gradiente altitudinal en el Parque Nacional La Malinche. [Tesis de Maestría]*. Tlaxcala: Universidad Autónoma de Tlaxcala.
- Niembro-Rocas, A. (1992). Variación dimensional y características morfológicas de semillas de 36 especies y variedades de pinos mexicanos. *La Ciencia y el Hombre*, 11, 107-143.
- Ortiz-Bibian, M. A., Blanco- García, A., Linding - Cisneros, R. A., Gómez-Romero, M., Castellanos-Acuña, D., Herrerías - Diego, Y., Sánchez-Vargas, N. M., y Sáenz-Romero, C. (2017). Genetic variation in *Abies religiosa* for quantitative traits and delineation of elevational and climatic zoning for maintaining monarch butterfly overwintering sites in Mexico, considering climatic change. *Silvae Genetica*, 66(1), 14-23.
- Ortiz-Bibian, M. A., - Castellanos-Acuña, D., Gómez-Romero, M., Lindig-Cisneros, R., Silva-Farías, M. Á., y Sáenz-Romero, C. (2019). Variación entre poblaciones de *Abies religiosa* (H.B.K.) Schl. et Cham a lo largo de un gradiente altitudinal. I. Capacidad germinativa de la semilla. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 42(3), 301-308.
- Peñuelas J., Ogaya, R., Boada, M., y S. Jump, A. (2007). Migration, invasion and decline: Changes in recruitment and forest structure in a warming-linked shift of European beech forest in Catalonia (NE Spain). *Ecografía*, 30(6), 829-837.
- Pita-Villamil, J. M.-G. (1998). *Germinación de Semillas (1a. Ed.)*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Ramírez-Contreras, A. y Rodríguez-Trejo, D. A. (2009). Plantas nodriza en la reforestación con *Pinus hartwegii* Lindl. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 15(1), 43-48.
- Romahn-Hernández, L. F. Rodríguez-Trejo, D. A., Villanueva-Morales, A., Monterroso-Rivas, A. I., y Pérez-Hernández, M. de J. (2020). Rango altitudinal: factor de vigor forestal y determinante en la regeneración natural del oyamel. En *Entreciencias: Diálogos en la sociedad del conocimiento* 8(22), 1-17.
- Ruiz-Talonia, L. F. Sánchez-Vargas, N. M., Bayuelo-Jiménez, J. S., Lara-Cabrera, S. I., & Sáenz-Romero, C. (2014). Altitudinal genetic variation among native *Pinus patula* provenances: performance in two locations, seed zone delineation and adaptation to climate change. *Silvae Genetica*, 63(4), 139-149.
- Sáenz-Romero, C. y Linding-Cisneros, R. (2004). Evaluación y propuestas para el programa de reforestación en Michoacán, México. *Ciencia Nicolaita*, 37(16), 107-122.
- Sáenz-Romero, C. Rehfeldt, G. E., Soto-Correa, J. C., Aguilar-Aguilar, S., Zamarripa-Morales, V., y y-Upton, J. (2012). Altitudinal genetic variation among *Pinus pseudostrobus* populations from Michoacán, México. Two location shadehouse test results. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 35(2), 111-120.
- Thomas, E. Jalonen, R., Loo, J., Boshier, D., Gallo, L., Cavers, S., Bordács, S., Smith, P., & Bozzano, M. (2014). Genetic considerations in ecosystem restoration using native tree species. *Forest Ecology and Management*, 333, 66-75.
- Thomas, S. C. (2011). Genetic vs. Phenotypic responses of trees to altitude. *Tree Physiology*, 31, 1161-1163.
- Universidad Autónoma Chapingo, U. A. (2020). *Estación Forestal Experimental Zoquiapan*. Universidad Autónoma Chapingo.
- Uribe-Salas, D. Sáenz-Romero, C., González-Rodríguez, A., Téllez-Valdéz, O., & Oyama, K. (2008). Foliar morphological variation in the white oak *Quercus rugosa* Née (Fagaceae) along a latitudinal gradient in Mexico: Potential implications for management and conservation. *Forest Ecology and Management*, 256(12), 2121-2126.
- Vargas Ríos, O. (2011). Restauración ecológica: biodiversidad y conservación . *Acta Biológica Colombiana*, 16, 221-246.

Recibido:
5/octubre/2022

Aceptado:
8/marzo/2023

- Viveros-Viveros, H. Camarillo-Luna, A. R., Sáenz-Romero, C., & Aparicio-Rentería, A. (2013). Variación altitudinal en caracteres morfológicos de *Pinus patula* en el estado de Oaxaca (México) y su uso en la zonificación. *Bosque*, 34(2), 11-12.
- Viveros-Viveros, H. S.- Sáenz-Romero, C., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., Ramírez-Valverde, G., & Santacruz-Varela, A. (2009). Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. I: Height growth, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology Management*, 257(3), 836-842.

**COMPOSICIÓN, ESTRUCTURA Y
ESTADO DE LA REGENERACIÓN
ARBÓREA EN UN GRADIENTE
ALTITUDINAL EN UN BOSQUE
TEMPLADO DE GUADALUPE Y CALVO,
CHIHUAHUA**

**COMPOSITION, STRUCTURE AND
STATUS OF TREE REGENERATION IN AN
ALTITUDINAL GRADIENT IN A
TEMPERATE FOREST OF GUADALUPE Y
CALVO, CHIHUAHUA**

García-García, Samuel Alberto; Eduardo Alanís-Rodríguez; Óscar Alberto Aguirre Calderón; Eduardo Javier Treviño-Garza; Luis Gerardo Cuéllar-Rodríguez y Alejandro Collantes Chávez-Costa

COMPOSICIÓN, ESTRUCTURA Y ESTADO DE LA REGENERACIÓN ARBÓREA EN UN GRADIENTE ALTITUDINAL EN UN BOSQUE TEMPLADO DE GUADALUPE Y CALVO, CHIHUAHUA

COMPOSITION, STRUCTURE AND STATUS OF TREE REGENERATION IN AN ALTITUDINAL GRADIENT IN A TEMPERATE FOREST OF GUADALUPE Y CALVO, CHIHUAHUA



Composición, estructura y estado de la regeneración arbórea en un gradiente altitudinal en un bosque templado de Guadalupe y Calvo, Chihuahua

Composition, structure and status of tree regeneration in an altitudinal gradient in a temperate forest of Guadalupe y Calvo, Chihuahua

García-García, Samuel Alberto; Eduardo Alanís-Rodríguez; Óscar Alberto Aguirre Calderón; Eduardo Javier Treviño-Garza; Luis Gerardo Cuéllar-Rodríguez y Alejandro Collantes Chávez-Costa

COMPOSICIÓN,
ESTRUCTURA Y ESTADO
DE LA REGENERACIÓN
ARBÓREA EN UN
GRADIENTE ALTITUDINAL
EN UN BOSQUE
TEMPLADO DE
GUADALUPE Y CALVO,
CHIHUAHUA

COMPOSITION,
STRUCTURE AND STATUS
OF TREE REGENERATION
IN AN ALTITUDINAL
GRADIENT IN A
TEMPERATE FOREST OF
GUADALUPE Y CALVO,
CHIHUAHUA

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 81-100. Julio 2023

DOI:
10.18387/polibotanica.56.5

Samuel Alberto García-García
Eduardo Alanís-Rodríguez / eduardo.alanisrd@uanl.edu.mx
Óscar Alberto Aguirre-Calderón
Eduardo Javier Treviño-Garza
Luis Gerardo Cuéllar-Rodríguez

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Forestales, Carretera Nacional Km 145, CP 67700, Linares, Nuevo León, México.

Alejandro Collantes Chávez-Costa

Campus Chetumal Bahía Boulevard Bahía s/n esq. Ignacio Comonfort Col. Del Bosque. CP 77019 Chetumal, Quintana Roo, México.

RESUMEN: El estudio de la vegetación en gradientes altitudinales permite comprender los efectos de los cambios ambientales en esta y orientar acciones de conservación y adaptación de las especies. El objetivo del estudio fue caracterizar la estructura horizontal y vertical, conocer la composición, riqueza, diversidad, el estado de regeneración arbórea y su relación con factores abióticos en un gradiente altitudinal (piso 1: 2200 – 2600 m, piso 2: 2600 – 2800 m y piso 3: 2800 – 3200 m) de bosque templado en Guadalupe y Calvo, Chihuahua, México. Se establecieron 37 parcelas de muestreo circulares de 1000 m² en seis rodales, y dentro de estas dos parcelas rectangulares de 25 m² para evaluar la regeneración. La riqueza se estimó con el índice de Margalef (D_{Mg}), la diversidad con el índice de Shannon-Weiner (H') y de diversidad verdadera (D'), y la similitud con el modelo de ordenación de Bray-Curtis. La estructura horizontal se evaluó con el Índice de Valor de Importancia (IVI), la estructura vertical con el Índice de Pretzsch (A) y la regeneración con la densidad ($N\ ha^{-1}$). Se registraron 1,466 árboles de 16 especies, nueve géneros y seis familias; Pinaceae y Fagaceae fueron las de mayor presencia. El piso 3 fue el más diverso (D) y se encontró mayor similitud en composición entre los pisos 2 y 3. El IVI mostró que en el piso 1 las especies más típicas son *Quercus sideroxylla* (19.45%) y *Pinus engelmannii* (13.18%), los pisos 2 y 3 fueron *Pseudotsuga menziesii* (28.95 % y 22.06%) y *Abies durangensis* (27.20% y 45.56%). Los pisos 1 y 2 estuvieron dominados en altura por *Pseudotsuga menziesii*, mientras que el piso 3 por *Abies durangensis*. El índice A evidenció un declive de la diversidad estructural vertical al aumentar la altitud. Se observó buena regeneración de la mayoría de las especies en el piso 1 (92.86%), piso 2 (63.64%) y piso 3 (66.67%). Dentro de las principales conclusiones el gradiente altitudinal mostró similitud en la composición de especies, densidad y área basal debido a la dominancia de familias como Pinaceae y Fagaceae, también la diversidad estructural vertical de los pisos evaluados descendió con el aumento de la altitud y finalmente, de los factores abióticos tomados en cuenta el de mayor influencia en el establecimiento de regeneración fue la apertura de dosel.

Palabras clave: Riqueza; diversidad; Mohinora; *Abies*; *Pseudotsuga*; Pretzsch.

ABSTRACT: The study of vegetation along altitudinal gradients allows understanding the effects of environmental changes and guiding conservation and adaptation actions for species. The objective was to characterize the horizontal and vertical structure, assess composition, richness, diversity, tree regeneration status, and its relationship

with abiotic factors in an altitudinal gradient (floor 1: 2200-2600 m, floor 2: 2600-2800 m, and floor 3: 2800-3200 m) of temperate forest in Guadalupe y Calvo, Chihuahua, Mexico. Thirty-seven circular sampling sites of 1000 m² were established within six stands, with two rectangular plots of 25 m² for regeneration assessment. Richness was estimated using the Margalef index (D_{Mg}), diversity with the Shannon-Weiner index (H') and true diversity (D'), and similarity with the Bray-Curtis ordination model. Horizontal structure was evaluated with the Importance Value Index (IVI), vertical structure with the Pretzsch Index (A), and regeneration with density ($N\ ha^{-1}$). A total of 1,466 trees from 16 species, nine genera, and six families were recorded, with Pinaceae and Fagaceae being the most prevalent. Floor 3 showed the highest diversity (D), and greater compositional similarity was found between floors 2 and 3. IVI revealed that in floor 1, *Quercus sideroxyla* (19.45%) and *Pinus engelmannii* (13.18%) were the most typical species, while in floors 2 and 3, *Pseudotsuga menziesii* (28.95% and 22.06%) and *Abies durangensis* (27.20% and 45.56%) dominated, respectively. Floors 1 and 2 were dominated in height by *Pseudotsuga menziesii*, while floor 3 by *Abies durangensis*. The A index showed a decline in vertical structural diversity with increasing altitude. Good regeneration was observed for most species in floor 1 (92.86%), floor 2 (63.64%), and floor 3 (66.67%). In conclusion, the altitudinal gradient showed similarity in species composition, density, and basal area due to the dominance of families such as Pinaceae and Fagaceae. The vertical structural diversity of the evaluated floors decreased with increasing altitude, and among the considered abiotic factors, canopy openness had the greatest influence on regeneration establishment.

Key words: *Abies*; Diversity; Mohinora; Pretzsch; *Pseudotsuga*; Richness.

INTRODUCCIÓN

México posee 137.8 millones de hectáreas de superficie forestal, lo que representa el 70.5% de las 195.6 millones de hectáreas del territorio nacional, de las cuales 34.2 millones de hectáreas pertenecen a bosques templados, en esta superficie hábitat de 4563 especies, de las cuales 237 se encuentran en alguna categoría de riesgo según la NOM-059-SEMARNAT-2010, y proveen diversos servicios ecosistémicos como la recarga de mantos acuíferos, disminución de la erosión, capturan carbono y hábitat de diversas especies de flora y fauna (CONABIO, 2018; CONAFOR, 2014).

La estructura y composición de los bosques son fundamentales para el manejo forestal y la conservación de la biodiversidad (Aguirre *et al.*, 2003; Aguirre-Calderón, 2015). El análisis de los cambios en la vegetación en gradientes altitudinales permite comprender la distribución de especies en diferentes condiciones ambientales y su influencia en las interacciones biológicas (Mateo *et al.*, 2011; van der Putten *et al.*, 2016). Aunque se han realizado estudios sobre la estructura, composición, riqueza y diversidad en bosques de varios estados de México (García-García *et al.*, 2021; Manzanilla *et al.*, 2020; Silva-García *et al.*, 2021) existen escasas investigaciones en la última década que evalúen los parámetros antes señalados a lo largo de un gradiente altitudinal en este tipo de bosques (Holguín-Estrada *et al.*, 2021a; Martínez-Calderón *et al.*, 2021).

El Área de Protección de Flora y Fauna "Cerro Mohinora" es la montaña más alta de Chihuahua y fue establecida mediante decreto en 2015 como Área de Protección de Flora y Fauna (ÁPFF). Con un rango altitudinal de 2,100 a 3,307 msnm, alberga una diversidad de ecosistemas y desempeña un papel ecológico crucial al recibir abundantes precipitaciones pluviales. Además, es vital para la región hidrológica 10-Sinaloa y abastece de agua potable a la localidad de Guadalupe y Calvo. En el área se encuentran bosques de coníferas en estado prístino, teniendo asociaciones de *Abies - Picea*, *Abies - Pseudotsuga*, *Pinus - Quercus* y *Quercus - Pinus*, los cuales brindan hábitat a una amplia variedad de especies, algunas de ellas endémicas o en riesgo (CONANP, 2017).

El objetivo fue caracterizar la estructura horizontal y vertical, conocer la composición, riqueza, diversidad, el estado de regeneración natural y su relación con factores abióticos en un gradiente altitudinal (2200 m - 3200 m) de bosque templado en el ÁPFF Cerro Mohinora, Guadalupe y Calvo, Chihuahua, México. La determinación y comparación de estos parámetros a través del gradiente altitudinal ayuda a entender mejor cómo funcionan los ecosistemas forestales, cómo responden a los cambios ambientales y cómo podemos manejarlos de manera efectiva para garantizar su conservación y sostenibilidad a través de la toma de decisiones en la gestión de los recursos forestales y el diseño de políticas que promuevan la conservación del Área Natural Protegida Cerro Mohinora.

MÉTODOS

Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en un gradiente altitudinal (2200 – 3200 m) con exposición Norte, en tres pisos de altura (piso 1: 2200 – 2600 m, piso 2: 2600 – 2800 m y piso 3: 2800 – 3200 m) en Guadalupe y Calvo, Chihuahua, particularmente en el ÁPFF Cerro Mohinora, entre las coordenadas 25° 40' 48" a 26° 13' 12" latitud Norte y 106° 31' 48" a 107° 06' 00" longitud Oeste (Arriaga *et al.*, 2000). El área se encuentra en la provincia fisiográfica Sierra Madre Occidental, en la subprovincia Gran Meseta y Cañones Duranguenses (Arriaga *et al.*, 2000; CONANP, 2017).

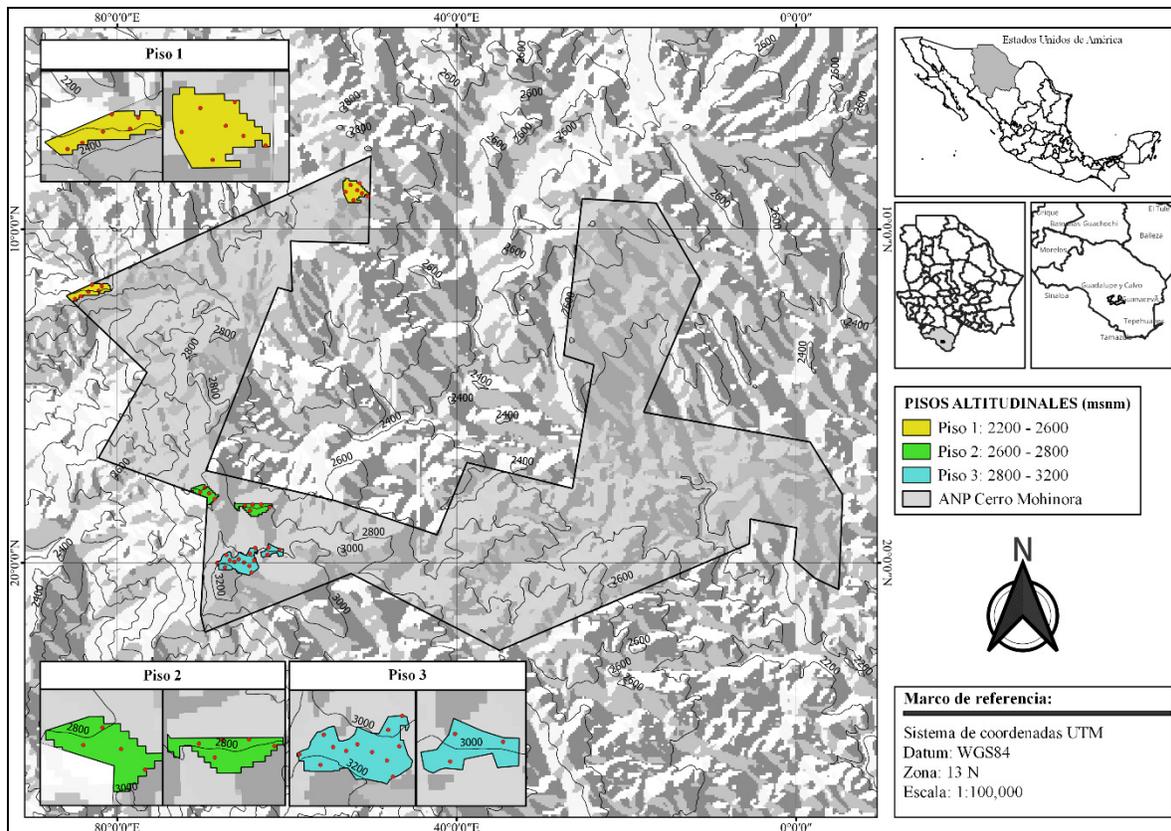


Fig. 1. Ubicación del área de estudio y distribución de sitios de muestreo dentro de la APFF Cerro Mohinora, Chihuahua.

Levantamiento de datos

Se establecieron de manera aleatoria 37 parcelas circulares de muestreo de 1000 m² cada una, distribuidas en seis rodales (dos en cada piso altitudinal, para contener los diferentes tipos de vegetación) con una intensidad de muestreo del 2%, todas con orientación norte; dentro de cada parcela, se ubicaron dos subparcelas de 25 m² (5 x 5 m) para el registro de la regeneración, es decir, 74 subparcelas o subsitios.

En cada parcela principal se registró información dasométrica del estrato arbóreo, de individuos con un diámetro normal ($d_{1.30\text{ m}} \geq 7.5$ cm, para la regeneración se consideraron aquellos con diámetro normal ($d_{1.30\text{ m}} \leq 7.5$ cm, de acuerdo con la metodología del Inventario Nacional Forestal y de Suelos (Conafor, 2012). Las variables registradas del arbolado adulto fueron altura total (h, m), diámetro normal (DN, $d_{1.30\text{ m}}$, cm), la altura se estimó con un clinómetro Suunto Pm-5, y el DN con una forcípula Haglof "Mantax Blue" de aluminio. Para la regeneración se registró la especie y se contabilizó el total de individuos de cada subparcela conjuntando los datos de las dos subparcelas y posteriormente extrapolarlos a individuos por hectárea (N ha⁻¹).

Además, se registraron la elevación (m), pendiente (%) y apertura del dosel. La elevación se midió con un geoposicionador Garmin eTrex 10 y la pendiente con un clinómetro Suunto Pm-5. Para determinar la apertura de dosel (%) se usó un densiómetro cóncavo colocado en el centro de cada sitio y promediando cuatro mediciones por sitio, una a cada punto cardinal (Jadán et al., 2016).

Análisis de la información

La riqueza se estimó con el índice de Margalef (D_{Mg}), mientras que la diversidad de los pisos altitudinales se evaluó utilizando el índice de Shannon-Wiener (H') (Magurran, 2021), y el índice de diversidad verdadera (D) el cual permite comparar de una mejor manera la riqueza de especies, ya que tiene en cuenta la abundancia relativa de cada especie en la comunidad y puede proporcionar una medida más precisa de la diversidad (Jost, 2006). Para evaluar la similitud florística se generó un modelo de ordenación de Bray-Curtis, el cual se basa en un algoritmo que permite analizar la similitud de las muestras mediante el cálculo del porcentaje de similitud (0% - 100%) (Beals, 1984) (Tabla 2).

La estructura horizontal fue evaluada a través de la distribución diamétrica por piso altitudinal, así como la abundancia (N ha⁻¹), dominancia en área basal (m² ha) y su frecuencia (presencia en cada sitio). A partir de esto se calculó el Índice de Valor de Importancia (IVI), el cual adquiere valores en una escala del 0 al 10 % (Alanís et al., 2020) (Tabla 2).

La diversidad estructural vertical de los bosques se determinó con el Índice de Pretzsch (A), dicho índice divide la estructura vertical en tres estratos. El estrato I (alto), que representa al intervalo de 80-100%, en el que el árbol más alto constituye el 100%; a partir de este individuo, se clasifican los siguientes estratos: el II (medio), que se refiere al intervalo de 50-80% y el III (bajo), de 0-50% (Aguirre, 2002; Pretzsch, 2009) (Tabla 2). Para una correcta interpretación se calcula $A_{máx}$ que corresponde al valor máximo por cada una de las especies en cada estrato; este valor se logra cuando la totalidad de las especies ocurren en la misma proporción, tanto en el rodal como en los diferentes estratos (Corral et al., 2005). Se generó un gráfico utilizando TreeGrOSS: ForestSimulation (Sprauer et al., 2019); que visualiza la composición de especies por piso altitudinal y muestra los tres estratos de altura de los árboles, así como los valores determinados en el índice A . Esta simulación incluyó el número total de individuos por especie (N ha) y altura distribuyéndolos de forma aleatoria en una parcela de una hectárea.

Tabla 2. Fórmulas manejadas para determinar la estructura horizontal, vertical, riqueza y diversidad.

Fórmula	Variables
$D_{MG} = \frac{S-1}{\ln(N)}$	D_{MG} = Índice de Margalef S = Número de especies N = Número total de individuos
$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \times \ln(p_i)$ $p_i = n_i/N$	H' = Índice de Shannon-Wiener S = Número de especies P_i = Proporción de individuos de la especie i
$D = \exp(H') = \exp \left[- \left(\sum_{i=1}^S p_i \ln p_i \right) \right]$	D = Índice de diversidad verdadera p_i = Abundancia relativa de la i -ésima especie S = Número de especies
$IVI = \frac{\sum_{i=1}^n (AR_i, DR_i, FR_i)}{3}$	IVI = Índice de Valor de Importancia AR_i = Abundancia relativa por especie respecto a la abundancia total DR_i = Dominancia relativa de la especie i respecto a la dominancia total FR_i = Frecuencia relativa de la especie i respecto a la frecuencia total
$A = \sum_{i=1}^S \cdot \sum_{j=1}^Z p_{ij} * \ln p_{ij}$ $A_{max} = \ln(S * Z)$ $A_{rel} = \frac{A}{\ln(S * Z) * 100}$	A = Valor A de Pretzsch S = Número de especies presentes Z = Número de estratos de altura P_{ij} = Porcentaje de especies en cada zona $P_{ij} = n_{ij}/N$ $N_{i,j}$ = Número individuos de la misma especie (i) en la zona (j) N = Número total de individuos

Se verificó la normalidad de los datos a través de la prueba de Shapiro-Wilk (da Cunha *et al.*, 2009), de la riqueza (D_{MG}) y diversidad (H' y D), posteriormente se compararon estos atributos de los árboles entre pisos altitudinales para identificar diferencias estadísticamente significativas mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de significancia del 95%.

El análisis de la regeneración se realizó de acuerdo con Chauhan *et al.* (2008), quienes consideran una buena regeneración si; densidad de regeneración > densidad de los árboles adultos, regeneración regular si; densidad de regeneración \leq densidad de los árboles adultos y regeneración mala si; densidad de regeneración < densidad de los árboles adultos. También, se verificó la normalidad de los datos a mediante la prueba de Shapiro-Wilk (da Cunha *et al.*, 2009), y se compararon las densidades con la prueba U de Mann-Whitney (Mann y Whitney, 1947) para comparar las medianas de dos grupos independientes cuando los datos no siguen una distribución normal.

Se evaluó el cumplimiento de los supuestos de normalidad de los datos de densidad de regeneración, y así como los de pendiente ($^{\circ}$), altitud (m) y apertura de dosel (%), con la prueba

de Shapiro-Wilk (da Cunha *et al.*, 2009). Posteriormente, se determinó la influencia de las variables del sitio sobre la densidad de regeneración, y se realizó un análisis de correlación de Pearson. Todos los análisis estadísticos se plantearon a un nivel de significancia de 95% y se llevaron a cabo en el entorno de desarrollo integrado (IDE) R Studio (R Core Team, 2019).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Composición, riqueza y diversidad de especies

A lo largo del gradiente se registró un promedio de 488 árboles representados en 16 especies arbóreas, nueve géneros y seis familias. Pinaceae fue la familia más rica con siete especies (41.18%), seguida de Fagaceae con cinco especies (29.41%), Ericaceae con dos especies (11.76%), y Cupressaceae, Salicaceae y Betulaceae con solamente una especie cada una (5.88%). Pinaceae y Fagaceae se han reportado en diversos bosques templados del país, estas familias contienen a los géneros *Pinus* y *Quercus* los cuales son típicos de la zona templada subhúmeda de México y en estos se basa la industria forestal (Dávila-Lara *et al.*, 2019; Graciano-Ávila *et al.*, 2020; Rzedowski, 1978; Sáenz-Romero *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2021).

Se encontraron un número de familias y géneros similar en los tres pisos altitudinales, la diferencia se notó en la cantidad de especies encontradas y en la densidad de estas, ya que en el piso 1 fue superior (15) a los demás (Tabla 3). Los datos de composición se han presentado de forma similar en otros bosques templados del país (Dávila-Lara *et al.*, 2019; Graciano-Ávila *et al.*, 2020).

La riqueza de especies presente en el gradiente se ha constatado en otros bosques del país, Silva-González *et al.* (2021) reportan una riqueza menor (año 2008 = 1.252 y año 2013 = 1.205) de acuerdo con el índice de Margalef (D_{Mg}) a los pisos altitudinales 1 y 2 pero muy similar al piso 3 en bosques del estado de Durango. Por otro lado, Rascón-Solano *et al.* (2022) en bosques templados de Guachochi, Chihuahua menciona un valor intermedio ($D_{Mg} = 1.75$) comparado con los pisos 1 y 2 del presente estudio y mayor al piso 3.

El indicador de la diversidad (D') indica que el piso 1 es más diverso que sus sucesores, existiendo una diferencia en diversidad de 1.68 veces contra el piso 2 y de 2.20 veces con el piso 3 (Tabla 3). De acuerdo con el índice de Shannon (H') la diversidad es similar para los primeros dos pisos con lo documentado por Dávila-Lara *et al.* (2019) (1.91 y 1.51) en bosques templados de San Luis Potosí.

Los resultados de normalidad indicaron que los datos de riqueza (D_{Mg} : $W = 0.97765$; $p\text{-value} = 0.6500$) y diversidad (H' : $W = 0.96079$; $p\text{-value} = 0.214$) (D' : $W = 0.97792$; $p\text{-value} = 0.6593$) son normales. El análisis de varianza (ANOVA) reveló que no hay diferencias significativas en la riqueza (D_{Mg} : $F = 3.136$; $\text{Pr}(>F) = 0.0563$) y diversidad (H' : $F = 0.946$; $\text{Pr}(>F) = 0.398$) (D' : $F = 1.224$; $\text{Pr}(>F) = 0.307$) de especies entre los diferentes pisos altitudinales. A pesar de ello, se observa una disminución en la riqueza y diversidad de especies a medida que se asciende en altitud, lo que concuerda con "La regla de Rapoport" (Rapoport, 1975). Según esta regla, existe una relación directa entre la altitud y la riqueza de especies, disminuyendo a medida que la altitud aumenta. Esta disminución puede ser atribuida a diversos factores como la redistribución espacial de la radiación solar, el agua, los nutrientes, la temperatura, la humedad, las horas de iluminación, el viento, la duración estacional, el tipo de suelo y la condición geológica (Malizia *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2017). Atalay (2006) menciona que estos cambios se atribuyen a diferentes condiciones climáticas entre las partes bajas y altas de las montañas, ya que, con el incremento de la altitud; la temperatura, la humedad y la presión del aire disminuyen y la radiación solar es más intensa.

A pesar de que la riqueza y diversidad de especies en los bosques templados es baja, en México se presenta una alta riqueza, ya que se distribuyen 47 especies de *Pinus* y 161 de *Quercus*, de

las cuales 26 y 109 respectivamente, son endémicas, lo que hace a México el mayor centro de riqueza y evolución en el continente en el caso de los encinos (Arizaga *et al.*, 2009; Pérez, 1998).

Tabla 3. Número de familias, géneros, especies, densidad ($N\ ha^{-1}$), área basal ($m^2\ ha^{-1}$), riqueza (D_{Mg}), diversidad (H') y diversidad verdadera (D') de los tres pisos altitudinales evaluados.

Atributos	Altitud (m)			General (Σ)
	2200 - 2600	2600 - 2800	2800 - 3200	
No. Familias	5	5	4	6
No. Géneros	7	7	7	9
No. Especies	15	11	9	16
Riqueza (D_{Mg})	2.00	1.68	1.20	
Diversidad (H')	2.19	1.67	1.40	
Diversidad verdadera (D')	8.94	5.31	4.06	

Similitud en la composición de especies

Basado en los valores de similitud de Bray-Curtis la mayor similitud se encuentra entre los pisos 2 y 3, con un valor de similitud de 58.38%. Esta similitud indica una mayor coincidencia en la composición de especies. Entre los pisos 1 y el piso 2, así como 1 y 3 indican una similitud de 21.03% y 14.17% respectivamente lo cual muestra una similitud baja en la composición de especies entre estos pisos. González *et al.*, (2018) encontraron una similitud semejante (44%) en un bosque de *Abies vejari* en Nuevo León. De igual manera Holguín-Estrada *et al.* (2021b) reportaron una similitud de alrededor del 50% para los dos pisos altitudinales más elevados.

Índice de Valor de Importancia (IVI)

En el piso 1 las especies más representativas fueron *Quercus sideroxyla* Bonpl. (IVI = 19.45%), *Pinus engelmannii* Carr. (IVI=13.18%), *Pinus arizonica* Engelm. (12.35%), mientras que once de las 14 especies reflejaron un IVI menor al 10%; dicha composición evidencia un bosque de *Quercus - Pinus*, lo cual coincide con lo reportado por otros autores para bosques templados de la Sierra Madre Occidental (SMO) (Graciano-Ávila *et al.*, 2017; Luna *et al.*, 2020) quienes mencionan a especies de *Quercus* y *Pinus* como las más importantes ecológicamente.

En el piso 2 las especies de mayor peso ecológico fueron *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco, *Abies durangensis* Martínez. y *Pinus ayacahuite* C. Ehrenb. ex Schldl. con 28.95%, 27.20% y 13.64%, respectivamente, logrando así más del 50%; 11 de las 14 especies tuvieron un IVI menor a 10%. Estos resultados indican que el bosque evaluado es un bosque de oyamel como lo mencionado por García-García *et al.* (2021) en un área cercana a la evaluada, donde dichas especies también tuvieron una importancia alta.

Las especies con valores mayores de IVI en el piso 3, fueron *Abies durangensis* 45.56%, *Pseudotsuga menziesii* con 22.06% y *Picea mexicana* Martínez. con 10.63%; seis de las nueve especies reflejaron un IVI menor al 10%; dichos valores dan lugar a un bosque de *Abies - Pseudotsuga*; la dominancia de estos géneros se ha presentado en diversos trabajos realizados en México (Buendía-Rodríguez *et al.*, 2019; Encina-Domínguez, 2015).

Tabla 4. Densidad (N ha⁻¹), dominancia (m² ha), frecuencia (%) e Índice de Valor de Importancia de cada una de las especies evaluadas los tres tipos de bosque bajo estudio.

PA	Especie	AR	AR	DR	DR	FR	FR	IVI
		(N ha ⁻¹)	(%)	(m ² ha)	(%)	Abs	(%)	(%)
	<i>Quercus sideroxyla</i> Bonpl.	169	31	2.83	12	8	6.15	19.45
	<i>Pinus engelmannii</i> Carr.	75	14	3.52	15	6	4.62	13.18
	<i>Pinus arizonica</i> Engelm.	77	14	3.14	13	5	3.85	12.35
	<i>Alnus acuminata</i> Kunth.	39	7	1.57	7	6	4.62	7.29
	<i>Quercus fulva</i> Liebm.	35	7	1.54	7	6	4.62	6.96
	<i>Quercus rugosa</i> Née.	29	5	1.85	8	5	3.85	6.72
	<i>Pinus durangensis</i> Martínez.	14	3	2.08	9	7	5.38	6.59
	<i>Pinus ayacahuite</i> C. Ehrenb. ex Schltldl.	18	3	1.03	4	8	6.15	5.43
	<i>Arbutus xalapensis</i> Kunth.	19	4	1.18	5	6	4.62	5.18
	<i>Pseudotsuga menziesii</i> (Mirb.) Franco	6	1	2.76	12	1	0.77	5.35
	<i>Quercus crassifolia</i> Humb. & Bonpl.	25	5	0.73	3	2	1.54	3.61
	<i>Abies durangensis</i> Martínez	16	3	0.66	3	3	2.31	3.17
	<i>Arbutus arizonica</i> Sarg. (A.Gray).	9	2	0.30	1	4	3.08	2.38
	<i>Juniperus deppeana</i> Steud.	8	1	0.34	1	4	3.08	2.33
1	Subtotal	539	100.00	23.53	100.00	71.00	54.62	100.00
	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	109	26	8.86	39	9	23	28.95
	<i>Abies durangensis</i>	162	38	5.93	26	7	18	27.20
	<i>Pinus ayacahuite</i>	59	14	2.76	12	6	15	13.64
	<i>Pinus durangensis</i>	23	5	2.94	13	4	10	9.45
	<i>Pinus arizonica</i>	33	8	1.68	7	3	8	7.57
2	<i>Populus tremuloides</i> Michx.	22	5	0.24	1	3	8	4.59
	<i>Juniperus deppeana</i>	8	2	0.07	0	3	8	3.21
	<i>Arbutus xalapensis</i>	4	1	0.09	0	2	5	2.15
	<i>Quercus fulva</i>	1	0	0.17	1	1	3	1.17
	<i>Quercus rugosa</i>	1	0	0.13	1	1	3	1.10
	<i>Quercus sideroxyla</i>	1	0	0.03	0	1	3	0.97
	Subtotal	424	100.00	22.91	100.00	40.00	100.00	100.00
	<i>Abies durangensis</i>	268	53	14.25	47	14	9.33	45.56
	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	104	21	6.79	23	15	10.00	22.06
	<i>Picea mexicana</i> Martínez.	47	9	2.92	10	10	6.67	10.63
	<i>Populus tremuloides</i>	30	6	3.08	10	5	3.33	8.10
3	<i>Pinus arizonica</i>	27	5	1.29	4	5	3.33	5.41
	<i>Pinus ayacahuite</i>	19	4	0.53	2	9	6.00	4.75
	<i>Pinus durangensis</i>	5	1	0.81	3	3	2.00	2.32
	<i>Quercus sideroxyla</i>	1	0	0.29	1	1	0.67	0.79
	<i>Juniperus deppeana</i>	1	0	0.04	0	1	0.67	0.38
	Subtotal	502	100.00	30.01	100.00	63.00	42.00	100.00
	Total	1466		76.44		174.00		

*PA = Piso altitudinal, AR = Densidad, DR = Área basal, FR = Frecuencia, Abs = Absoluta, IVI = Índice Valor de Importancia

Distribución diamétrica por piso altitudinal

La distribución de densidad - diámetro para los tres pisos mostró una disminución hacia clases diamétricas mayores, observándose que la mayor cantidad de individuos por hectárea se registró en las clases de 10 y 15 cm y que hay árboles de hasta 135 cm de DN (Fig. 2). Dicha distribución en forma de “J” invertida o curva de Liocurt se ha presentado en bosques templados de México (Cortés-Pérez *et al.*, 2021; Hernández-Moreno *et al.*, 2020; Hernández *et al.*, 2019), indicando con esto la existencia de regeneración natural dentro de los tres pisos altitudinales evaluados, en el área evaluada esto puede corresponder a la existencia de árboles de grandes dimensiones muertos y da paso al desarrollo de árboles más pequeños e intolerantes a la sombra en este caso.

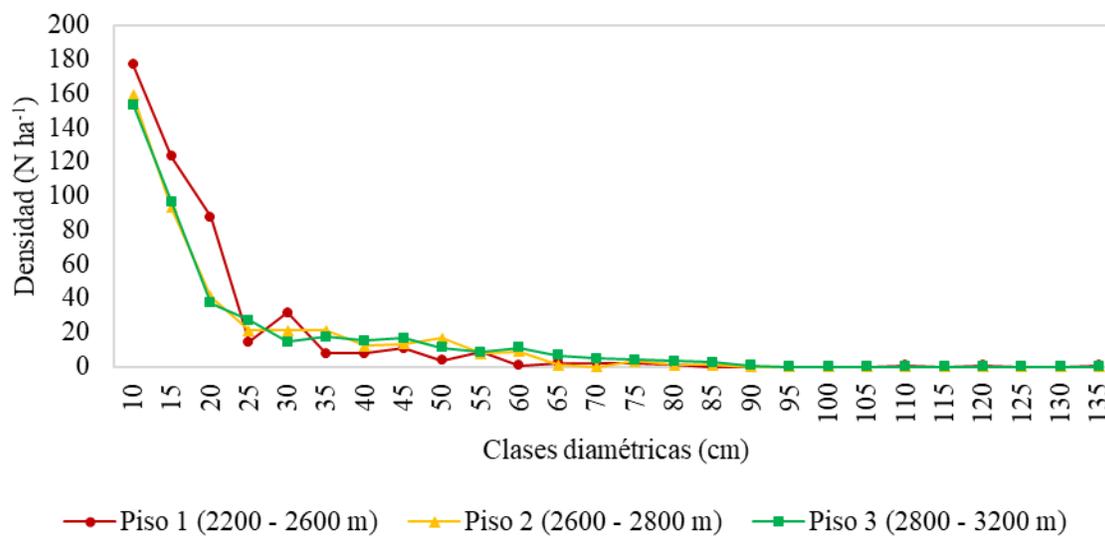


Fig. 2. Densidad de especies arbóreas por clase diamétrica y altitud.

Índice de Pretzsch (A)

Se observa una disminución en el número de árboles por hectárea conforme aumenta su talla en altura (Tabla 5); esto puede ser el resultado del proceso de deberse a la competencia natural que afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas, o bien, el grado de tolerancia a la sombra de las especies presentes (Castañeda y Hansen, 2007; Granados-Sánchez *et al.*, 2007).

Tabla 5. Número y porcentaje de individuos por estrato en cada piso altitudinal.

Piso altitudinal	1		2		3	
	N ha ⁻¹	N (%)	N ha ⁻¹	N (%)	N ha ⁻¹	N (%)
I (80 – 100%)	11	2.00	18	4.19	20	4.12
II (50 – 80%)	101	18.70	106	24.87	82	16.33
III (0 – 50%)	427	79.21	301	70.94	400	79.68
Total	539	100	424	100	502	100

La figura 3 muestra que el estrato I de cada uno de los pisos es dominado en altura por especies similares; el piso 1 estuvo liderado por *Pseudotsuga menziesii* con alturas máximas de 31.50 m; en el piso 2 dominó igualmente *Pseudotsuga menziesii* con alturas de hasta 31.00 m y por su parte el piso 3 *Abies durangensis* fue el de mayor densidad con alturas máximas de 27.50 m.

El estrato II correspondiente a la altura media de los árboles reflejó dominancia de *Pinus engelmannii* con alturas máximas de 24.24 m para el piso 1; el piso 2 mayormente representado por *Abies durangensis* con alturas hasta de 24.80 m y el piso 3 fue igualmente dominado por *Abies durangensis* con alturas máximas de 24.00 m.

Finalmente, el estrato III designado a los individuos de menor altura, mostró mayor densidad de *Quercus sideroxyla* con alturas máximas de 15.15 m en el piso 1, mientras que el piso 2 estuvo representado por *Abies durangensis* con individuos con alturas hasta de 15.40 m y *Abies durangensis* en el piso 3 fue el de mayor densidad con alturas máximas de 15.00 m.

La figura 3 presenta los valores calculados para el índice *A* evidenciando una reducción de la diversidad estructural vertical al aumentar la altitud, lo cual indica que el piso 1 está a 29.10% de su máxima diferenciación dimensional (100%), el piso 2 a 33.93% y el 3 39.01%; esto se obtiene cuando los árboles se encuentran equitativamente distribuido entre estratos y especies, al igual que lo mencionado por Rubio-Camacho *et al.*, (2014) el bosque aquí evaluado es heterogéneo en relación a la altura de sus individuos. Nuestros resultados coinciden con los de Graciano-Ávila *et al.*, (2020) quienes obtuvieron un *Arel* similar en evaluaciones cada cinco años (2007, 2012 y 2017) de un bosque templado de Pueblo Nuevo, Durango y son ligeramente menores a los valores reportados por Ramos *et al.*, (2017) y Silva-García *et al.*, (2021) quienes obtuvieron una diversidad relativa (*Arel*) de 83.5% y 77.92%, respectivamente en bosques templados en Nuevo León y Durango.

Lo anterior indica que estos bosques presentan heterogeneidad de especies en los estratos de altura, lo que asegura la existencia de riqueza de especies suficiente para el reclutamiento de individuos en estratos inferiores. Existen otros bosques que presentan menor cantidad de especies y los estratos de altura están conformados por escasas especies, aunque abundantes, como el evaluado por Manzanilla *et al.*, (2020) en cuatro sitios de un bosque mixto de *Pinus* – *Quercus* en Galeana, Nuevo León con valores de *Arel* de 41.07, 42.07, 45.52 y 55.39%.

La figura 3 muestra gráficamente el recambio de especies entre el piso 1 y los pisos 2 y 3. Se observa que en el piso 1 dominan los géneros *Quercus* y *Pinus* en términos de densidad (N ha) y altura; a medida que aumenta la altitud, los pisos 2 y 3 se ven dominados por *Pseudotsuga* y *Abies*, además, se observa la incorporación de los géneros *Populus* y *Picea* en el piso 3. Estos patrones de recambio de especies entre pisos altitudinales reflejan la adaptación de las especies a las condiciones ambientales específicas de cada piso, ya que las especies que no consiguen adaptarse desaparecerán por estrés fisiológico (Parmesan, 2006; Brown *et al.*, 2015). Körner y Paulsen (2004) mencionan que esto puede ocurrir ya que, con el aumento de la altitud disminuyen la evapotranspiración y la temperatura, aumentando también la cantidad de agua en el suelo; por lo que algunas especies se desarrollan de mejor manera a estas condiciones.

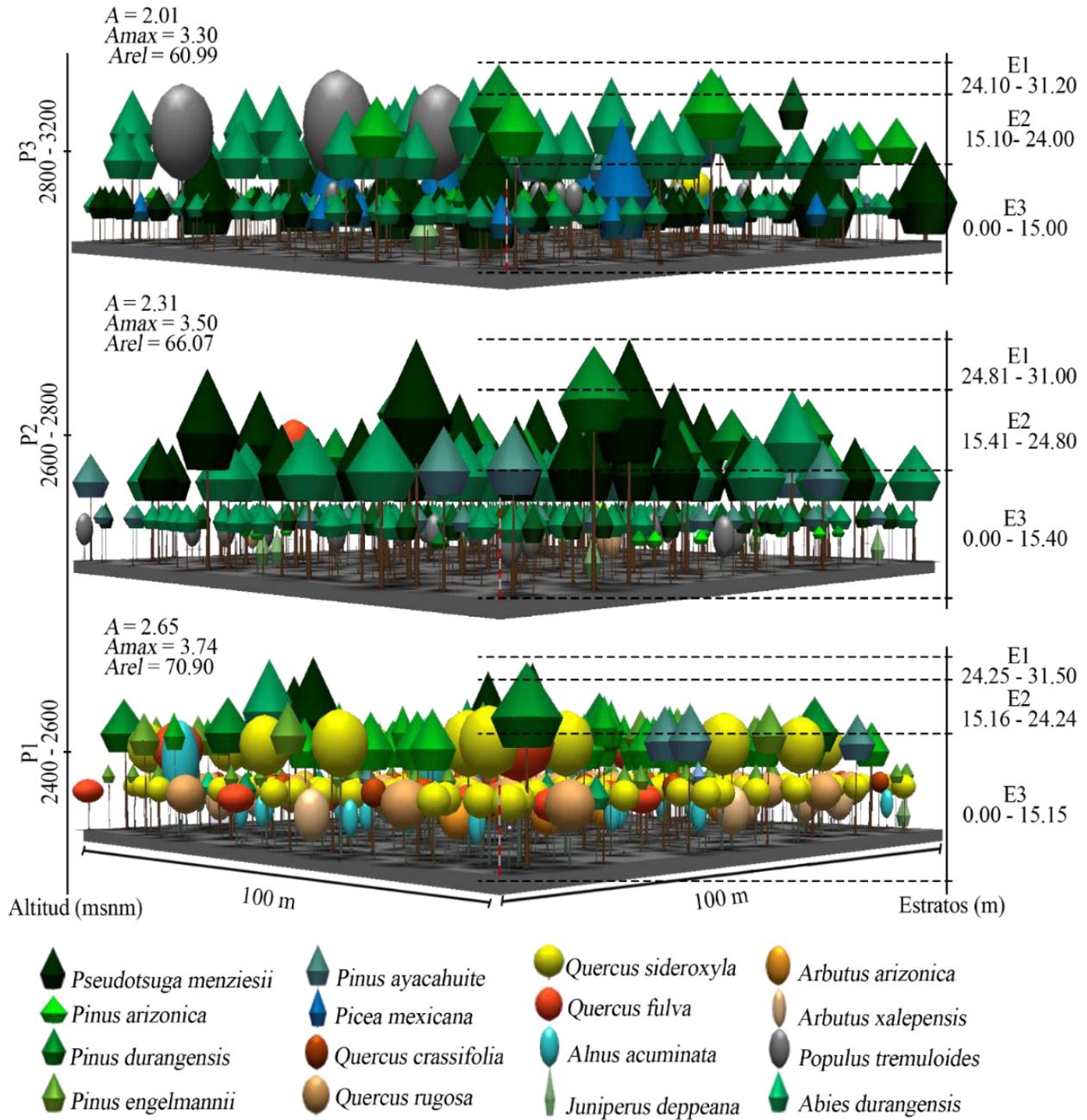


Fig. 3. Estructura vertical del gradiente altitudinal de acuerdo con los valores medios de altura de los árboles a partir del índice A de Pretzsch.

Evaluación de la regeneración natural

La densidad de regeneración fue mayor que la densidad de los árboles adultos en los tres pisos evaluados, lo que en general es indicador de una condición buena. Se observó que el 92.86%, 63.64% y 66.67% de las especies tuvieron buena regeneración natural en los pisos 1, 2 y 3 respectivamente (Tabla 8).

El piso 1 muestra una baja regeneración natural de *Pinus arizonica* a pesar de su alta densidad de árboles adultos, siendo la tercera especie más abundante en esa sección del bosque (Tabla 8). En el piso 2, *Pinus arizonica*, *Juniperus deppeana*, *Quercus fulva* y *Quercus rugosa* presentaron baja regeneración, siendo solo *Pinus arizonica* la especie con una densidad regular de árboles adultos (Tabla 8). En el piso 3, *Pinus arizonica*, *Quercus sideroxyla* y *Juniperus deppeana* mostraron mala regeneración, nuevamente con *Pinus arizonica* presentando una buena densidad de árboles adultos (Tabla 8).

Sotelo *et al.*, (1998) menciona que la germinación de la regeneración de *Pinus arizonica* es mayor en condiciones de dosel abierto, por lo que se deduce que sobre todo en los pisos 2 y 3 del presente estudio la regeneración de esta especie es limitada por la dominancia de géneros como *Pseudotsuga* y *Abies*, quienes tienen individuos de mayores dimensiones. La prueba Shapiro-Wilk mostró que tanto la densidad de árboles adultos como la densidad de regeneración no tienen normalidad en sus datos por sitio, mientras que su comparación mediante la prueba Wilcoxon, no detectó diferencias significativas entre las mismas (p-value = piso 1: 0.062 - 0.819, piso 2: 0.101 - 0.673 y piso 3: 0.077 - 0.791).

Tabla 8. Estado y densidad de árboles adulto y regeneración de los tres pisos altitudinales.

PA	Especie	Árboles adultos	Regeneración	Estado
		D (N ha ⁻¹)	D (N ha ⁻¹)	
1	<i>Quercus sideroxyla</i>	169	1108	B
	<i>Pinus engelmannii</i>	75	292	B
	<i>Pinus arizonica</i>	77	15	M
	<i>Alnus acuminata</i>	39	262	B
	<i>Quercus fulva</i>	35	369	B
	<i>Quercus rugosa</i>	29	246	B
	<i>Pinus durangensis</i>	14	31	B
	<i>Pinus ayacahuite</i>	18	492	B
	<i>Arbutus xalapensis</i>	19	662	B
	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	6	138	B
	<i>Quercus crassifolia</i>	25	169	B
	<i>Abies durangensis</i>	16	92	B
	<i>Arbutus arizonica</i>	9	31	B
<i>Juniperus deppeana</i>	8	185	B	
	Media ± Error estándar	39 ± 11.72	292 ± 79.63	
2	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	109	356	B
	<i>Abies durangensis</i>	162	867	B
	<i>Pinus ayacahuite</i>	59	289	B
	<i>Pinus durangensis</i>	23	22	R

	<i>Pinus arizonica</i>	33	22	M
	<i>Populus tremuloides</i>	22	467	B
	<i>Juniperus deppeana</i>	8	0	M
	<i>Arbutus xalapensis</i>	4	133	B
	<i>Quercus fulva</i>	1	0	M
	<i>Quercus rugosa</i>	1	0	M
	<i>Quercus sideroxyla</i>	1	356	B
	Media ± Error estándar	39 ± 15.81	228 ± 82.61	
	<i>Abies durangensis</i>	268	1813	B
	<i>Pseudotsuga menziesii</i>	104	227	B
	<i>Picea mexicana</i>	47	120	B
	<i>Populus tremuloides</i>	30	107	B
3	<i>Pinus arizonica</i>	27	0	M
	<i>Pinus ayacahuite</i>	19	27	B
	<i>Pinus durangensis</i>	5	27	B
	<i>Quercus sideroxyla</i>	1	0	M
	<i>Juniperus deppeana</i>	1	0	M
	Media ± Error estándar	56 ± 28.60	258 ± 196.10	

*PA = Piso altitudinal, D = densidad, B = buena, R = regular y M = mala.

El gradiente altitudinal mostró que estos bosques cuentan con potencial suficiente de regeneración, teniendo una media similar en la densidad de árboles jóvenes; la mayoría de las especies evidenció buen porcentaje de regeneración, lo que conllevaría a mantener la provisión de servicios ecosistémicos como la captura de carbono, recarga de acuíferos y conservación de hábitats (Bennett *et al.*, 2009; CONABIO, 2018; Rodríguez *et al.*, 2006), ya que se garantiza la perpetuidad de la masa forestal.

En el piso 1, únicamente *Pinus arizonica* presentó regeneración deficiente (mala), aunque también hubo pocos individuos adultos de la especie, los pisos 2 y 3 presentaron mala regeneración en cuatro y tres especies respectivamente; esto, puede deberse a que los géneros *Pseudotsuga* y *Abies* son dominantes y sus individuos son de mayor altura y cobertura de copa comparados con géneros como *Pinus* y *Quercus* que, además, son intolerantes a la sombra y no tienen las condiciones adecuadas para su regeneración natural lo que provoca una mayor cobertura de dosel de individuos de *Pseudotsuga* y *Abies* (García *et al.*, 2020; García-García *et al.*, 2021; Granados-Sánchez *et al.*, 2007).

Correlación entre regeneración natural y factores abióticos

La prueba de Shapiro-Wilk manifestó que las variables “Pendiente”, “Altitud” y “Apertura de dosel” cumplen con el supuesto de normalidad en el piso 1, ya que los valores “W” fueron cercanos a 1, 0.89 (p = 0.2080), 0.90 (p = 0.2080) y 0.76 (p = 0.2080) respectivamente. El piso 2 de igual manera mostró normalidad para las tres variables, variables “Pendiente” (W = 0.84, P = 0.0851), “Altitud” (W = 0.91, P = 0.4370) y “Apertura de dosel” (W = 0.64, P < 0.0001). Los valores para el piso 3 también fueron normales para cada una de las variables obteniendo “Pendiente” (W = 0.85, P = 0.0502), “Altitud” (W = 0.97, P = 0.8840) y “Apertura de dosel” (W = 0.76, P < 0.0011).

La correlación de Pearson entre la densidad (N ha) de regeneración y los factores abióticos indicó que en el piso 1, la variable "Altitud" de acuerdo con Cuellar *et al.*, (2018) mostró una correlación negativa débil (-0.15), mientras que "Pendiente" y "Apertura de dosel" presentaron una correlación positiva débil (0.18). En el piso 2, se encontraron correlaciones positivas débiles (0.41, 0.14 y 0.55) para "Altitud", "Pendiente" y "Apertura de dosel", respectivamente. En el piso 3, se observaron correlaciones positivas débiles entre la densidad de regeneración y las tres variables evaluadas: "Altitud" (0.03), "Pendiente" (0.06) y "Apertura de dosel" (0.08).

La relación entre la regeneración y los factores abióticos considerando muestran que el gradiente altitudinal, en este caso, no tienen relevancia en el establecimiento de la regeneración, ya que su correlación es débil o negativa, esta última se dio en el piso 1 el cual se encuentra bajo mayor perturbación antropogénica (aprovechamiento forestal, caminos, asentamientos humanos, etc). A pesar de que la altitud influye en la temperatura, humedad ambiental y características del suelo y puede repercutir en la supervivencia de la regeneración (Romahn-Hernández *et al.*, 2020) algunos autores han indicado la poca influencia de la altitud o la presencia de regeneración en diversas altitudes en bosques templados del mundo (Bharali *et al.*, 2012; Tiwari *et al.*, 2020).

De igual manera, la pendiente, aunque tuvo una correlación positiva, es débil en los tres pisos, lo que refleja una baja influencia en la regeneración o que existen diversos factores que podrían estar relacionados con su establecimiento. Gebeyehu *et al.*, (2019) mencionan que la pendiente pronunciada en los bosques no brinda un suelo estable debido a su estructura, y puede provocar mortalidad de plántulas. Además, el microambiente creado por las pendientes se modifica por la intensidad y duración de la luz diurna lo que puede influir en el desarrollo de la vegetación (Yadav & Gupta, 2006).

Lo anterior se relaciona directamente con la apertura de dosel, el factor de mayor impacto y relación en el establecimiento de la regeneración natural del presente estudio, sobre todo en el piso 2 donde fue positiva moderada, esto puede ser así ya que la apertura del dosel proporcionar buenas condiciones para la regeneración de especies intolerantes a la sombra, las cuales abundan en el área de estudio.

En el presente estudio, la mayoría de las especies evaluadas requieren una apertura de dosel para su desarrollo. Esto concuerda con investigaciones anteriores (Dezzotti *et al.*, 2003; Promis *et al.*, 2010; Sola *et al.*, 2015) que han demostrado que una mayor apertura de dosel favorece la densidad de regeneración natural y desarrollo de árboles jóvenes en bosques templados.

CONCLUSIONES

A lo largo del gradiente altitudinal la composición fue dominada por las familias Pinaceae y Fagaceae, las cuales suelen ser representativas en los bosques templados de México. Sin embargo, el número de especies fue disminuyendo conforme aumento la altitud, de la misma manera se comportaron la riqueza y diversidad de especies. Algunos autores mencionan que esta disminución puede ser derivada por diversos factores como la radiación solar, el agua, los nutrientes, la temperatura, entre otros. Por otro lado, se encontró un mayor grado de similitud en composición de especies entre los pisos 2 y 3 donde dominaron los géneros *Pseudotsuga* y *Abies*, observándose un recambio de especies notable entre estos y el piso 1, lo cual indica que cada piso altitudinal alberga especies únicas y desempeña un papel vital en la estructura y la función del ecosistema en su conjunto.

La estructura vertical de los pisos evaluados mostró que existe una diversidad media - alta respecto a la altura del arbolado, donde presentó heterogeneidad de especies en los estratos de altura, asegurando el reclutamiento de individuos en estratos inferiores; esta diversidad descendió con el aumento de la altitud debido a la dominancia en altura de individuos de

géneros e *Pseudotsuga* y *Abies*, además, la distribución diamétrica reflejó que el gradiente presenta regeneración natural, evidenciando que se encuentran en una etapa de reclutamiento de individuos. Se encontró que únicamente *Pinus arizonica*, *Quercus fulva*, *Quercus rugosa*, *Quercus sideroxyla* y *Juniperus deppeana* presentaron deficiencia en su regeneración en alguno de los pisos altitudinales, intuyendo que esto sucede por la amplia dominancia de otras especies en el área, aunque no hubo diferencias significativas entre su densidad y la del arbolado adulto, lo cual nos encamina a generar investigación especializada sobre el comportamiento de la regeneración. Aun así, encontramos que la apertura de dosel fue el factor mayormente relacionado con la densidad de regeneración, propiciando mejores condiciones para la regeneración, especialmente a especies intolerantes a la sombra, las cuales predominan en el gradiente evaluado.

Consideramos que la evaluación de los ecosistemas a través de gradientes altitudinales es importante para fortalecer el conocimiento y comprensión de los distintos cambios que se presentan a través de las variaciones topográficas y climáticas, así como la reacción que tiene la distribución y comportamiento de las especies frente a estos.

AGRADECIMIENTOS

Al personal de la Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP) - Dirección Regional Norte y Sierra Madre Occidental por el apoyo brindado para la ejecución de este estudio en el APFF Cerro Mohinora en Guadalupe y Calvo, Chihuahua.

LITERATURA CITADA

- Aguirre, C. O. A. (2002). Índices para la caracterización de la estructura del estrato arbóreo de ecosistemas forestales. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 27(92), 5-27. <http://cienciasforestales.inifap.gob.mx/index.php/forestales/article/view/900>
- Aguirre, O., Hui, G., Von Gadow, K., & Jiménez, J. (2003). An analysis of spatial forest structure using neighbourhood-based variables. *Forest Ecology and Management*, 183(1-3), 137-145. [https://doi.org/10.1016/S0378-1127\(03\)00102-6](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(03)00102-6)
- Aguirre-Calderón, O. A. (2015). Manejo Forestal en el Siglo XXI. *Madera y Bosques*, 21, 17-28. <https://doi.org/10.21829/MYB.2015.210423>
- Alanís Rodríguez, E., Mora Olivo, A., & Marroquin de la Fuente, J. S. (2020). *Muestreo ecologico de la vegetacion*. Editorial Universitaria de la Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Arizaga, S., J. Martínez Cruz, M. S. C. y M. A. B. G. (2009). *Manual de encinos michoacanos*. Instituto, 150.
- Arriaga, L., J.M. Espinoza, C. Aguilar, E. Martínez, L. G. y E. L. (coordinadores). (2000). *Regiones terrestres prioritarias de México. Comisión N.*
- Atalay, I. (2006). The effects of mountainous areas on biodiversity: a case study from the northern Anatolian Mountains and the Taurus Mountains. *Grazer Schriften Der Geographie Und Raumforschung*, 41, 17-26. www.unibas.ch/gmba
- Beals, E. W. (1984). *Advances in Ecological Research. Bray-Curtis ordination: An effective strategy for analysis of multivariate ecological data*. Orlando, Florida: Academic Press.
- Bennett, E. M., Peterson, G. D., & Gordon, L. J. (2009). Understanding relationships among multiple ecosystem services. *Ecology Letters*, 12(12), 1394-1404. <https://doi.org/10.1111/J.1461-0248.2009.01387.X>
- Bharali, S., Paul, A., Khan, M. L., & Singha, L. B. (2012). Impact of Altitude on Population Structure and Regeneration Status of Two *Rhododendron* Species in a Temperate Broad Leaved Forest of Arunachal Pradesh, India. *International Journal of Ecosystem*, 2(1), 19-27. <https://doi.org/10.5923/J.IJE.20120201.04>
- Brown, C. J., M. I. O'Connor, E. S. Poloczanska, D. S. Schoeman, L. B. Buckley, M. T. Burrows, C. M. Duarte, B. S. Halpern, J. M. Pandolfi, C. Parmesan and A. J.

- Richardson. (2015). Ecological and methodological drivers of species' distribution and phenology responses to climate change. *Global Change Biology* 22(4): 1548-1560. <https://doi.org/10.1111/gcb.13184>
- Buendía-Rodríguez, E., Treviño-Garza, E. J., Alanís-Rodríguez, E., Aguirre-Calderón, O. A., González-Tagle, M. A., & Pompa-García, M. (2019). Estructura de un ecosistema forestal y su relación con el contenido de carbono en el noreste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 10(54). <https://doi.org/10.29298/RMCF.V10I54.149>
- Castañeda, C., & Hansen, R. D. (2007). *Estudios botánicos en la Cuenca Mirador: Desarrollo de vegetación y su significado cultural*. In *XX Simp*, 111–120.
- Chauhan, P., J. Negi, L. Singh, and R. M. (2008). Regeneration Status of Sal Forests of Doon Valley. *Annals of Forestry*, 16, 178–182.
- Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. (2017). *Programa de Manejo Área de Protección de Flora y Fauna Papigochic*.
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). (2014). *Inventario nacional forestal y de suelos 2009 - 2014. Informe de resultados*. <https://snigf.cnf.gob.mx/wp-content/uploads/Resultados%2520Hist%25C3%25B3ricos%2520INFyS/2009%2520-%25>
- Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2018). *Bosques templados*. <https://www.biodiversidad.gob.mx/ecosistemas/bosqueTemplado>
- CONAFOR. (2012). *Inventario Nacional Forestal y de Suelos. Informe 2004-2009*. Coordinación General de Planeación e Información a Través de La Gerencia de Inventario Forestal y Geomática. Comisión Nacional Forestal, Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales.
- Corral, R. J., Jiménez P, J., Aguirre, C, Ó. A., & Corral, R, S. (2005). Un análisis del efecto del aprovechamiento forestal sobre la diversidad estructural en el bosque mesófilo de montaña “El Cielo”, Tamaulipas, México. *Investigación Agraria. Sistemas y Recursos Forestales*, ISSN 1131-7965, Vol. 14, N° 2, 2005, Págs. 217-228, 14(2), 217–228. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1223634&info=resumen&idioma=SPA>
- Cortés-Pérez, M., De León-González, F., Paz-Pellat, F., Leyva-Pablo, T., Santiago-García, W., Ponce-Mendoza, A., & Fuentes-Ponce, M. (2021). Almacenamiento de carbono aéreo en un bosque templado de Oaxaca: manejo de alta y baja intensidad. *Madera y Bosques*, 27(4), e2742440–e2742440. <https://doi.org/10.21829/MYB.2021.2742440>
- Cuellar, Q, J. C., Arciniegas, J. L., & Ortiz, J. H. (2018). *Modelo para la medición de QoE en IPTV*.
- da Cunha, T. A., Vargas, M. J. O., & Escalier, H. M. (2009). Ajuste y selección de modelos de regresión para estimar el volumen total de árboles. *Documento Técnico*, 5, 27.
- Dávila-Lara, M. A., Aguirre-Calderón, Ó. A., Jurado-Ybarra, E., Treviño-Garza, E., González-Tagle, M. A., & Trincado-Villagrán, G. F. (2019). Estructura y diversidad de especies arbóreas en bosques templados de San Luis Potosí, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 6(18), 399–409. <https://doi.org/10.19136/era.a6n18.2112>
- Dezzotti, A., Sbrancia, R., Rodríguez-Arias, M., Roat, D., & Parisi, A. (2003). Regeneración de un bosque mixto de *Nothofagus* (*Nothofagaceae*) después de una corta selectiva. *Revista Chilena de Historia Natural*, 76(4), 591–602. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2003000400004>
- Encina-Domínguez, J. A. (2015). Estructura y composición de especies de los bosques de *Abies vejarii* Martínez en Coahuila, México. In *Ecología, Biotecnología y Conservación del Género Abies en México* (pp. 43–60). Editorial Académica Española.
- García, S. A. G., Rodríguez, E. A., Calderón, O. A. A., Garza, E. J. T., & Ávila, G. G. (2020). Regeneración y estructura vertical de un bosque de *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco en Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 11(58). <https://doi.org/10.29298/RMCF.V11I58.665>
- García-García, S. A., Alanís-Rodríguez, E., Rubio-Camacho, E. A., Aguirre-Calderón, O. A., Treviño-Garza, E. J., & Graciano-Ávila, G. (2021). Patrones de distribución espacial del arbolado en un bosque de *Pseudotsuga menziesii* en Chihuahua, México. *Madera y Bosques*, 27(3), e2732242–e2732242. <https://doi.org/10.21829/MYB.2021.2732242>

- Gebeyehu, G., Soromessa, T., Bekele, T., & Teketay, D. (2019). Species composition, stand structure, and regeneration status of tree species in dry Afromontane forests of Awi Zone, northwestern Ethiopia. *Ecosystem Health and Sustainability*, 5(1), 199–215. <https://doi.org/10.1080/20964129.2019.1664938>
- González, C. R., Treviño, G. E. J., González, T. M. A., Duque, M. Á., & Gómez, C. M. (2018). Diversidad y estructura arbórea en un bosque de *Abies vejarii* Martínez en el sur del estado de Nuevo León. *Revista mexicana de ciencias forestales*, 9(45), 36–65. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i45.142>
- Graciano-Ávila, G., Aguirre-Calderón, Ó. A., Alanís-Rodríguez, E., & Lujan-Soto, J. E. (2017a). Composición, estructura y diversidad de especies arbóreas en un bosque templado del Noroeste de México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 4(12), 535–542. <https://doi.org/10.19136/ERA.A4N12.1114>
- Graciano-Ávila, G., Alanís-Rodríguez, E., Aguirre-Calderón, O. A., González-Tagle, M. A., Treviño-Garza, E. J., Mora-Olivo, A., & Corral-Rivas, J. J. (2020). Cambios en la composición y estructura de especies arbóreas en un bosque templado de Durango, México. *Acta Botanica Mexicana*, 127. <https://doi.org/10.21829/ABM127.2020.1522>
- Granados-Sánchez, D., López-Ríos, G. F., & Hernández-García, M. A. (2007). Ecología y silvicultura en bosques templados. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 13(1), 67–83.
- Hernández, R. V., López-Mata, L., Cruz-Rodríguez, J. A., & Luna, C. M. (2022). Nicho de regeneración de *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. & Cham. en el Monte Tlálóc, Parque Nacional Iztaccíhuatl-Popocatepetl, México. *Botanical Sciences*, 100(2), 331–344. <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.2912>
- Hernández-Moreno, J. A., Velázquez-Martínez, A., Fierros-González, A. M., Gómez-Guerrero, A., Reyes-Hernández, V. J., & Vera-Castillo, J. A. G. (2020). Estimación de biomasa aérea y carbono, en rodales con y sin manejo forestal en la Reserva de la Biosfera Mariposa Monarca. *Madera y Bosques*, 26(1). <https://doi.org/10.21829/MYB.2020.2611802>
- Holguín-Estrada, V. A., Alanís-Rodríguez, E., Aguirre-Calderón, O. A., Yerena-Yamalle, J. I., & Pequeño-Ledezma, M. A. (2021a). Estructura vertical de un bosque de galería en un gradiente altitudinal en el noroeste de México. *Polibotánica*, 0(51), 55–71. <https://doi.org/10.18387/POLIBOTANICA.51.4>
- Holguín-Estrada, V. A., Alanís-Rodríguez, E., Aguirre-Calderón, O., Yerena-Yamalle, J. I., & Pequeño-Ledezma, M. A. (2021b). Estructura y composición florística de un bosque de galería en un gradiente altitudinal en el noroeste de México. *Madera y bosques*, 27(2). <https://doi.org/10.21829/myb.2021.2722123>
- Jadán, O., Cedillo, H., Zea, P., Quichimbo, P., Peralta, Á., & Vaca, C. (2016). Relación entre deforestación y variables topográficas en un contexto agrícola ganadero, cantón Cuenca. *Bosques Latitud Cero*, 6(1).
- Jost, L. (2006). Entropy and diversity. *Oikos*, 113(2), 363–375. <https://doi.org/10.1111/J.2006.0030-1299.14714.X>
- Körner, C., & Paulsen, J. (2004). A world-wide study of high altitude treeline temperatures. *Journal of biogeography*, 31(5), 713–732. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2003.01043.x>
- Luna, R. E. O., Cantú, S. I., Yáñez, D. M. I. (2020). Efectos del manejo forestal en la composición y diversidad de la regeneración natural arbórea en bosques de la Sierra Madre Occidental. *Polibotánica*, 0(50), 19–30. <https://doi.org/10.18387/POLIBOTANICA.50.2>
- Magurran, A. E. (2021). Measuring biological diversity. *Current Biology*, 31(19), R1174–R1177. <https://doi.org/10.1016/J.CUB.2021.07.049>
- Malizia, A., Blundo, C., Carilla, J., Osinaga Acosta, O., Cuesta, F., Duque, A., ... & Young, K. R. (2020). Elevation and latitude drives structure and tree species composition in Andean forests: Results from a large-scale plot network. *PLoS one*, 15(4), e0231553. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231553>

- Mann, H. y Whitney, D. (1947). *On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other*. *Ann Math Stat.*
- Manzanilla, Q. G. E., J. M. M. Balderas., E. J. T. Garza., E. J., Ó. A. A. Calderón., E. A. Rodríguez., & J. I. Y. Yamallel. (2020). Diversidad, estructura y composición florística de bosques templados del sur de Nuevo León. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 11(61), 94–123. <https://doi.org/10.29298/RMCF.V11I61.703>
- Martínez-Calderón, V. M., Sosa-Ramírez, J., Siqueiros-Delgado, M. E., & Díaz-Núñez, V. (2021). Composición, diversidad y estructura de especies leñosas en los bosques templados de Monte Grande, Sierra Fría, Aguascalientes, México. *Acta Botanica Mexicana*, 2021(128), 1–20. <https://doi.org/10.21829/ABM128.2021.1829>
- Mateo, R. G., Felicísimo, Á. M., & Muñoz, J. (2011). Species distributions models: A synthetic revision. *Revista Chilena de Historia Natural*, 84(2), 217–240. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2011000200008>
- Parmesan, C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 37(1): 637-669.
- Pérez de la Rosa, J. A. (1998). Promoción de una variedad de pino serotino mexicano a nivel de especie. *Boletín Del Instituto de Botánica*, 5, Universidad de Guadalajara (IBUG). 127-135.
- Pretzsch, H. (2009). Forest Dynamics, Growth, and Yield. *Forest Dynamics, Growth and Yield*, 1–39. https://doi.org/10.1007/978-3-540-88307-4_1
- Promis, A., Caldentey, J., & Ibarra, M. (2010). Microclima en el interior de un bosque de *Nothofagus pumilio* y el efecto de una corta de regeneración. *Bosque (Valdivia)*, 31(2), 129–139. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002010000200006>
- R Core Team. (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Recuperado de <https://www.r-project.org/>
- Rapoport, E. H. (1975). Aerografía: estrategias geográficas de las especies. Fondo cultural económica. 624
- Rascón-Solano, J., Galván-Moreno, V. S., Aguirre-Calderón, O. A., & García-García, S. A. (2022). Caracterización estructural y carbono almacenado en un bosque templado frío censado en el noroeste de México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 13(70), 136–165. <https://doi.org/10.29298/RMCF.V13I70.1123>
- Reyes, J. C. R., Garza, E. J. T., Rodríguez, E. B., Calderón, O. A. A., & Martínez, J. I. L. (2017). Productividad y estructura vertical de un bosque templado con incidencia de incendios forestales. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 8(43), 064–088. <https://doi.org/10.29298/RMCF.V8I43.66>
- Rodríguez, J. P., Beard, T. D., Bennett, E. M., Cumming, G. S., Cork, S. J., Agard, J., Dobson, A. P., & Peterson, G. D. (2006). Trade-offs across Space, Time, and Ecosystem Services. *Ecology and Society*, 11(1). <http://www.jstor.org/stable/26267786>
- Romahn-Hernández, L. F., Rodríguez-Trejo, D. A., Villanueva-Morales, A., Monterroso-Rivas, A. I., & Pérez-Hernández, M. de J. (2020). Rango altitudinal: factor de vigor forestal y determinante en la regeneración natural del oyamel. *Entreciencias: Diálogos En La Sociedad Del Conocimiento*, 8(22). <https://doi.org/10.22201/ENESL.20078064E.2020.22.72751>
- Rubio-Camacho, E. A., González-Tagle, M., Jiménez-Pérez, J., Alanís-Rodríguez, E., & Avila-Flores, D. (2014). Diversidad y distribución vertical de especies. *Ciencia UANL*, 17(65), 34. <http://core.ac.uk/download/pdf/19881652.pdf#page=35>
- Rzedowski, J. (1978). *Vegetación de México* (Editorial Limusa, Ed.).
- Sáenz-Romero, C., Snively, A. E., & Lindig-Cisneros, R. (2003). Conservation and restoration of pine forest genetic resources in México. *Silvae Genetica*, 52(5–6), 233–237. <https://digitalcommons.cwu.edu/studentarticles>
- Silva-García, J. E., Aguirre-Calderón, O. A., Alanís-Rodríguez, E., Jurado-Ybarra, E., Jiménez-Pérez, J., & Vargas-Larreta, B. (2021). Estructura y diversidad de especies arbóreas en un bosque templado del noroeste de México. *POLIBOTÁNICA*, 0(52). <https://doi.org/10.18387/POLIBOTANICA.52.7>

Recibido:
28/enero/2023

Aceptado:
16/junio/2023

- Silva-González, E., Aguirre-Calderón, O. A., Treviño-Garza, E. J., Alanís-Rodríguez, E., & Corral-Rivas, J. J. (2021). Efecto de tratamientos silvícolas en la diversidad y estructura forestal en bosques templados en Durango, México. *Madera y Bosques*, 27(2). <https://doi.org/10.21829/MYB.2021.2722082>
- Sola, G., Attis Beltrán, H., Chauchard, L., & Gallo, L. (2015). Effect of silvicultural management on the *Nothofagus dombeyi*, *N. alpina* and *N. obliqua* forest regeneration within the Lanín Natural Reserve (Argentina). *Bosque (Valdivia)*, 36(1), 113–120. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002015000100012>
- Sotelo, J. M. C., Martínez, A. V., & Musálem, M. A. (1998). Comportamiento de la repoblación natural de *Pinus arizonica* Engelm. bajo diferentes coberturas. *Madera y Bosques*, 4(2), 39-44.
- Sprauer, S., J, Hansen., & J, Nagel. (2019). *TreeGrOSS: ForestSimulation Version 8.0.6* (Region Nordwestdeutschland).
- Tiwari, O. P., Sharma, C. M., & Rana, Y. S. (2020). Influence of altitude and slope-aspect on diversity, regeneration and structure of some moist temperate forests of Garhwal Himalaya. *Tropical Ecology*, 61(2), 278–289. <https://doi.org/10.1007/S42965-020-00088-4/METRICS>
- van der Putten, W. H., Bradford, M. A., Pernilla Brinkman, E., van de Voorde, T. F. J., & Veen, G. F. (2016). Where, when and how plant–soil feedback matters in a changing world. *Functional Ecology*, 30(7), 1109–1121. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12657>
- Xu, M., Ma, L., Jia, Y., & Liu, M. (2017). Integrating the effects of latitude and altitude on the spatial differentiation of plant community diversity in a mountainous ecosystem in China. *PloS one*, 12(3), e0174231. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0174231>
- Yadav, A. S., & Gupta, S. K. (2006). Effect of micro-environment and human disturbance on the diversity of woody species in the Sariska Tiger Project in India. *Forest Ecology and Management*, 225(1–3), 178–189. <https://doi.org/10.1016/J.FORECO.2005.12.058>



Polibotánica

ISSN electrónico: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

EFFECTOS DEL MANEJO FORESTAL EN LA EMISIÓN DE CO₂ DE UN SUELO UMBRISOL EN BOSQUES DE DURANGO, MÉXICO

EFFECTS OF FOREST MANAGEMENT ON THE SOIL CO₂ EMISSION OF AN UMBRISOL IN FORESTS OF DURANGO, MEXICO

Luna Robles, Erik Orlando; Israel Cantú Silva; Francisco Javier Hernández y Silvia Janeth Bejar Pulido

EFFECTOS DEL MANEJO FORESTAL EN LA EMISIÓN DE CO₂ DE UN SUELO UMBRISOL EN BOSQUES DE DURANGO, MÉXICO

EFFECTS OF FOREST MANAGEMENT ON THE SOIL CO₂ EMISSION OF AN UMBRISOL IN FORESTS OF DURANGO, MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 101-114 México. Julio 2023

DOI: 10.18387/polibotanica.56.6



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0
Atribución-No Comercial ([CC BY-NC 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)).

Efectos del manejo forestal en la emisión de CO₂ de un suelo umbrisol en bosques de Durango, México

Effects of forest management on the soil CO₂ emission of an umbrisol in forests of Durango, Mexico

Erik Orlando Luna Robles;
Israel Cantú Silva;
Francisco Javier Hernández y
Silvia Janeth Bejar Pulido

EFFECTOS DEL MANEJO
FORESTAL EN LA EMISIÓN
DE CO₂ DE UN SUELO
UMBRISOL EN BOSQUES
DE DURANGO, MÉXICO

EFFECTS OF FOREST
MANAGEMENT ON THE
SOIL CO₂ EMISSION OF AN
UMBRISOL IN FORESTS OF
DURANGO, MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 00-00. Julio 2023

DOI:

10.18387/polibotanica.56.6

Erik Orlando Luna Robles / eranroka@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5133-0403>
TECNM / Instituto Tecnológico de El Salto

Israel Cantú Silva / icantu59@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8996-0881>
Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma de Nuevo León

Francisco Javier Hernández / fcojhernan@yahoo.com.mx
<https://orcid.org/0000-0003-0480-624X>

Silvia Janeth Bejar Pulido / siljan2411@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-5163-704X>
TECNM / Instituto Tecnológico de El Salto

RESUMEN: En los suelos forestales se llevan a cabo diferentes procesos biogeoquímicos, los cuales han sido modificados por acciones antrópicas, por lo que las actividades ligadas al manejo forestal no son la excepción. El objetivo fue determinar el efecto de tres cortas de regeneración Árboles Padre, Matarrasa y Selección sobre la respiración del suelo en un Umbrisol, comparándolos con un área regenerada Post incendio y un rodal de Referencia, en bosques templados de Durango, México. La respiración del suelo se determinó con mediciones realizadas de las 12:30 a 15:00 h durante el periodo de diciembre de 2019 a octubre de 2020 empleando el sistema portátil EGM-4 (U.K.). La tasa de respiración del suelo osciló entre 0 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (21 de diciembre de 2019, rodal de Matarrasa) y 36.45 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (27 de julio, rodal Árboles Padre). Todos los rodales presentaron tasas promedio bajas de respiración del suelo, respecto al rodal de Referencia (8.86 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Los flujos de CO₂ fueron mayores al inicio de la temporada de lluvias. Los resultados demostraron que las prácticas silvícolas empleadas en la región de estudio son una buena estrategia para reducir las emisiones de CO₂ a la atmosfera.

Palabras clave: suelos forestales, procesos biogeoquímicos, cortas de regeneración, respiración del suelo, cambio climático.

ABSTRACT: Different biogeochemical processes are carried out in forest soils, which have been modified by anthropic actions, so that activities related to forest management are not the exception. Therefore, the objective was to determine the effect of three regeneration cuts (Seed trees, Clear cutting and Selection) on the soil respiration in an Umbrisol, comparing them with a Post-fire regenerated area and a Reference stand in temperate forests of Durango, Mexico. Soil respiration was determined with measurements made in the afternoon (12:30 to 15:00 h) during the period from December 2019 to October 2020 using the portable EGM-4 system (U.K.). The soil respiration rate ranged between 0 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (December 21, 2019, Clear cutting stand) and 36.45 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (July 27, Seed trees stand). Specifically, all the stands presented average low rates of soil respiration with respect to the reference stand (8.86 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). CO₂ fluxes were higher at the beginning of the rainy season. The results showed that the silvicultural practices used in the study region are a good strategy to reduce CO₂ emissions into the atmosphere and thus mitigate the processes related to climate change.

Key words: forest soils, biogeochemical processes, regeneration cuts, soil respiration, climate change.

INTRODUCCIÓN

El dióxido de carbono (CO₂) es uno de los gases de efecto invernadero (GEI) impulsores del cambio climático, sus emisiones hacia la atmósfera son tanto de origen natural como antrópico (Zárate Malpica & Miranda Zambrano, 2016). En este sentido, el cambio de uso del suelo y la silvicultura representaron el 6.3% (46.9 millones de toneladas de CO₂) de las emisiones totales en el periodo de 1990 a 2010, donde el consumo de combustibles fósiles fue la principal fuente de emisiones (Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático [INECC], 2013). Los bosques cubren aproximadamente el 30% de la superficie terrestre y son considerados como el principal reservorio de carbono con 681 ± 66 Pg, de esa cantidad alrededor del 44% se encuentra en el suelo (383 ± 28 Pg C), por tal razón estos juegan un papel significativo en la mitigación del cambio climático (Brown & Markewitz, 2018).

En el interior del suelo existen dos procesos biológicos responsables del flujo de CO₂: la respiración autótrofa emitida por la actividad metabólica de las raíces y la producción de dióxido de carbono generada por la respiración heterótrofa, cuando los organismos realizan la descomposición de material orgánico (Vargas *et al.*, 2010b). Esta variable ecopedológica es considerada como un indicador de las tasas de descomposición y liberación de los nutrientes las cuales están sujetas por la calidad de la materia y otras variables del suelo (humedad y temperatura del suelo) (Guerrero *et al.*, 2012), por lo que su evaluación es de importancia para definir criterios del manejo sustentables del suelo y vegetación (Vargas *et al.*, 2010a; Millan-Romero *et al.*, 2018; Yan *et al.*, 2019).

De acuerdo a Cruz-Sánchez *et al.* (2022) los balances en las emisiones de gases como el dióxido de carbono en bosques son importantes por su extensión a nivel global, donde la mayor producción de CO₂ se origina por la respiración del suelo (Oertel *et al.*, 2016). Particularmente se estima que la respiración del suelo libera entre 50 y 75 Pg C año⁻¹, y según Cueva *et al.* (2012) es considerada como la segunda mayor fuente de intercambio de CO₂ terrestre a la atmósfera, solo después de la fotosíntesis. Sin embargo, a nivel global el suelo se encuentra sometido a diferentes presiones tales como urbanización, actividades agrícolas, silvicultura e incendios forestales que afectan su funcionalidad, desencadenando reacciones inmediatas sobre procesos relacionados con el cambio climático (Sahagún & Reyes, 2018). El manejo forestal puede alterar directa o indirectamente en las emisiones de CO₂ del suelo, convirtiéndolos en fuentes o sumideros dependiendo del bosque, su composición, edad y las prácticas silvícolas que se implementen (Jandl *et al.*, 2007).

Específicamente en el estado de Durango el manejo forestal contempla dos cortas de regeneración para la cosecha de las masas forestales, las cuales son cortas de selección (individual o grupal) y árboles padre correspondientes al Método Mexicano de Ordenación de Bosques Irregulares (MMOBI) y Método de Desarrollo Silvícola (MDS), respectivamente (López Hernández *et al.*, 2017). Sin embargo, durante la última década se han implementado cortas de regeneración de corta total o Matarrasa, aunque en menor extensión de terreno por la orografía de la región. La ejecución de estas prácticas silvícolas implica variada intensidad de mecanización y sistema de aprovechamiento (Monárrez-González *et al.*, 2018), las influyen en la respiración del suelo, a través de la extracción de biomasa y la apertura de la cubierta forestal, lo que modifica las características micro climáticas del suelo (Lull *et al.*, 2020). Asimismo, la eliminación parcial del arbolado influye en la densidad de raíces, comunidades microbianas, incorporación de materia orgánica y los ciclos de nutrientes, además las cortas resultarán en la muerte de los sistemas de raíces de los árboles cosechados, lo que debería reducir la contribución de la respiración de las raíces al CO₂ liberada de los suelos (Olajuyigbe *et al.*, 2012).

A nivel mundial los primeros antecedentes en la literatura relacionados sobre respiración del suelo datan de inicios del siglo XX principalmente en regiones europeas y norte americanas (Bond-Lamberty & Thomson, 2010), en cuanto a México a pesar de su marcada diversidad de ecosistemas se han realizado evaluaciones en regiones desérticas, boscosas y tropicales mayoritariamente a partir del siglo XXI dominando aquellos realizados en sistemas agrícolas y forestales tropicales sobre los realizados en bosques templados (Cueva *et al.*, 2012). Es importante resaltar que varios de los estudios en áreas forestales de México abordan los efectos de los cambios de uso de suelo donde los flujos de CO₂ aumentan significativamente derivado de las diferentes prácticas que se implementan para maximizar la producción agrícolas o pecuarias (Cueva *et al.*, 2016; Yáñez Díaz *et al.*, 2017). En bosques templados ha sido reportado por Cruz-Sánchez *et al.* (2022) que la respiración del suelo está influenciada por la cobertura vegetal, la temperatura y humedad del suelo, y las condiciones climáticas dependiendo de la temporada del año. Aunado a lo anterior, cabe señalar que la respiración media anual del suelo es hasta en un 72% superior en bosques característicos de latifoliadas que en los bosques de coníferas. Diversos estudios han demostrado que las prácticas silvícolas implementadas alteran el entorno del suelo, pero la mayoría de los estudios se centran en evaluar los impactos sobre las reservas de carbono y otras propiedades físicas y químicas mientras que la información sobre la respuesta fisiológica de los procesos del suelo, como la respiración es limitada (Luna-Robles *et al.*, 2021; Cantú Silva & Luna Robles, 2022). No obstante, entre los estudios que reportan los efectos de los tratamientos silvícolas sobre la respiración del suelo destacan que los cambios en las tasas de entrada y descomposición de la materia orgánica, derivado de la apertura del dosel, cambios en la humedad y temperatura del suelo son los principales factores que alteran el flujo de CO₂ del suelo a la atmósfera (James & Harrison, 2016; Darenova & Čater, 2018).

Con la finalidad de entender si las prácticas forestales conducen a reducir o aumentar los flujos de dióxido de carbono emitidos por la respiración del suelo tipo Umbrisol, los propósitos de este trabajo fueron: a) comparar la respuesta de la respiración del suelo en rodales con regeneración natural establecida a través de las cortas de regeneración de Árboles padre, Selección y Matarrasa contra un área regenerada Post incendio y un rodal control denominado de Referencia y b) analizar la relación de las variables temperatura y humedad del suelo con la respiración en bosques templados fríos de Durango, México.

MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el ejido de La Ciudad (2583 msnm), en la Sierra Madre Occidental, en el municipio de Pueblo Nuevo, Durango. El clima característico es semifrío subhúmedo con lluvias en verano con una temperatura media anual que oscila de 5 °C a 12 °C, la precipitación media anual es de 1200 mm, siendo el intervalo de julio a septiembre como el período más húmedo (García, 1973). El tipo de suelo dominante es el Umbrisol, el cual se caracteriza por tener un alto contenido de materia orgánica dentro del primer metro de profundidad y niveles de pH muy ácidos (<5.5) con baja saturación de bases (WRB, 2022), solo ocupan el 1% de la superficie continental de México, el 2.91% de la superficie del estado de Durango y específicamente el 3.3% del Municipio de Pueblo Nuevo, concentrándose principalmente en los bosques del ejido La Ciudad, (Fig. 1) (INEGI, 2005). La vegetación está compuesta principalmente por *Pinus durangensis* Martínez, *P. cooperi* C. E. Blanco, *P. ayacahuite* Ehren, *Juniperus deppeana* Steud. y *Quercus sideroxylla* Bonpl. (González-Elizondo *et al.*, 2022).

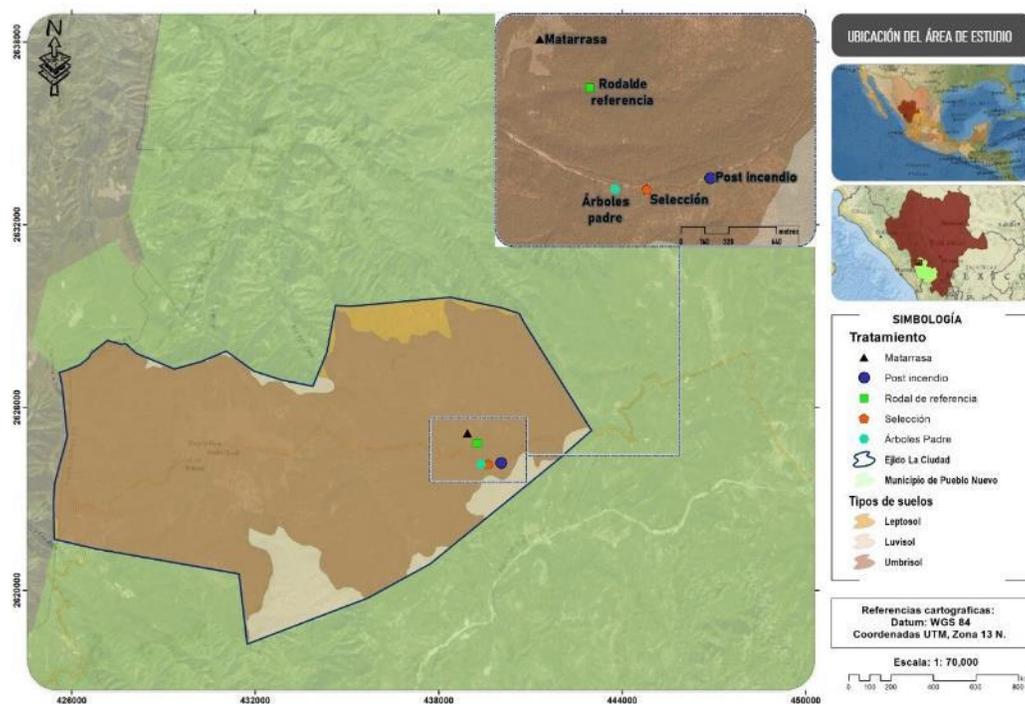


Fig. 1. Ubicación del área de estudio.

La evaluación se llevó a cabo en cinco rodales silvícolas con diferentes condiciones de manejo y perturbación, los cuales se describen a continuación: a) Matarrasa (intensidad de corta: 100%): consistió en la extracción total de la masa forestal en un área de 10.29 ha; b) Árboles Padre (intensidad de corta: 80%): aplicada en un área de 9 ha con un volumen inicial y posterior de 206.8 y 41.3 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$; c) Selección (intensidad de corta: 34%); superficie aplicada de 20 ha, con un volumen inicial y posterior de 223.8 y 147.4 $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$, y d) Área regenerada Post incendio de 10 ha; y e): Rodal de Referencia o testigo de 4.35 ha con una masa arbórea próxima a aplicarse corta de regeneración. Algunas características de los rodales se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores promedio de las características de la vegetación y del suelo de los diferentes rodales silvícolas.

Características	Vegetación				Suelo				
	Rodal	Densidad Individuos ha^{-1}	DN (>7 cm)	Altura (m)	DA (g cm^{-3})	Ho (Mg ha^{-1})	Humus (Mg ha^{-1})	pH	MOS (%)
Matarrasa		160	7.7	3.2	0.5	0.3	0.7	4.2	10.7
Árboles Padre		80	38.1	18.2	0.7	0.9	2.3	4.4	9.6
Selección		250	26.8	15.4	0.8	2.1	2.4	4.0	8.8
Post incendio		6400	8.1	7.4	0.6	0.9	2.5	4.7	9.6
Referencia		660	21.2	16.2	0.6	1.6	2.3	4.3	8.1

DN= Diámetro normal, DA= Densidad aparente, Ho= hojarasca, MOS: Materia orgánica del suelo Fuente: Luna-Robles *et al.* (2021); Cantú Silva & Luna Robles (2022).

Muestreo

La respiración del suelo se determinó en cada uno de los rodales durante el periodo del 21 de diciembre de 2020 al 10 de octubre de 2021 con mediciones en la tarde (12:30 a 15:00 h) semanalmente, considerando este horario como el de mayor actividad de flujo de CO₂ (Yáñez Díaz *et al.*, 2017). Las lecturas se tomaron en cada rodal silvícola, con cuatro repeticiones distribuidas aleatoriamente en el área de muestreo con una distancia mínima entre ellas de 10 m, con un total de 20 mediciones por fecha de muestreo.

La respiración se estimó a partir de la metodología descrita por Cantú *et al.* (2010), la cual consiste en utilizar el sistema portátil EGM-4 (PP-Systems, U.K.). Este equipo cuenta con un analizador de gases por infrarrojos (IRGA) y una cámara dinámica cerrada (SCR-1) que calcula y registra la tasa de respiración del suelo (flujo de CO₂). Su uso es muy práctico e implica la colocación directa de la cámara sobre el suelo por aproximadamente 120 s, registrando las concentraciones de CO₂ en micromoles de dióxido de carbono por metro cuadrado por segundo ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). La temperatura del suelo se midió en conjunto con la respiración, mediante un sensor (STP-1) instalado en el EGM-4 (Fig. 2).



Fig. 2. Estimación del flujo de CO₂ mediante el sistema portátil EGM-4

Análisis estadísticos

Los datos de las variables de humedad (%), temperatura (°C) y respiración del suelo ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) fueron sometidos a pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Cuando los datos no cumplieron el supuesto de normalidad, se aplicó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para determinar si existen diferencias estadísticas entre los rodales evaluados ($P \leq 0.05$). Asimismo, se evaluó el grado de correlación entre las propiedades del suelo mediante el coeficiente de correlación de Spearman. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete estadístico Statistical Package for the Social Sciences, versión 22.

RESULTADOS

De acuerdo a las pruebas de normalidad de Kolmogórov-Smirnov ninguna de las variables cumplió con este supuesto a pesar de realizar las transformaciones disponibles ($P \geq 0.05$), por lo cual se emplearon pruebas no paramétricas para detectar diferencias significativas entre rodales silvícolas (Kruskal Wallis, $P < 0.05$). En este sentido solo temperatura y respiración del suelo presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los diferentes rodales silvícolas en contraste con la humedad del suelo que no presentó diferencias (Tabla 2).

Tabla 2. Estadísticos de las pruebas de normalidad de Kolmogórov-Smirnov y prueba de Kruskal Wallis para las variables del suelo

Estadísticos de pruebas	Temperatura	Respiración	Humedad
Kolmogórov-Smirnov			
N	560	560	560
Estadístico de K-S	0.088	0.171	0.088
Valor de P	0.001 ^{NS}	0.001 ^{NS}	0.001 ^{NS}
Kruskal Wallis			
Chi-cuadrado	30.678	11.311	6.996
gl	4	4	4
Valor de P	0.001*	0.023*	0.136

NS: No Significativo, * Valores con asterisco (Kruskal-Wallis) representan diferencias estadísticas significativas

Los flujos medios de CO₂ van de un mínimo de 6.31 hasta un máximo de 8.86 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, particularmente se observó una disminución de la respiración del suelo en todos los rodales respecto al rodal de Referencia, presentando el siguiente orden descendente Referencia > Árboles Padre > Selección > Matarrasa < Post incendio. Los valores más altos y bajos de temperatura del suelo se presentaron en Referencia y Post incendio, por último, la humedad del suelo promedio fue de 44% (Tabla 3).

Tabla 3. Estadísticos descriptivos de las variables del suelo en los diferentes rodales silvícolas (n=28).

Estadísticos descriptivos	Árboles Padre	Post incendio	Matarrasa	Referencia	Selección
Flujos de CO₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)					
Media	8.42*	6.31*	6.98*	8.86*	7.17*
Mediana	4.49	4.39	4.39	6.86	4.57
Desviación estándar	8.57	4.26	5.90	6.53	6.30
Máximo	36.45	13.97	19.52	26.51	24.57
Mínimo	1.10	0	0.65	2.24	1.15
Temperatura (°C)					
Media	20.14*	16.37*	21.41*	17.53*	19.57*
Mediana	20.38	17.71	21.00	18.50	19.38
Desviación estándar	6.54	5.83	6.25	6.03	7.02
Máximo	34.00	27.25	34.50	26.00	31.33
Mínimo	4.50	0	5.25	6.00	3.25
Humedad (%)					
Media	46.50 ^{NP}	43.99 ^{NP}	39.65 ^{NP}	42.83 ^{NP}	45.16 ^{NP}
Mediana	51.86	43.31	37.54	43.57	48.94
Desviación estándar	23.11	20.18	19.51	18.15	20.78
Máximo	78.37	90.06	87.64	78.52	86.94
Mínimo	9.21	0	8.25	12.12	14.20

* Valores con asterisco (Kruskal-Wallis) representan diferencias estadísticas significativas entre los rodales ($P \leq 0.05$), NP: representan nulas diferencias estadísticas significativas entre los rodales ($P \geq 0.05$).

Respiración del suelo

La tasa de respiración del suelo osciló entre $0 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (21 de diciembre de 2019, rodal de Matarrasa) y $36.45 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (27 de julio, rodal Árboles Padre). En la figura 3 se aprecia que la respiración del suelo se mantuvo baja durante el periodo de diciembre de 2019 a mayo de 2020, incrementándose durante el periodo de julio a agosto, el cual coincide con la temporada de lluvias de la región. Pasado el periodo de lluvias la respiración del suelo tiende a disminuir a los niveles registrados durante el invierno y primavera. Particularmente, se presentaron diferencias en 13 de los 28 muestreos durante el periodo evaluado entre los rodales silvícolas.

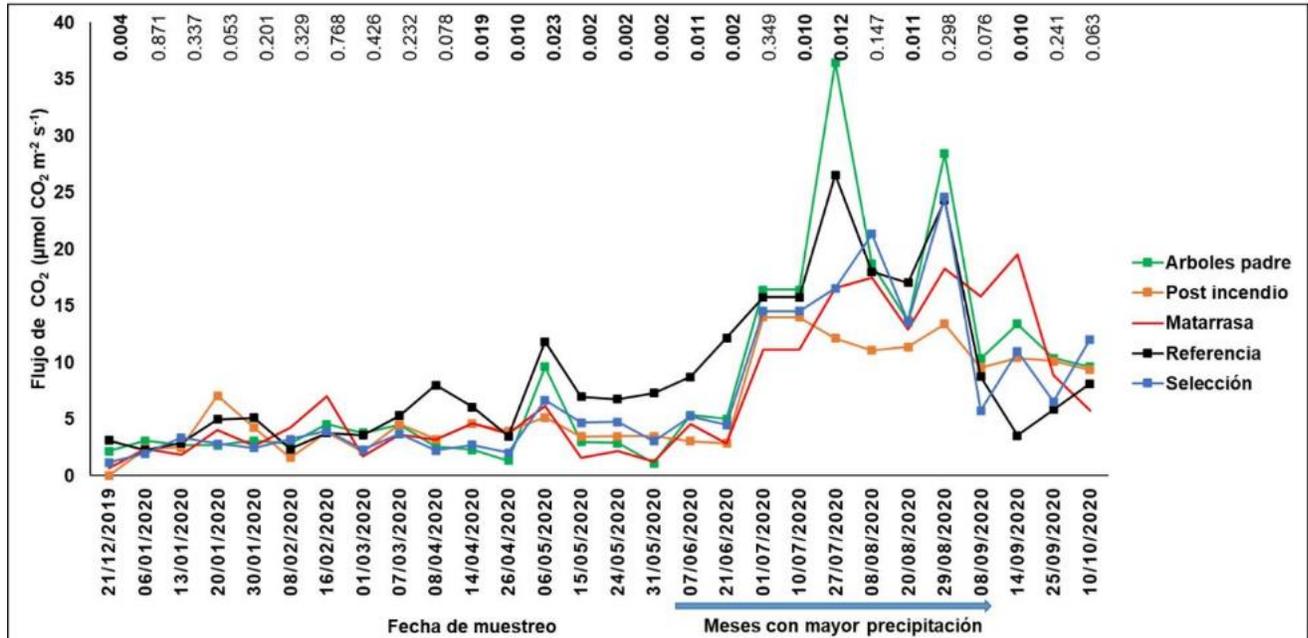


Fig. 2. Variación estacional de la respiración del suelo para los distintos rodales silvícolas. El valor p de la prueba de Kruskal-Wallis para detectar diferencias significativas (≤ 0.05), se señala para cada fecha de muestreo en negrillas.

Temperatura del suelo

El comportamiento de la temperatura del suelo siguió una misma tendencia en los distintos rodales evaluados en el área de estudio, con registros bajos durante el muestreo de invierno, aumentos paulatinos durante primavera y estabilidad durante los muestreos correspondientes al verano y parte de otoño. La temperatura más baja registrada ocurrió en la fecha correspondiente al 21 de diciembre de 2019, variando de 3 a 6 °C y las temperaturas del suelo más altas observadas (18.5 a 34 °C) fueron durante el mes de mayo de 2020. La temperatura del suelo presentó diferencias en 25 de los 28 muestreos realizados (Fig. 4).

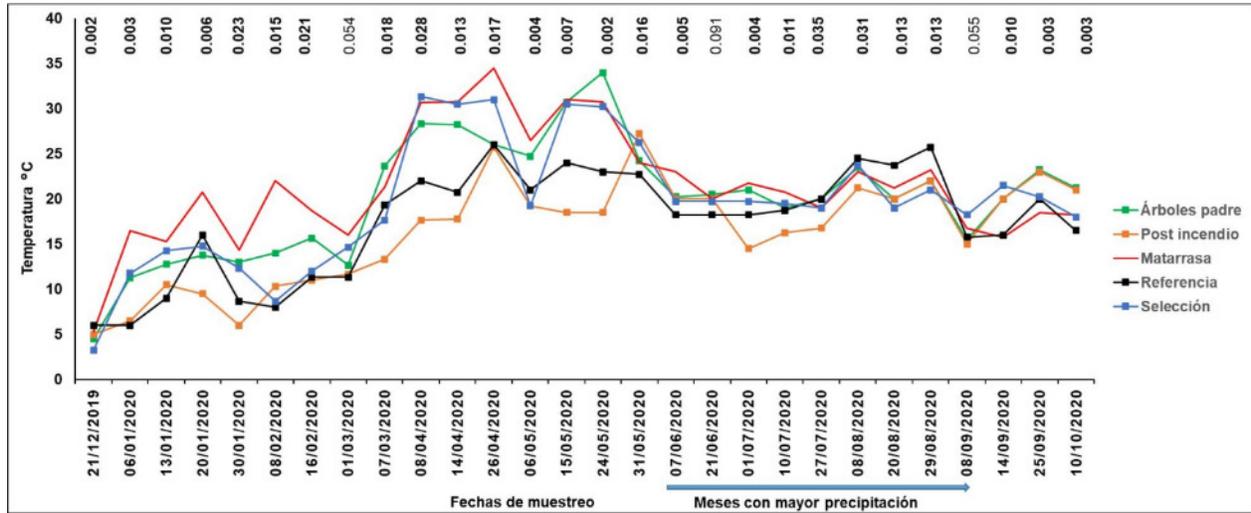


Fig. 3. Variación de la temperatura del suelo para los distintos rodales silvícolas. El valor p de la prueba de Kruskal-Wallis para detectar diferencias significativas (≤ 0.05), se señala para cada fecha de muestreo en negrillas.

Humedad del suelo

Durante el periodo evaluado la humedad del suelo se comportó de manera más variable, fluctuando de manera general entre el 9 y 90%. Los registros de mayor humedad se produjeron en verano, el cual corresponde a la temporada de lluvias en la región, durante el intervalo de muestreos 7-16 (16 de febrero a 31 de mayo de 2020) presentó una notoria disminución coincidiendo con la época seca. La prueba de Kruskal-Wallis indicó que solo 8 muestreos presentaron diferencias significativas entre los rodales (Fig. 5).

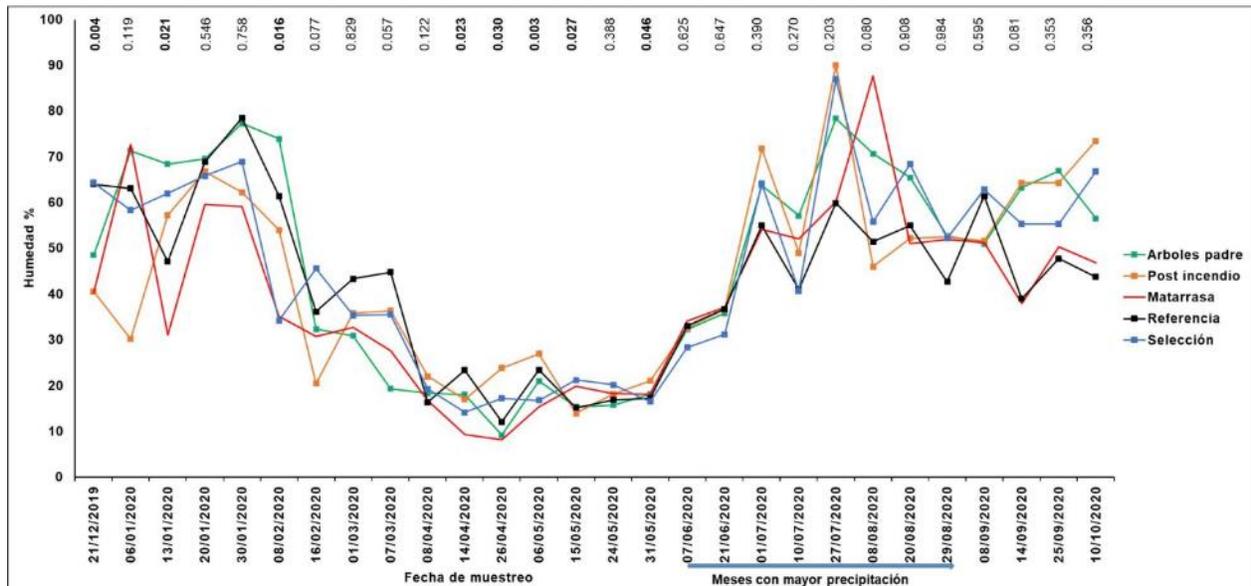


Fig. 4. Variación de la humedad del suelo para los distintos rodales. El valor p de la prueba de Kruskal-Wallis para detectar diferencias significativas (≤ 0.05), se señala para cada fecha de muestreo en negrillas.

Correlaciones entre la temperatura, humedad y la respiración del suelo

La matriz de correlación de Spearman permite detectar que los flujos de CO₂ emitidos por la respiración del suelo se relaciona positivamente con la humedad y temperatura del suelo, con coeficientes de correlación del 0.272** y 0.700** respectivamente (Tabla 4).

Tabla 4. Coeficientes de correlaciones de Spearman entre la humedad, temperatura y respiración del suelo

Variables	Respiración del suelo ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	Humedad (%)	Temperatura (°C)
Respiración del suelo ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	1.000	0.272**	0.700**
Valor de p	---	0.0001	0.0001
Humedad (%)	0.272**	1.000	0.108*
Valor de p	0.0001	---	0.011
Temperatura (°C)	0.700**	0.108*	1.000
Valor de p	0.0001	0.011	---

** Correlación significativa en el nivel 0.01, * correlación es significativa en el nivel 0.05

DISCUSIÓN

Los flujos de CO₂ observados en la respiración del Umbrisol son considerados como típicos para bosques templados y bajos en comparación con otro tipo de ecosistemas, pudiendo atribuirse a la composición y calidad de la materia orgánica y residuos leñosos, cambios en la densidad del rodal y variables como temperatura y humedad del suelo (Sun *et al.*, 2018; X. Zhang *et al.*, 2018).

El nivel de pH del Umbrisol es considerado como altamente ácido para todos los rodales analizados (Cuadro 1), coincidiendo con lo establecido por la WRB (2022) quien señala que el suelo Umbrisol posee niveles de pH muy bajos (<5.5). Lo anterior puede llegar a influir sobre los procesos de humificación y mineralización de la materia orgánica y en el desarrollo adecuado de los microorganismos del suelo, pudiendo reducir considerablemente las tasas de respiración del suelo, lo cual ha sido reportado por otros estudios con valores de pH menores a 5 (Zhang *et al.*, 2016; Barajas Guzmán *et al.*, 2020).

Los rodales aprovechados con las cortas de regeneración, así como en Post incendio presentaron tasas bajas de respiración promedio del suelo, respecto al rodal de Referencia, dicha tendencia ha sido reportada en otros estudios sobre respiración del suelo en zonas templadas y boreales. Zhang *et al.* (2018) señalan que los flujos de CO₂ son mayores durante los primeros dos años de recuperación de las masas forestales, pero no en etapas posteriores, debido principalmente a que los cambios en el piso forestal y las variables edáficas provocan una activación significativa de los organismos heterótrofos. Particularmente los rodales del presente estudio cuentan con una edad promedio de ocho años de ser sometidos el aprovechamiento y, en su caso, siniestrados por el incendio, tiempo en el cual pudo haberse estabilizado la actividad biológica del suelo. Aunado a lo anterior, los resultados del presente estudio concuerdan con Ma *et al.* (2013) quienes señalan que las cortas alteran en diferente proporción la densidad de los rodales, raíces vivas y entrada de materia orgánica a los suelos y por ende se reducen las emisiones de CO₂ que realizan las raíces y microorganismos asociados. Así mismo las reducciones de respiración del suelo pueden también ser atribuidas a cambios en la comunidad microbiana, tales como la aclimatación y adaptación microbiana (Mayer *et al.*, 2017).

En el presente estudio la respiración del suelo presentó correlaciones positivas con la temperatura y humedad del suelo lo cual provocó que la tasa de respiración presentará una variación estacional asociada principalmente a los cambios de temperatura y humedad del suelo, variables que dependen de varias características propias del sitio, por ejemplo, la densidad, exposición a la radiación, cobertura, viento o acumulación de materia orgánica, al igual que las diversas condiciones ambientales (Han *et al.*, 2018).

Particularmente en el periodo de diciembre-marzo la respiración del suelo presentó los flujos más bajos de CO₂, lo cual puede también estar atribuido principalmente a la ecología del ecosistema ya que durante el periodo invernal es cuando se reducen considerablemente los procesos biológicos relacionados con la respiración del suelo tales como como la actividad microbiana y el crecimiento de raíces (Oertel *et al.*, 2016; Monterroso *et al.*, 2022). Mientas que, los flujos bajos de CO₂ registrados en los meses de abril a mayo pueden estar atribuidos al impacto de la sequía de la región sobre la humedad y temperatura del suelo (Han *et al.*, 2018; Comisión Nacional del Agua, 2020). Lo anterior coincide con Tucker *et al.* (2019) quienes señalan que el comportamiento de las actividades biológicas en el interior del suelo se ven reducidas por bajos contenidos de humedad y/o cambios drásticos en la temperatura.

Por otra parte, se detectó un aumento significativo de la respiración a partir del inicio de la temporada de lluvias, dicho comportamiento ha sido reportado por Millan-Romero *et al.* (2018) y Lopera (2019), quienes lo relacionan con el aumento de la humedad del suelo, debido a sus efectos directos en la reactivación de procesos metabólicos de raíces y microorganismos del suelo. Además, procesos físicos como la desgasificación (efecto de la humedad del suelo que provoca la liberación de gases guardados en los poros del suelo) puede ser una fuente extra de emisión de CO₂ al iniciar la temporada de lluvias (Liu *et al.*, 2002; Cueva *et al.*, 2012; Yan *et al.*, 2019).

El rodal de Matarrasa registró la mayor temperatura promedio del suelo en comparación con los demás rodales evaluados, debido principalmente a la ausencia de la cobertura aérea, lo cual incrementó la intensidad de la radiación solar que llega al suelo (Wang *et al.*, 2011; Ma *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2018). Sin embargo, la humedad del suelo no presentó cambios significativos entre rodales, pudiendo estar relacionado con la estructura post cortas, ya que, al reducirse la densidad del arbolado, aumenta la temperatura y velocidad del viento, lo cual en combinación puede estimular la evaporación manteniendo una humedad del suelo equilibrada (Cheng *et al.*, 2015).

Los flujos de CO₂ promedios más bajos se encontraron en el área de Post incendio. La cual, además, pudo verse afectada por la etapa de crecimiento dinámica que experimenta el rodal, así como a su alta densidad, donde existe una acelerada caída y acumulación de hojarasca, interfiriendo en los procesos de microorganismos del suelo y las raíces, principalmente por la competencia del suministro de nutrientes (Wang *et al.*, 2015).

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados, las emisiones de CO₂ del suelo a la atmósfera se logran reducir de manera significativa posterior a la implementación de las cortas de regeneración.

Los flujos de CO₂ para el suelo evaluado Umbrisol son consideradas como típicas para bosques templados y bajas en comparación con otro tipo de ecosistemas, pudiendo atribuirse a las características del Umbrisol y a la composición y calidad de la materia orgánica (lignina, resina y celulosa los principales componentes), cuyas características recalitrantes afectan la dinámica de la actividad biológica.

En general la respiración del suelo se ve influenciada por cambios radicales en la temperatura, particularmente durante el periodo invernal y la sequía es cuando las emisiones de CO₂ se reducen significativamente.

A partir del inicio de la temporada de lluvias se incrementaron los flujos de CO₂ emitidos por la respiración del suelo, sugiriendo que los niveles de temperatura y humedad del suelo pudieron incidir en la creación de un ambiente edáfico apto para la actividad autótrofa y heterótrofa.

LITERATURA CITADA

- Barajas Guzmán, G., Hernández Rosales, D. C., Paredes García, S., Peña Becerril, J. C., & Álvarez Sánchez, J. (2020). CO₂ microbiano edáfico en un bosque de *Abies religiosa* (Kunth) Schltdl. & Cham. en la Ciudad de México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 11(57). <https://doi.org/10.29298/rmcf.v11i57.552>
- Bond-Lamberty, B., & Thomson, A. (2010). Temperature-associated increases in the global soil respiration record. *Nature*, 464(7288), 579–582. <https://doi.org/10.1038/nature08930>
- Brown, R., & Markewitz, D. (2018). Soil heterotrophic respiration: Measuring and modeling seasonal variation and silvicultural impacts. *Forest Ecology and Management*, 430, 594–608. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.08.018>
- Cantú, I., González, R. H., & Gómez, M. M. v. (2010). CO₂ efflux in vertisol under different land use systems. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12(2), 389–403.
- Cantú Silva, I., & Luna Robles, E. O. (2022). Nitrogen storage and C:N ratio of an Umbrisol under forest management in Durango, Mexico. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 13(72), 82–111. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v13i72.1055>
- Cheng, X., Kang, F., Han, H., Liu, H., & Zhang, Y. (2015). Effect of thinning on partitioned soil respiration in a young *Pinus tabulaeformis* plantation during growing season. *Agricultural and Forest Meteorology*, 214–215, 473–482. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2015.09.016>
- Comisión Nacional del Agua. (2020). *Inventario de Registros por Década Año. Estaciones climáticas*. Estación 10093.
- Cruz-Sánchez, Y., López-Teloxa, L. C., Gómez-Díaz, J. D., & Monterroso-Rivas, A. I. (2022). Respiration of CO₂ from the soil of temperate forests in the Iztaccihuatl-Popocatepetl National Park, Mexico. *Bosque*, 43(2), 125–133. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002022000200125>
- Cueva, A., Robles, C., Garatuza, J., & Yépez, E. (2016). Soil respiration in Mexico: Advances and future directions. *Terra Latinoamericana*, 34(3), 253–269. <https://www.scielo.org.mx/pdf/tl/v34n3/2395-8030-tl-34-03-00253.pdf>
- Cueva, A., Yépez, E. A., Garatuza, J., Watts, C. J., & Rodríguez, J. (2012). Diseño y uso de un sistema portátil para medir la respiración de suelo en ecosistemas. *Terra Latinoamericana*, 39(4), 327–336.
- Darenova, E., & Čater, M. (2018). Different structure of sessile oak stands affects soil moisture and soil CO₂ efflux. *Forest Science*, 64(3), 340–348. <https://doi.org/10.1093/forsci/fxx014>
- García, M. E. (1973). *Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana)*. UNAM.
- González-Elizondo, M., González-Elizondo, M., Tena-Flores, J. A., Ruacho-González, L., & López-Enríquez, I. (2022). Vegetación de la Sierra Madre Occidental, México: una síntesis. *Acta Botanica Mexicana*, 100, 351–403. <https://doi.org/10.21829/abm100.2012.40>
- Guerrero, P. L., Quintero, R., Espinoza, V., Valdés, G. S., & Sánchez, M. (2012). Respiración de CO₂ como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de Lupinus. *Terra Latinoamericana*, 30(4), 335–362.

- Han, M., Shi, B., & Jin, G. (2018). Conversion of primary mixed forest into secondary broadleaved forest and coniferous plantations: Effects on temporal dynamics of soil CO₂ efflux. *Catena*, 162, 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2017.12.004>
- Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático [INECC]. (2013). *Inventario nacional de emisiones de gases de efecto invernadero 1990-2010* (1st ed.). Printed in Mexico.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2005). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Pueblo Nuevo, Durango Clave geoestadística 10023*.
- IUSS Working Group WRB. (2022). *World Reference Base for Soil Resources. International Soil Classification System for naming soils and creating legends for soil maps. 4th edition. International Union of Soil Sciences (IUSS), Vienna, Austria*.
- James, J., & Harrison, R. (2016). The effect of harvest on forest soil carbon: A meta-analysis. *Forests*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/f7120308>
- Jandl, R., Lindner, M., Vesterdal, L., Bauwens, B., Baritz, R., Hagedorn, F., Johnson, D. W., Minkinen, K., & Byrne, K. A. (2007). How strongly can forest management influence soil carbon sequestration? *Geoderma*, 137(3–4), 253–268. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.09.003>
- Liu, X., Wan, S., Su, B., Hui, D., & Luo, Y. (2002). Response of soil CO₂ efflux to water manipulation in a tallgrass prairie ecosystem. *Plant and Soil*, 240(2), 213–223. <https://doi.org/10.1023/A:1015744126533>
- Lopera, M. (2019). Flujo de CO₂ del suelo bajo diferentes coberturas de la Reserva Forestal Protectora Bosque Oriental de Bogotá. *Revista de La Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*, 43(167), 234. <https://doi.org/10.18257/raccefyn.823>
- López Hernández, J. A., Aguirre-Calderón, O. A., Alanís-Rodríguez, E., Monarrez Gonzalez, J. C., González-Tagle, M. A., & Jiménez-Pérez, J. (2017). Composición y diversidad de especies forestales en bosques templados de Puebla, México. *Madera y Bosques*, 23(1), 39. <https://doi.org/10.21829/myb.2017.2311518>
- Lull, C., Bautista, I., Lidón, A., del Campo, A. D., González-Sanchis, M., & García-Prats, A. (2020). Temporal effects of thinning on soil organic carbon pools, basal respiration and enzyme activities in a Mediterranean Holm oak forest. *Forest Ecology and Management*, 464, 118088. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118088>
- Luna-Robles, E. O., Cantú-Silva, I., González-Rodríguez, H., Marmolejo-Monsiváis, J., Yáñez-Díaz, M. I., Hernández, F. J., & Béjar-Pulido, S. J. (2021). Effects of forest management on the physical and hydrological properties of an Umbrisol in the Sierra Madre Occidental. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 27(1), 19–32. <https://doi.org/10.5154/R.RCHSCFA.2019.11.085>
- Ma, Y., Geng, Y., Huang, Y., Shi, Y., Niklaus, P. A., Schmid, B., & He, J. S. (2013). Effect of clear-cutting silviculture on soil respiration in a subtropical forest of China. *Journal of Plant Ecology*, 6(5), 335–348. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtt038>
- Mayer, M., Matthews, B., Rosinger, C., Sandén, H., Godbold, D. L., & Katzensteiner, K. (2017). Tree regeneration retards decomposition in a temperate mountain soil after forest gap disturbance. *Soil Biology and Biochemistry*, 115, 490–498. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.09.010>
- Millan-Romero, E., Salcedo-Martínez, L., & Millan-Paramo, C. (2018). Soil Respiration for Four Vegetation uses in the University of Sucre - Colombia. *Indian Journal of Science and Technology*, 11(40), 1–10. <https://doi.org/10.17485/ijst/2018/v11i40/130132>
- Monárrez-González, J. C., Pérez-Verdín, G., López-González, C., Márquez-Linares, M. A., & González Elizondo, M. (2018). Efecto del manejo forestal sobre algunos servicios ecosistémicos en los bosques templados de México. *Madera y Bosques*, 24(2). <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2421569>
- Oertel, C., Matschullat, J., Zurba, K., Zimmermann, F., & Erasmi, S. (2016). Greenhouse gas emissions from soils—A review. In *Chemie der Erde* (Vol. 76, Issue 3, pp. 327–352). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.chemer.2016.04.002>

Recibido:
10/enero/2023

Aceptado:
23/junio/2023

- Olajuyigbe, S., Tobin, B., Saunders, M., & Nieuwenhuis, M. (2012). Forest thinning and soil respiration in a Sitka spruce forest in Ireland. *Agricultural and Forest Meteorology*, *157*, 86–95. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.01.016>
- Sahagún, S. F., & Reyes, H. (2018). Impactos por cambio de uso de suelo en las áreas naturales protegidas de la región central de la Sierra Madre Oriental, México. *Ciencia UAT*, *12*(2), 6–21.
- Sun, Q., Wang, R., Hu, Y., Yao, L., & Guo, S. (2018). Spatial variations of soil respiration and temperature sensitivity along a steep slope of the semiarid Loess Plateau. *PLOS ONE*, *13*(4), e0195400. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195400>
- Tucker, C. L., Ferrenberg, S., & Reed, S. C. (2019). Climatic Sensitivity of Dryland Soil CO₂ Fluxes Differs Dramatically with Biological Soil Crust Successional State. *Ecosystems*, *22*(1), 15–32. <https://doi.org/10.1007/s10021-018-0250-4>
- Vargas, R., Baldocchi, D. D., Allen, M. F., Bahn, M., Black, T. A., Collins, S. L., Yuste, J. C., Hirano, T., Jassal, R. S., Pumpanen, J., & Tang, J. (2010). Looking deeper into the soil: biophysical controls and seasonal lags of soil CO₂ production and efflux. *Ecological Applications*, *20*(6), 1569–1582. <https://doi.org/10.1890/09-0693.1>
- Vargas, R., Detto, M., Baldocchi, D., & Allen, M. (2010). Multiscale analysis of temporal variability of soil CO₂ production as influenced by weather and vegetation. *Global Change Biology*, *16*(5), 1589–1605. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.02111.x>
- Wang, M., Liu, X., Zhang, J., Li, X., Wang, G., Li, X., & Chen, W. (2015). Soil respiration associated with plant succession at the meadow steppes in Songnen Plain, Northeast China. *Journal of Plant Ecology*, *8*(1), 51–60. <https://doi.org/10.1093/jpe/rtu006>
- Wang, X., Zhao, J., Wu, J., Chen, H., Lin, Y., Zhou, L., & Fu, S. (2011). Impacts of understory species removal and/or addition on soil respiration in a mixed forest plantation with native species in southern China. *Forest Ecology and Management*, *261*(6), 1053–1060. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2010.12.027>
- Wang, Y., Zhu, X., Bai, S., Zhu, T., Qiu, W., You, Y., Wu, M., Berninger, F., Sun, Z., Zhang, H., & Zhang, X. (2018). Effects of forest regeneration practices on the flux of soil CO₂ after clear-cutting in subtropical China. *Journal of Environmental Management*, *212*, 332–339. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.02.038>
- Yan, T., Song, H., Wang, Z., Teramoto, M., Wang, J., Liang, N., Ma, C., Sun, Z., Xi, Y., Li, L., & Peng, S. (2019). Temperature sensitivity of soil respiration across multiple time scales in a temperate plantation forest. *Science of the Total Environment*, *688*, 479–485. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.318>
- Yáñez Díaz, M., Cantú Silva, I., González Rodríguez, H., Jurado, E., & Gómez Meza, M. V. (2017). Respiración del suelo en cuatro sistemas de uso de la tierra. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, *8*(42). <https://doi.org/10.29298/rmcf.v8i42.22>
- Zárate Malpica, A. H., & Miranda Zambrano, G. A. (2016). Impacto del cambio climático en la seguridad alimentaria en zonas campesinas vulnerables de los Andes del Perú. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *7*(1), 71–82.
- Zhang, Q., Wu, J., Yang, F., Lei, Y., Zhang, Q., & Cheng, X. (2016). Alterations in soil microbial community composition and biomass following agricultural land use change. *Scientific Reports*, *6*(1), 36587. <https://doi.org/10.1038/srep36587>
- Zhang, X., Guan, D., Li, W., Sun, D., Jin, C., Yuan, F., Wang, A., & Wu, J. (2018). The effects of forest thinning on soil carbon stocks and dynamics: A meta-analysis. *Forest Ecology and Management*, *429*, 36–43. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2018.06.027>



Polibotánica

ISSN electrónico: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

INFLUENCIA DEL CONOCIMIENTO ECOLÓGICO TRADICIONAL Y LA ALTITUD EN LA ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD ARBÓREA DE LOS CERCOS VIVOS DEL CORREDOR BIOLÓGICO CHICHINAUTZIN, MÉXICO

INFLUENCE OF TRADITIONAL ECOLOGICAL KNOWLEDGE AND ALTITUDINAL GRADIENT ON RICHNESS, STRUCTURE AND TREE DIVERSITY OF LIVE FENCES IN THE CHICHINAUTZIN BIOLOGICAL CORRIDOR, MEXICO

Basurto-García, Emir; Hortensia Colin-Bahena; Rafael Monroy-Ortiz; Alejandro García-Flores y Leonardo Beltrán-Rodríguez

INFLUENCIA DEL CONOCIMIENTO ECOLÓGICO TRADICIONAL Y LA ALTITUD EN LA ESTRUCTURA Y DIVERSIDAD ARBÓREA DE LOS CERCOS VIVOS DEL CORREDOR BIOLÓGICO CHICHINAUTZIN, MÉXICO

INFLUENCE OF TRADITIONAL ECOLOGICAL KNOWLEDGE AND ALTITUDINAL GRADIENT ON RICHNESS, STRUCTURE AND TREE DIVERSITY OF LIVE FENCES IN THE CHICHINAUTZIN BIOLOGICAL CORRIDOR, MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 115-150 México. Julio 2023

DOI: 10.18387/polibotanica.56.7



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0 Atribución-No Comercial ([CC BY-NC 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)).

Influencia del conocimiento ecológico tradicional y la altitud en la estructura y diversidad arbórea de los cercos vivos del Corredor Biológico Chichinautzin, México

Influence of traditional ecological knowledge and altitudinal gradient on richness, structure and tree diversity of live fences in the Chichinautzin Biological Corridor, Mexico

Basurto-García, Emir;
Hortensia Colin-Bahena;
Rafael Monroy-Ortiz;
Alejandro García-Flores y
Leonardo Beltrán-Rodríguez

INFLUENCIA DEL
CONOCIMIENTO
ECOLÓGICO
TRADICIONAL Y LA
ALTITUD EN LA
ESTRUCTURA Y
DIVERSIDAD ARBÓREA DE
LOS CERCOS VIVOS DEL
CORREDOR BIOLÓGICO
CHICHINAUTZIN, MÉXICO

INFLUENCE OF
TRADITIONAL
ECOLOGICAL
KNOWLEDGE AND
ALTITUDINAL GRADIENT
ON RICHNESS,
STRUCTURE AND TREE
DIVERSITY OF LIVE
FENCES IN THE
CHICHINAUTZIN
BIOLOGICAL CORRIDOR,
MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 115-150. Julio 2023

DOI:

10.18387/polibotanica.56.7

Emir Basurto-García
Hortensia Colin-Bahena

*Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
Av. Universidad 1001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México, CP. 62209*

Rafael Monroy-Ortiz

*Facultad de Arquitectura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
Av. Universidad 1001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México, CP. 62209*

Alejandro García-Flores

*Centro de Investigaciones Biológicas. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
Av. Universidad 1001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México, CP. 62209*

Leonardo Beltrán-Rodríguez / leonardo.beltran@ib.unam.mx

*Jardín Botánico, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
Tercer Circuito exterior S/N, Ciudad Universidad, Coyoacán,
Ciudad de México, México, CP. 04510*

RESUMEN: El Corredor Biológico (COBIO) Chichinautzin es un Área Natural Protegida ubicada al norte del estado de Morelos, importante por su riqueza de especies, suelo agrícola y recarga de acuíferos, donde sus habitantes originarios y recientemente urbanos manejan la biodiversidad. Sin embargo, el COBIO no escapa al proceso de fragmentación del paisaje. Una estrategia de resistencia cultural ante la problemática mencionada son los cercos vivos (CV), que se encuentran en todo el mosaico antrópico dentro de matrices agrícolas, cuya estructura dentro del paisaje provee servicios ecosistémicos. Se documentó el efecto del conocimiento ecológico tradicional (CET) y de la altitud sobre la riqueza, estructura y diversidad de especies en tres tipos de vegetación: bosque tropical caducifolio (BTC), bosque de pino-encino (BPE) y la ecotonía entre éstos. Para documentar el CET se aplicaron entrevistas semiestructuradas a los manejadores, que son campesinos originarios y recientemente urbanos, con el propósito de registrar las prácticas culturales para el establecimiento y manejo de los CV, el uso local y el destino de la producción de cada especie. La obtención de los parámetros ecológicos se generó mediante muestreos en cinco municipios del COBIO, en los que se eligieron 10 sitios en un gradiente altitudinal que va de los 1212 a 2561 m, allí se establecieron 23 transectos de 100 x 2 m cada uno. Se determinó el índice de diversidad de Jaccard, el índice de valor de importancia (IVI) y el índice de valor forestal (IVF). El dendrograma de calor permitió identificar las comunidades con más similitud. El Análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS) se empleó para determinar qué variables influyen en la riqueza, estructura y diversidad arbórea. Las especies arbóreas registradas fueron 35, pertenecientes a 30 géneros y 21 familias, de las cuales el 71% son nativas de México y de éstas el 8% son endémicas del país. Estas taxa proveen seis valores de uso. Las prácticas de manejo cultural fueron cuatro. Los CV ubicados en la zona de transición y en el BTC mostraron la mayor riqueza de especies, mientras que en el BPE está métrica fue menor. Tanto en el IVI como en el IVF las especies jerárquicamente dominantes fueron *Erythrina americana* Mill., *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. y *Spondias purpurea* L. El dendrograma visualiza la existencia de dos grandes grupos y expresan una baja tasa de recambio de especies a lo

largo del gradiente altitudinal. El NMDS muestra que tres prácticas culturales asociadas con el CET son estadísticamente significativas y que influyen directamente en la riqueza, estructura y diversidad arbórea. La presencia de los CV es importante para la conservación biocultural porque albergan en su mayoría especies nativas tanto silvestres como cultivadas, además de que suministran alimento y combustible para cubrir necesidades básicas. Contrario a lo esperado, los parámetros ecológicos estructurales no están influenciados por el gradiente altitudinal y por los tipos de vegetación, sino por el tipo de especies cultivadas o favorecidas por los campesinos.

Palabras clave: Cerco vivo; Conservación; Diversidad; Paisajes agrícolas; Contraste altitudinal

ABSTRACT: The Chichinautzin Biological Corridor (COBIO) is a Protected Natural Area located in the north of the state of Morelos, important for its richness of species, agricultural land and aquifer recharge, where its original and recently urban inhabitants manage biodiversity. However, COBIO does not escape the process of landscape fragmentation. A strategy of cultural resistance to the mentioned problem are the live fences (CV), which are found throughout the anthropic mosaic within agricultural matrices, whose structure within the landscape provides ecosystem services. The effect of traditional ecological knowledge (CET) and altitude on the richness, structure and diversity of species in three types of vegetation was documented: tropical deciduous forest (BTC), pine-oak forest (BPE) and the ecotony between them. To document the CET, semi-structured interviews were applied to the managers who are original and recently urban peasants with the purpose of recording the cultural practices for the establishment and management of the CV, the local use and the destination of the production of each species. Obtaining the ecological parameters was generated by sampling in five COBIO municipalities, in which 10 sites were chosen in an altitudinal gradient that goes from 1212 to 2561 m, where 23 transects of 100 x 2 m each were established. The Jaccard diversity index, the importance value index (IVI) and the forest value index (IVF) were determined. The heat dendrogram allowed to identify the communities with the most similarity. The Non-Metric Multidimensional Scaling Analysis (NMDS) was used to determine which variables influence tree richness, structure, and diversity. The registered tree species were 35, belonging to 30 genera and 21 families, of which 71% are native to Mexico and of these, 8% are endemic to the country. These taxa provide six use values. There were four cultural management practices. The CV located in the transition zone and in the BTC showed the highest species richness, while in the BPE this metric was lower. In both IVI and IVF, the hierarchically dominant species were *Erythrina americana* Mill., *Ipomoea murucoides* Roem. & Schult. and *Spondias purpurea* L. The dendrogram visualizes the existence of two large groups that show a low rate of species turnover along the altitudinal gradient. The NMDS shows that three cultural practices associated with CET are statistically significant and that they directly influence tree richness, structure, and diversity. The presence of CVs is important for biocultural conservation because its shelter mostly native species, both wild and cultivated, in addition to providing food and fuel to cover basic needs. Contrary to expectations, the structural ecological parameters are not influenced by the altitudinal gradient and by the vegetation types, but by the kind of species cultivated or favored by peasants.

Key words: Live fence; Conservation; Diversity; agricultural landscapes; altitudinal contrast.

INTRODUCCIÓN

La fragmentación y pérdida de los ecosistemas terrestres con el establecimiento de sistemas agropecuarios para dar abasto a la creciente demanda de alimentos y otros productos son algunos de los principales factores responsables de la pérdida de recursos naturales en el mundo (Pereira *et al.*, 2010; Villanueva-López *et al.*, 2014). Lo anterior se refleja, entre otros efectos, en la alteración del paisaje forestal, aun cuando en algunos territorios han logrado persistir formas equilibradas de manejo de los recursos, como son los sistemas agroforestales (Barrera-Bassols & Toledo, 2018).

La conectividad de la matriz agrícola en algunos casos logra mantenerse en paisajes fragmentados debido a la presencia de elementos arbóreos denominados cercos vivos (CV) (Von Thaden *et al.*,

2022). Éstos son elementos comunes en paisajes agrícolas establecidos debido a la estrecha y sistemática interacción de las comunidades rurales con los recursos naturales, que los ha llevado a la construcción de perfiles de conocimiento ricos con respecto al uso y manejo de la diversidad de plantas de los bosques (Lira *et al.*, 2009).

Los CV son transectos lineales divisorios arbolados de una o diferentes plantas leñosas combinadas con postes de madera, los cuales separan o dividen áreas de pastizales, cultivos y algunos parches de bosque, así como potreros o campos agrícolas para evitar el paso de ganado (Harvey *et al.*, 2005; Morantes-Tolosa & Renjifo, 2018). Para ello se utilizan árboles persistentes de rápido rebrote y regeneración del follaje, aun cuando también se llegan a ocupar arbustos y ocasionalmente especies herbáceas (Flores *et al.*, 2010).

Los CV generalmente se establecen en áreas con diferentes altitudes y condiciones ecológicas, así como en lugares con diversos usos del suelo y de producción agrícola (Budowski, 1987; Morantes-Tolosa & Renjifo, 2018). Pueden surgir de manera espontánea, ya sea por germinación y crecimiento de plántulas o por remanentes después de la tala de un bosque, o bien, por plantación bajo selección local (Fuentealba & Martínez-Ramos, 2014; León & Harvey, 2006; Pulido-Santacruz & Renjifo, 2011). Además, tienen el potencial de albergar diversidad biológica nativa, por lo que son reconocidos como espacios que coadyuvan para la conservación, el manejo y la restauración de los recursos naturales (Zamora *et al.*, 2022).

Algunos estudios evidencian que los CV en los agropaisajes son importantes por los servicios ambientales que proveen al retener suelo y humedad, evitando su degradación y erosión y favoreciendo la estabilidad de la temperatura (Morantes-Tolosa & Renjifo, 2018; Otero *et al.*, 2006). También desempeñan un papel crucial en la conservación de la biodiversidad al mantener especies arbóreas nativas que favorecen la estructuración y la conectividad del paisaje, fungiendo así como corredores entre parches de bosques aislados y reduciendo las distancias para cruzar a través de la matriz agrícola y/o ganadera (Cadavid-Florez *et al.*, 2020; Pulido-Santacruz & Renjifo, 2011; Von Thaden *et al.*, 2022).

Los problemas agroindustriales y los efectos negativos en el ambiente generados por la producción intensiva de alimentos han impulsado a estudiar el proceso agrícola desde un enfoque ecológico y cultural, que considere aspectos sociales, económicos y políticos (Ruiz-Mallen *et al.*, 2012). Por lo anterior es relevante el estudio de sistemas agrícolas tradicionales, considerados como un acervo en el uso y cuidado racional de los recursos naturales, que se fundamentan en el conocimiento ecológico tradicional (Toledo, 2005).

El Conocimiento Ecológico Tradicional (CET) se define como un cuerpo acumulativo de conocimientos, prácticas y creencias acerca del entorno que evoluciona a través de procesos adaptativos (Huntington, 2000; Berkes *et al.*, 2000). Asimismo, consiste en un sistema cognoscitivo dinámico de las personas, resultado de experiencias prácticas (Reyes-García *et al.*, 2009). Dentro de estas prácticas de manejo están implícitos factores socioculturales, ya que las personas realizan labores habituales, materializadas en actividades que repercuten en la obtención del sustento alimenticio y otros beneficios (García *et al.*, 2018).

Los factores socioculturales relacionados con el CET se conceptualizan como la comprensión subjetiva de la acción social sobre la naturaleza (Bertoni y López, 2010; Manfredo *et al.*, 2016) donde se encuentran inmersos los conocimientos que guían a las personas hacia actitudes socialmente aceptadas con su entorno (Reyes-García *et al.*, 2009). De acuerdo con Berkes *et al.* (2000) los factores socioculturales favorecen el manejo de los recursos naturales y son adquiridos por medio del lenguaje, observación y práctica, reflejando las relaciones socioecológicas ocurridas en el ambiente. Se trata de una conducta que permite una adaptación cultural de la sociedad con la naturaleza, misma que conlleva al uso de la biodiversidad (Toledo y Barrera, 2008; Manfredo *et al.*, 2016).

Bajo estas condiciones, los CV se han convertido en importantes sistemas de estudio, debido a que son un ejemplo de que es posible aprovechar y conservar la diversidad biológica en zonas fragmentadas al ser manejados y establecidos con base al CET de los campesinos locales para obtener beneficios de éstos, incidiendo directamente en su tamaño, estructura, composición y función (Chablé-Pascual *et al.*, 2015; García-Flores *et al.*, 2019; Zamora *et al.*, 2022). No obstante, se desconoce el efecto sinérgico de múltiples variables ambientales sobre la presencia y distribución de las especies que conforman a los CV, como es el caso del impacto del gradiente altitudinal en su respuesta individual y poblacional (Cabrera *et al.*, 2019; Cirimwami *et al.*, 2019; Ghafari *et al.*, 2018; Laiolo & Obeso, 2017).

Trabajos realizados sobre la riqueza y diversidad de especies vegetales a lo largo de gradientes de altitud muestran en general un patrón gradual y continuo en la disminución de especies desde las regiones bajas a las de mayor altitud (Rahbek, 1995, 2005). Slik *et al.* (2009) mencionan que la riqueza y diversidad de especies se asocia con la altitud, las características del suelo y el clima (Pausas & Austin, 2001; Ávila-Sánchez, *et al.*), donde una mayor biodiversidad en altitudes intermedias de algunas cadenas montañosas tropicales es producto del encuentro de taxones tropicales de zonas de baja altitud y templados que provienen de altitudes elevadas. Respecto a lo anterior estudios realizados en el país muestran que los CV adyacentes a ecosistemas tropicales presentan valores más altos en la riqueza vegetal a diferencia de los ecosistemas templados, lo cual respalda la existencia de un patrón en el que a mayor altitud menor riqueza (Avendaño & Acosta, 2016; Castillo-Campos *et al.*, 2017; Zamora *et al.*, 2022).

Sin embargo, se ha confirmado que esta “regla” no es general, ya que de acuerdo con Moody & Meentemeyer (2001) este patrón entre comunidades no está determinado por los mismos factores. Lo anterior debido a que los CV tienen la función principal de dividir los predios o excluir zonas específicas, por lo que los servicios de mantenimiento y el manejo dependen totalmente del CET y de los criterios de los dueños de las parcelas. De manera que se esperaría que la estructura y composición de los CV estuvieran basados directamente en los intereses de los poseedores del terreno (Mollison, 1981; Morantes-Tolosa & Renjifo, 2018).

El estado de Morelos posee ecosistemas templados y tropicales. En su zona norponiente destaca un reservorio de los macizos más grandes y mejor conservados de bosque templado en transición con bosque tropical caducifolio, importante por su riqueza de especies, suelo agrícola y recarga de acuíferos (Monroy-Ortiz & Monroy, 2007; Sorani & Rodríguez, 2020). En esta zona se localiza el Corredor Biológico (COBIO) Chichinautzin que presenta en un gradiente altitudinal diferentes tipos de vegetación. El COBIO abarca ocho municipios donde habitan comunidades campesinas de origen nahua (INPI, 2017) que mantienen un manejo intensivo de la biodiversidad, como es el caso de los CV que les provee de bienes tangibles e intangibles (Burgos *et al.*, 2017; Colín *et al.*, 2013; Colín *et al.*, 2012; Colín *et al.*, 2015; Cuevas & Monroy-Ortiz, 2017; Sierra *et al.*, 2020). A pesar de la importancia biocultural e hidrológica del COBIO Chichinautzin, éste se encuentra seriamente amenazado por el cambio de uso de suelo, donde el proceso de industrialización-urbanización induce conglomeraciones de la población humana (Monroy-Ortiz & Monroy, 2007), con un marcado proceso de ocupación del Área Natural Protegida (ANP) (Colín & Monroy, 2004; Guerrero, 2020).

Los pueblos originarios y los recientemente urbanos que habitan el COBIO Chichinautzin dependen para su bienestar de la biodiversidad regional, misma que en las últimas décadas se ha visto altamente impactada (Alvarado & Di Castro, 2011; Guerrero, 2020). Se ha documentado que los pobladores de estos pueblos llevan a cabo prácticas de manejo derivadas de su CET que se manifiestan en diversos aspectos, entre ellos, el uso múltiple y el destino de la producción de las especies que satisfacen necesidades básicas, o bien, el control de la densidad de las plantas silvestres y/o domesticadas resultado de su implementación ya sea por estaca o plántula o incluso al tolerar especies de la vegetación adyacente. Además, las podas que realizan influyen directamente en las alturas, diámetros a la altura del pecho (DAP), cobertura y las áreas basales (AB); parámetros que son posibles de sintetizar en índices de importancia ecológica y forestal. Es por ello que el estudio de los CV como espacios de interconexión biológica en paisajes socioecológicos fragmentados cobra gran importancia en esta ANP.

Ante este panorama, surge la necesidad de analizar el efecto del conocimiento ecológico tradicional y del gradiente altitudinal en la riqueza, estructura y diversidad arbórea de los cercos vivos en la zona Noroeste del COBIO referido. La hipótesis de trabajo sugiere que los parámetros estructurales ecológicos como son la riqueza de especies, cobertura, DAP y AB, mostrarán variación tanto por el efecto interactivo del manejo humano como por el gradiente altitudinal, y no únicamente por el efecto individual de un factor como tradicionalmente se ha abordado (Zamora *et al.*, 2022; Laiolo & Obeso, 2017; Salas-Morales & Williams-Linera, 2019).

MÉTODOS

Área de estudio

El COBIO Chichinautzin se localiza al sur de la Faja Volcánica Transmexicana conocida también como Sierra Volcánica Transversal o Eje Volcánico Transmexicano (Espinosa & Ocegueda, 2007), el cual forma parte de la Depresión del Balsas al noreste del estado de Morelos. El COBIO ocupa una superficie de 37,301 h y está integrado por terrenos comunales, ejidales y de pequeña propiedad, distribuidos en los municipios de Huitzilac, Cuernavaca, Tepoztlán, Jiutepec, Tlalnepantla, Yautepec, Tlayacapan y Totolapan (Diario Oficial de la Federación [DOF], 1988). Esta ANP está conformada por montañas de origen volcánico del Plioceno-Holoceno y presenta ocho tipos de suelo (Santillán-Alarcón *et al.*, 2010) con profundidades generalmente menores a 20 cm, destacando por su superficie el Andosol (54%) y el Litosol (27%) (Santillán-Alarcón *et al.*, 2010; Sorani & Rodríguez, 2020).

De acuerdo con Taboada (1981) y con el sistema de Köppen modificado por García (1998), la región comprende intervalos altitudinales que van de 1,250 a 3,450 msnm, con cuatro tipos climáticos: i) semifrío C(W2)(w)(b'), con una temperatura media entre los 5 y 12°C, localizado al noreste y centro del área en altitudes mayores a los 3,000 msnm; ii) templado C(w2)(w)(b), ubicado en altitudes menores a las previamente descritas y abarcando de este a oeste del COBIO, con verano fresco y largo, poca oscilación térmica y marcha de la temperatura tipo Ganges; iii) semicálido (A)(C)(w2)(w), el más fresco de los cálidos, con temperatura media anual menor de 22°C, subhúmedo, con lluvias en verano, ubicado al sur de la zona templada, con una temperatura anual que oscila entre 18 y 22°C, característico de altitudes menores a los 2000 m.s.n.m., y; iv) semicálido A(C)(w1)(w), el intermedio de los subhúmedos, al igual que el anterior, presenta lluvias de verano y es considerado como un clima de transición, localizado al sur del COBIO.

En el COBIO Chichinautzin existen siete tipos de vegetación: bosque de coníferas, bosque de encino, bosque mesófilo de montaña, matorral xerófilo, pastizal, vegetación acuática y subacuática, y bosque tropical caducifolio (BTC) (Rzedowski, 1978); lo cuales se localizan en un intervalo altitudinal que va de 1200 a 3400 msnm. Al norte se ubican masas puras de bosque de coníferas con predominancia de *Pinus montezumae* Lamb. y *Pinus hartwegii* Lindl y superficies extensas representadas por bosques de pino-encino, mientras que en la zona sur los anteriores tipos de vegetación se encuentran en ecotonía con el BTC (Pulido-Esparza *et al.*, 2009; Santillán-Alarcón *et al.*, 2010; Villaseñor *et al.*, 2003).

Dentro de esta diversidad de ecosistemas se encuentran inmersas comunidades campesinas que hacen uso de la biodiversidad nativa concentrada principalmente entre los gradientes altitudinales de 1700 a 2500 msnm. Mediante sistemas agroforestales dispersos a manera de mosaicos estas comunidades favorecen la conservación de la biodiversidad sin detener la producción agrícola, a través de prácticas productivas como la agricultura de temporal, donde destaca la milpa, y otros como los huertos de traspatio y la ganadería (Colín & Monroy, 2004). Sin embargo, esta región del COBIO también muestra un marcado proceso de fragmentación por el cambio de uso de suelo debido al proceso de urbanización, el establecimiento de monocultivos y la extracción de madera (Alvarado & Di Castro, 2011; Guerrero, 2020; Pulido-Santacruz & Renjifo, 2011).

Selección y ubicación de los sitios de muestreo

A través de visitas de prospección y de la observación participante (Taylor & Bogdan, 1992) en las comunidades de la zona noroeste del COBIO, en los meses de marzo a noviembre del 2021 se

escogieron 10 sitios de estudio distribuidos en cinco municipios. El principal factor para su elección fue la disponibilidad de los dueños para trabajar en sus tierras. Cada sitio de estudio fue posicionado a lo largo de un gradiente altitudinal que en general va de los 1220 a los 2574 msnm (Fig. 1).

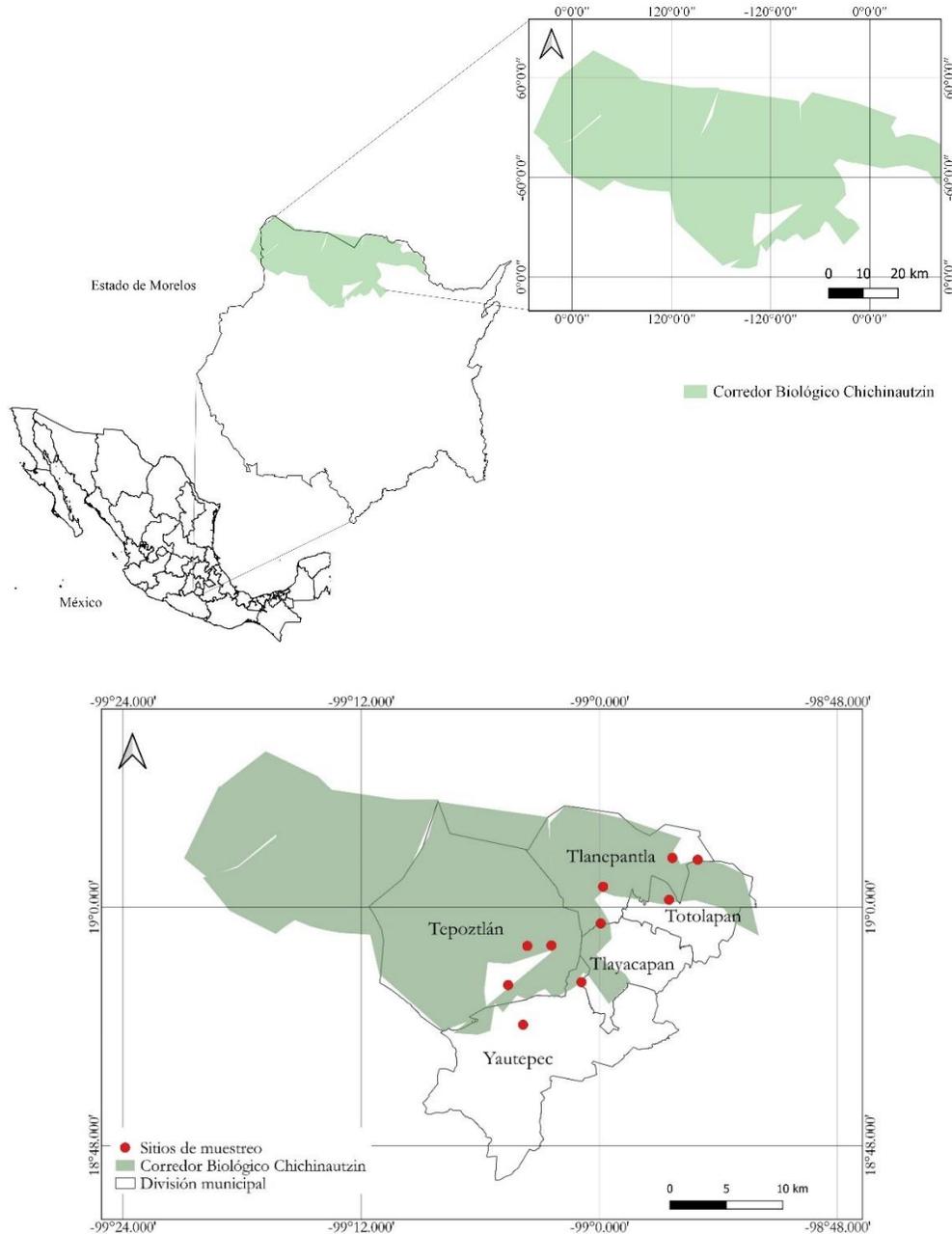


Fig. 1: Ubicación en el estado del Corredor Biológico Chichinautzin y los sitios de muestreo (los sitios van en orden de menor a menor altitud representados en la Tabla 1).

En cada sitio se estableció un número diferente de transectos en función de la extensión de las parcelas. Los transectos fueron lineales, de 100 x 2 m, con un total de 23 transectos (4 600 m²) distribuidos en los 10 sitios de estudio (Tabla 1). Estas dimensiones están basadas en el método de Gentry (1988), y han sido comúnmente utilizados para estudios florísticos en el neotrópico (Mostacedo & Fredericksen, 2000; Otero *et al.*, 2006; Zamora *et al.*, 2022). Cada transecto utilizó como eje central el CV, de manera que todos los individuos que tuvieran una altura mayor a 1.50 metros que se encontraran distribuidos a lo largo de un metro de cada lado del CV fueron incluidos en el registro; dentro de estos transectos no existió obstáculo alguno.

Tabla 1. Descripción general de los sitios muestreados en el Corredor Biológico Chichinautzin, Morelos, México.

Municipio	Sitio de Muestreo	No. de Transectos	Coordenadas	Altitud (msnm)	Tipo de Vegetación	Uso del suelo
Yautepec	C1	3	18°54'04.87''N y 99°03'50.16''W	1220	BTC	Ag y Ch
Yautepec	C2	3	18°56'14.93''N y 99°00'52.38''W	1291	BTC	Ag
Tepoztlán	C3	2	18°56'05.39''N y 99°04'34.71''W	1320	BTC	Ag y Ur
Tepoztlán	C4	1	18°58'08.36''N y 99°02'23.91''W	1602	BTC-BPE	Ch
Tepoztlán	C5	2	18°58'03.61''N y 99°03'37.81''W	1665	BTC	Ag
Tlayacapan	C6	3	18°59'10.57''N y 98°59'57.76''W	1850	BTC-BPE	Ag
Totolapan	C7	1	19°00'23.69''N y 98°56'28.03''W	2114	BTC-BPE	Ag y Ch
Tlalnepantla	C8	3	19°01'04.66''N y 98°59'53.42''W	2220	BTC-BPE	Ag y Ur
Totolapan	C9	2	19°02'23.96''N y 98°54'59.95''W	2450	BPE	Ag
Tlalnepantla	C10	3	19°02'28.96''N y 98°56'18.50''W	2574	BPE	Ag

Nota: BTC: Bosque Tropical Caducifolio; BPE: Bosque Pino- Encino. Ag: Agricultura; Ch: Casa Habitación; Ur: Uso Recreativo.

Conocimiento ecológico tradicional sobre el manejo y uso de las cercas vivas

Para obtener información sobre las características e importancia de los CV en cada uno de los sitios muestreados se realizaron entrevistas semiestructuradas a los manejadores, que son campesinos originarios y recientemente urbanos que previamente habían dado su consentimiento (Anexo 1), lo que permitió profundizar y documentar el CET relacionado con las especies arbóreas presentes en estos sistemas. Los ejes de la entrevista se enfocaron hacia las especies de plantas que establecen o toleran en los CV, así como las formas de uso, destino de la producción y las prácticas culturales de manejo (época de podas, de deshierbe y de fertilización). Todas se realizaron de manera verbal siguiendo el Código de Ética para la Investigación-Acción y la Colaboración Etnocientífica en América Latina de la Sociedad Latinoamericana de Etnobiología (Cano *et al.*, 2015), y como lo marcan Taylor & Bogdan (1992).

A los propietarios de cada uno de los 10 sitios de muestreo se les expusieron los objetivos del proyecto para obtener el consentimiento de participar y poder utilizar la información de forma confidencial. A cada uno de ellos se le aplicó la entrevista semiestructurada. Los entrevistados son campesinos mestizos dedicados a la agricultura de subsistencia principalmente.

Composición

Se registraron las diferentes especies arbóreas y la abundancia de cada una a lo largo del gradiente altitudinal que se encontraron ubicadas en los transectos de cada sitio, a las cuales se les tomaron fotografías y cuando fue necesario se colectaron ejemplares con flor y/o fruto, colocando las etiquetas correspondientes con nombre común, fecha, lugar de colecta y características de la planta para su posterior determinación taxonómica por el M. en C. Rafael Monroy Martínez, por medio de la comparación con especies del Herbario "MORE" del Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. La nomenclatura taxonómica se estandarizó con la base de datos Trópicos del Missouri Botanical Garden (<http://www.tropicos.org>). Con esta información se elaboró un listado libre y un listado florístico, en el último se agregó su origen geográfico, para reconocer si las especies presentes contribuyen con la conservación biológica del país.

Estructura

Para definir la dominancia de cada una de las especies en la estructura de los CV para los sitios muestreados a lo largo del gradiente altitudinal y cómo son influenciados por el CET, en el plano horizontal, se calculó el índice de valor de importancia relativo (IVIR) (Curtis & McIntosh, 1951; Kuchler *et al.*, 1976), mientras que para ponderar la estructura bidimensional (plano horizontal y vertical) se utilizó el índice de valor forestal relativo IVFR (Corella *et al.*, 2001) (Anexo 3). Posteriormente, las especies que presentan los valores más altos en los índices mencionados en cada sitio muestreado se esquematizaron en un perfil semirealista y esquemático de la vegetación para visualizar en una representación gráfica la distribución de las plantas a lo largo del gradiente altitudinal (Richards *et al.*, 1940, 1996).

Donde:

Dr: Densidad relativa

DomR: Dominancia relativa

Fr: Frecuencia relativa

Donde:

Dnr: Diámetro normal relativo

Ar: Altura relativa

Cr: Cobertura relativa

Diversidad

Para analizar la diversidad alfa (α) en cada sitio a lo largo de un gradiente altitudinal se utilizó el Índice Shannon-Wiener (H'), para ello se emplearon los valores de riqueza de especies y la abundancia relativa (Magurran, 2013). El resultado se expresa con un número positivo, cuyos valores varían generalmente entre 1 y 5 en la mayoría de los ecosistemas naturales. Su valor normal se encuentra entre 2 y 3, si son valores menores a éstos se consideran bajos y si son mayores altos; mientras más alto es el valor del índice mayor será la diversidad (Emanuelli, 2010).

Donde:

S= Número de especies (riqueza de especies)

i= Una especie del sitio de estudio

Pi= Proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos (abundancia relativa de la especie)

Ln= Logaritmo natural

Posteriormente, con los resultados del Índice Shannon-Wiener (H') se calcularon los números efectivos de especies que miden la diversidad verdadera que tendría la comunidad compuesta en cada sitio por una cantidad de especies igualmente comunes (Jost, 2006).

Donde:

EXP: Exponencial

H' : Resultado índice Shannon-Wiener

La diversidad β se analizó con el índice de similitud de Jaccard, el cual permite cuantificar las variaciones que ocurren en la diversidad de dos comunidades (Emanuelli, 2010) para obtener las diferencias respecto al gradiente altitudinal y el CET. Este coeficiente se basa en la relación de presencia- ausencia entre el número de especies comunes y en el número total de especies, lo que permitió obtener un valor general de la similitud arbórea de los CV entre las comunidades estudiadas a lo largo del gradiente altitudinal. I_j varía entre 1 (completa similitud) y 0 (sin elementos compartidos).

Donde:

a = número de especies presentes en el sitio A

b = número de especies presentes en el sitio B

c = número de especies presentes en ambos sitios A y B

El cálculo de los descriptores de la diversidad se realizó con el programa Species Diversity and Richness Versión 4.1.2 (Seaby & Henderson, 2006).

De manera complementaria y para representar gráficamente la semejanza de la composición arbórea entre los diferentes sitios de muestreo a lo largo del gradiente altitudinal se obtuvo con un análisis de conglomerados (Palacio *et al.*, 2020). Éste se construyó mediante una matriz de abundancias y se utilizó la distancia de Bray-Curtis como medida de disimilitud. También se calculó la correlación cofenética entre matrices para validar la estructura proporcionada por este método jerárquico. Los gráficos se elaboraron con la representación “heatmap” con la función “fviz_dist” de la paquetería “factoextra” (Kassambara & Mundt, 2022) en el lenguaje R (R Core Team, 2022).

Finalmente, para conocer la influencia del conocimiento ecológico tradicional (valor de uso, el destino de la producción, las actividades de manejo entre estas la época de poda y de deshierbe y de fertilización) sobre los parámetros ecológicos de interés (riqueza, estructura y diversidad) a lo largo del gradiente altitudinal, se aplicó un Análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS, por sus siglas en inglés) (Palacio *et al.*, 2020). El NMDS es una técnica de ordenación que colapsa la información de múltiples dimensiones y las reduce a un universo mínimo de explicación ($k=2$), además de ser altamente flexible en cuanto al tipo de datos con los que se construyen las matrices, debido a que su cálculo matemático emplea suma de rangos en vez de distancias (Palacio *et al.*, 2020). Para su elaboración se emplearon dos matrices, la matriz de sitio y la matriz socioambiental, que fueron integradas mediante la función “metaMDS” de la paquetería “vegan” (Oksanen *et al.*, 2022) en el lenguaje R (R Core Team, 2022). Cabe precisar que se utilizó el argumento “trymax” de la misma paquetería para incrementar el número de iteraciones del modelo ($n=1000$) y mejorar el valor de ajuste (stress, por sus siglas en inglés). El stress es una medida de la discordancia numérica entre la configuración inicial del modelo y la predicha por los valores de la regresión, de manera que a menor valor de stress (0.01- 0.1) se obtiene una representación aceptable en un número óptimo de dimensiones (Palacio *et al.*, 2020).

RESULTADOS

Riqueza y Composición

La riqueza de especies arbóreas de todos los CV fue de 35 *taxa*. De éstas, *Cupressus lusitanica* Mill. y *Arbutus xalapensis* Kunth están sujetas a protección especial, mientras que *Sapium macrocarpum* Müll. Arg. está en categoría de Amenazada (NOM-059-SEMARNAT-2010). Las especies pertenecen a 30 géneros distribuidos en 21 familias. Del total de las primeras el 71% son nativas de México (de éstas el 8% son endémicas para el país), el 3% nativas para Mesoamérica, otro 3% para América tropical y el 23% restante son exóticas (Villaseñor, 2016). Respecto a los géneros destacan *Bursera* con 9%, y *Prunus*, *Citrus* y *Ficus* con 6% cada uno, mientras que las familias botánicas más representativas fueron: Fabaceae con 14%, y Rosaceae, Burseraceae y Bignoniaceae con 9% respectivamente (Anexo 2). En general, se aprecia que la riqueza de especies a lo largo del gradiente altitudinal se mantiene constante en las comunidades dominadas por BTC, aumentando en la zona de transición y disminuyendo en la zona más alta en donde predomina la vegetación de BPE (Fig. 2).

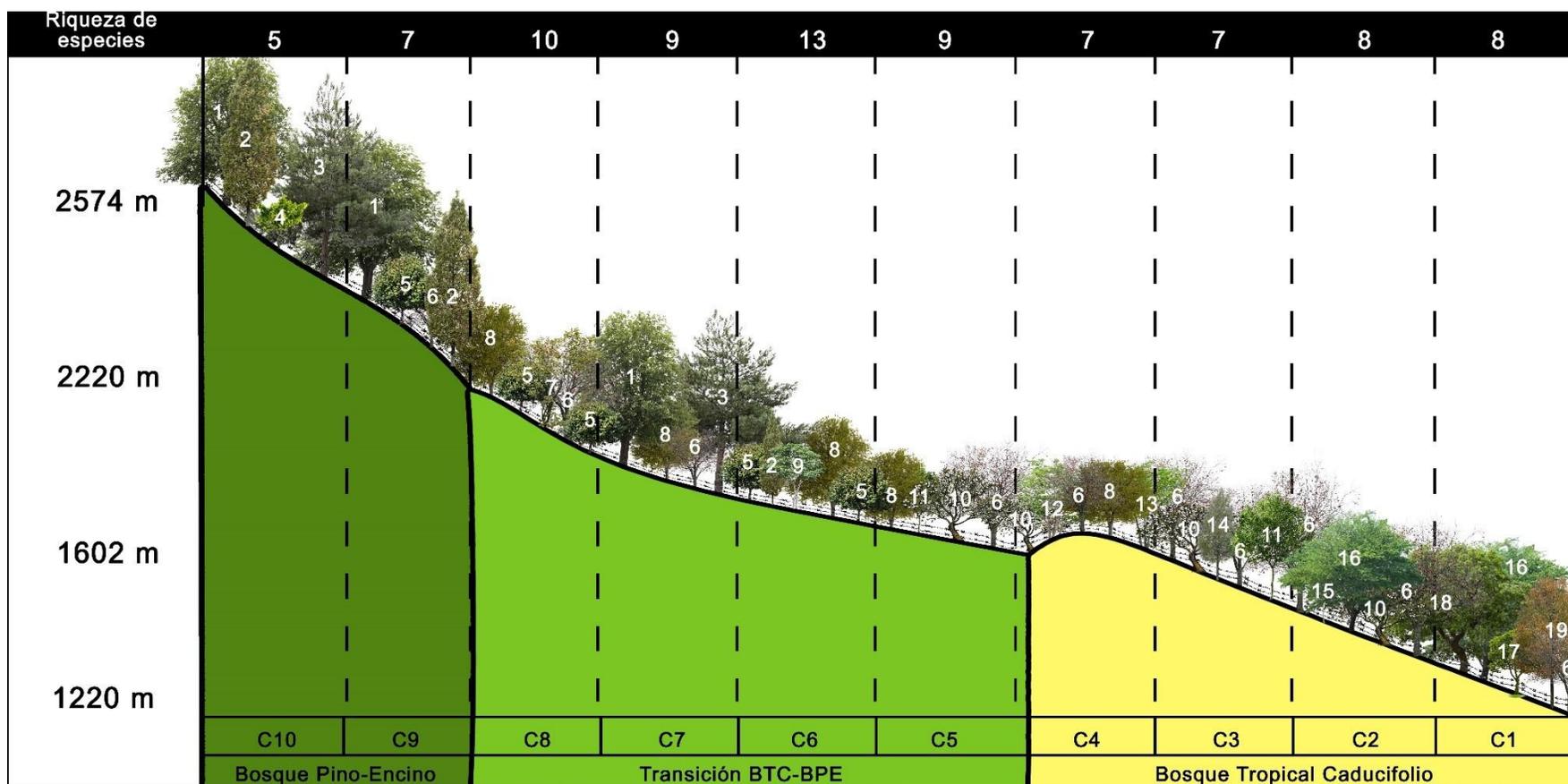


Fig. 2. Perfil de vegetación de todos los sitios de muestreo

Nota: 1: *Quercus rugosa*; 2: *Cupressus lusitanica*; 3: *Pinus montezumae*; 4: *Citrus aurantifolia*; 5: *Persea americana*; 6: *Erythrina americana*; 7: *Prunus persica*; 8: *Spondias purpurea*; 9: *Annona cherimola*; 10: *Ipomoea murucoides*; 11: *Guazuma ulmifolia*; 12: *Bursera glabrifolia*; 13: *Bocconia arborea*; 14: *Casuarina equisetifolia*; 15: *Gliricidia sepium*; 16: *Pithecellobium dulce*; 17: *Heliocarpus terebinthinaceus*; 18: *Bursera simaruba*; 19: *Spathodea campanulata*.

Estructura de la vegetación

Los valores más altos de los dos índices estructurales (IVIR e IVFR) para los sitios de muestreo indican la predominancia de especies pertenecientes al BTC tales como el colorín (*Erythrina americana* Mill.), cazahuate (*Ipomoea murucoides* Roem. & Schult.), ciruela (*Spondias purpurea* L.), guamúchil (*Pithecellobium dulce* (Roxb.) Benth) y aguacate (*Persea americana* Mill). Por otra parte, las especies con afinidad al BPE, en orden jerárquico de dominancia estructural fueron encino (*Quercus rugosa* Néé), ocote (*Pinus montezumae* Lamb.), cedro (*C. lusitanica*) y madroño (*A. xalapensis*) (Tabla 2, Fig. 3 y Anexo 2).

De acuerdo con los resultados de los índices de la estructura vegetal de los CV, en los sitios de muestreo que comprenden el gradiente altitudinal de los 1220 hasta los 1665 msnm, que abarca 5 sitios (C1, C2, C3, C4 y C5), sobresalen especies pertenecientes al BTC (*P. (Roxb.) Benth*, *E. americana* Mill., *I. murucoides* Roem. & Schult.) (Tabla 2 y Fig. 3). En los sitios C1 y C2 destacan aquellas que presentan las alturas y coberturas mayores como *P. dulce*, *Bursera simaruba* (L.) Sarg., *Spathodea campanulata* P. Beauv, *Heliocarpus terebinthinaceus* (DC.) Hochr. e *I. murucoides*. En los tres sitios restantes (C3-C5) destacan especies como *I. murucoides*, *S. purpurea*, *Guazuma ulmifolia* Lam. y *Bursera glabrifolia* (Kunth) Engl. Cabe mencionar que en todo este gradiente está presente *E. americana* dentro de los valores estructurales más altos de los índices, encabezándolos en los sitios C3 y C2.

En el gradiente altitudinal que comprende de 1850 a 2220 msnm, al que pertenecen los sitios C6, C7 y C8, existe una combinación entre especies de BTC y BPE, destacando en ambos índices *S. purpurea*, *Annona cherimola* Mill., *E. americana*, *I. murucoides*, *B. glabrifolia*, *Q. rugosa*, *P. montezumae* y *C. lusitanica*. Cabe mencionar que en las comunidades C6 y C7 *P. americana* se encuentra en los primeros lugares de los índices referidos (IVIR e IVFR) debido a su alta abundancia (Tabla 2).

Por último, en el gradiente altitudinal que va de 2450 a 2574 msnm, al que pertenecen los sitios C9 y C10, dominan *Q. rugosa*, *P. montezumae* y *C. lusitanica*, todas especies del BPE. Sin embargo, también se encontraron arboles de *E. americana* y *S. purpurea*, que de acuerdo con Villaseñor (2016) pertenecen al BTC (Tabla 2 y Anexo 3).

Tabla 2. Valores más altos de los Índices relativos en cada sitio (IVIR lado izquierdo e IVFR del lado derecho).

C1 (1220 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth	38.01	43.41	<i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth
<i>Bursera simaruba</i> (L.) Sarg.	22.84	27.65	<i>Bursera simaruba</i> (L.) Sarg.
<i>Erythrina americana</i> Mill.	8.32	11.41	<i>Spathodea campanulata</i> P. Beauv.
C2 (1291 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Erythrina americana</i> Mill.	37.04	38.85	<i>Erythrina americana</i> Mill.
<i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth	16.48	21.59	<i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth
<i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	10.89	11.31	<i>Heliocarpus terebinthinaceus</i> (DC.) Hochr.
C3 (1320 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Erythrina americana</i> Mill.	26.60	31.00	<i>Erythrina americana</i> Mill.
<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	21.18	23.84	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.
<i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	14.10	12.51	<i>Casuarina equisetifolia</i> L.

C4 (1602 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	26.25	28.54	<i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.
<i>Erythrina americana</i> Mill.	20.48	18.91	<i>Erythrina americana</i> Mill.
<i>Spondias purpurea</i> L.	10.72	15.29	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.
C5 (1665 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Bursera glabrifolia</i> (Kunth) Engl.	32.77	39.12	<i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.
<i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	29.11	37.84	<i>Bursera glabrifolia</i> (Kunth) Engl.
<i>Erythrina americana</i> Mill.	8.13	8.52	<i>Spondias purpurea</i> L.
C6 (1850 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Persea americana</i> Mill.	21.41	25.84	<i>Persea americana</i> Mill.
<i>Annona cherimola</i> Mill.	12.81	14.70	<i>Cupressus lusitanica</i> Mill.
<i>Spondias purpurea</i> L.	11.67	12.04	<i>Annona cherimola</i> Mill.
C7 (2114 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Quercus rugosa</i> Née	20.01	28.54	<i>Quercus rugosa</i> Née
<i>Pinus Montezumae</i> Lamb.	18.97	24.29	<i>Spondias purpurea</i> L.
<i>Spondias purpurea</i> L.	16.89	19.67	<i>Pinus Montezumae</i> Lamb.
C8 (2220 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Persea americana</i> Mill.	26.18	40.42	<i>Persea americana</i> Mill.
<i>Spondias purpurea</i> L.	24.54	23.32	<i>Spondias purpurea</i> L.
<i>Erythrina americana</i> Mill.	14.87	9.66	<i>Erythrina americana</i> Mill.
C9 (2450 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Cupressus lusitanica</i> Mill.	38.65	59.39	<i>Cupressus lusitanica</i> Mill.
<i>Quercus rugosa</i> Née	30.73	27.71	<i>Quercus rugosa</i> Née
<i>Persea americana</i> Mill.	6.89	4.16	<i>Pinus Montezumae</i> Lamb.
C10 (2574 msnm)			
	IVIR	IVFR	
<i>Quercus rugosa</i> Née	44.35	59.03	<i>Quercus rugosa</i> Née
<i>Pinus Montezumae</i> Lamb.	27.17	25.06	<i>Pinus Montezumae</i> Lamb.
<i>Cupressus lusitanica</i> Mill.	12.40	7.43	<i>Arbutus xalapensis</i> Kunth

Diversidad alfa

Con base a los valores aportados del Índice Shannon-Wiener (H') referidos a la diversidad alfa en cada uno de los sitios muestreados, se observa que en la mayoría de los casos (80%) la diversidad es baja, porque sus valores son menores a $H' = 2$; mientras que los sitios C6 y C7 (20%) tienen una alta diversidad (tabla 3). Los números efectivos (medidas de diversidad verdadera), permiten una mejor interpretación de la heterogeneidad de especies entre comunidades (Tabla 3), destaca que sobresalen los mismos sitios con mayor diversidad, donde C6, que es el sitio más diverso, tiene una diferencia de 6.67 con C9, siendo este último el sitio menos diverso. Entre los valores más altos, esta C6 que es 3.4 veces más diverso respectivamente que los dos sitios que le preceden (C2 y C7), lo cual es más del doble. Por su parte, C7 y C2 tienen una diferencia de diversidad entre ellos de 1.18. Cabe precisar que no existe un patrón consistente de la diversidad alfa a lo largo del gradiente altitudinal, independientemente de la manera en que ésta fue medida.

Tabla 3. Valor del Índice Shannon-Wiener y los valores de diversidad verdadera en cada sitio muestreado del Corredor Biológico Chichinautzin, Morelos, México.

Sitios de muestreo	Valor del índice	No. Efectivos
C1	1.63	5.08
C2	1.87	6.46
C3	1.56	4.76
C4	1.75	5.78
C5	1.23	3.42
C6	2.29	9.86
C7	2.03	7.64
C8	1.63	5.08
C9	1.16	3.19
C10	1.45	4.24

Diversidad beta

Respecto a la heterogeneidad y el recambio de especies entre los sitios de estudio (diversidad β), el índice de Jaccard (I J) tuvo un valor de 0.83, el cual es alto, lo que expresa una baja tasa de recambio de especies a lo largo del gradiente altitudinal. Esta información se confirma con el dendrograma de calor, el cual muestra la existencia de dos grandes grupos (Coeficiente de Correlación Cofenética = 0.96) entre los cuales las especies son ampliamente compartidas (Fig. 3). El primer grupo está compuesto por las comunidades de San José de los Laureles (C6), la cabecera municipal de Tlalnepantla (C8), Villa Nicolas Zapata (C9) y Felipe Neri (C10), que se encuentran en la parte alta del gradiente de altitud de 1850 a 2574. Al interior de este grupo C9 y C10 tienen una mayor afinidad y se separan como un subgrupo, lo mismo ocurre en el caso de C6 y C8. El segundo grupo está compuesto por las comunidades de Colonia Vicente Estrada Cajigal (C1), Ignacio Bastida (C2), Texio (C3), Amatlán (C4), Colonia del Carmen (C5) y Nepopualco (C7). Al interior de este grupo existen también dos subgrupos, uno conformado exclusivamente por C1, el cual difiere florísticamente de los demás, y el otro por el resto de comunidades organizadas en tres subconjuntos, en los que C2, C3 y C7 presentan la mayor afinidad de especies, aun cuando C7 es una comunidad que se encuentra en una zona transicional (al igual que C5) a poco más de 800 m de altitud que los dos anteriores (Fig. 2); lo que explicaría su separación como otro subconjunto tal cual se muestra el dendrograma (Fig. 3). El último subconjunto está conformado por C4 y C5, debido a que albergan especies que no se encuentran en el resto (Fig. 3), por tanto, su estructura y composición es similar (Tabla 2 y Fig. 2).

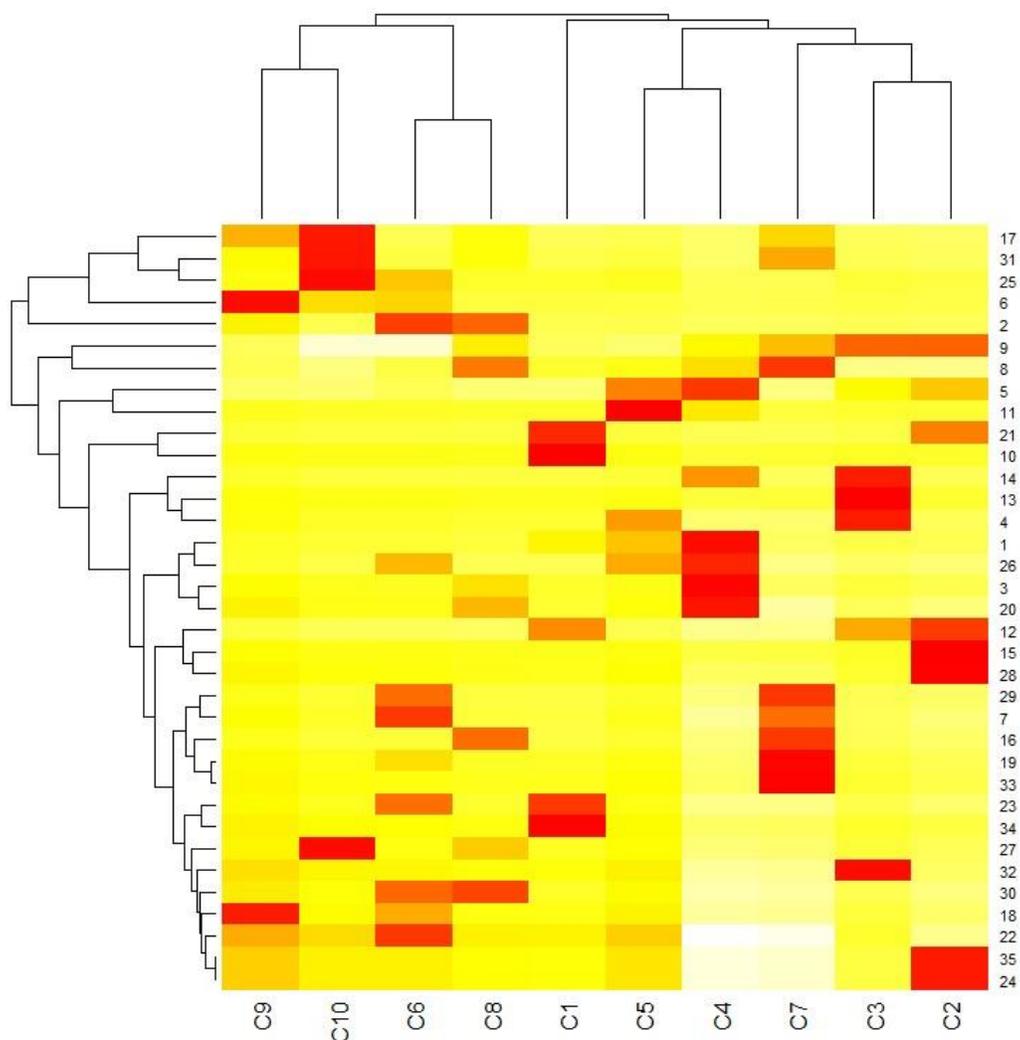


Fig. 3. Dendrograma de calor entre las matrices de los sitios de muestreo (parte superior) y las especies presentes por sitio (parte lateral izquierda), donde se muestra una escala de colores en que el rojo intenso indica el valor más alto, mientras que el naranja, amarillo y blanco indican valores menores. Coeficiente de correlación cofenético =0.96. **Nota:** Las especies corresponden a 1: *Manihot foetida*; 2: *Ipomoea murucoides*; 3: *Quercus rugosa*; 4: *Guazuma ulmifolia*; 5: *Spondias purpurea*; 6: *Casuarina equisetifolia*; 7: *Ficus carica*; 8: *Annona cherimola*; 9: *Cupressus lusitanica*; 10: *Bursera glabrifolia*; 11: *Erythrina americana*; 12: *Fraxinus uhdei*; 13: *Bursera schlechtendalii*; 14: *Heliocarpus terebinthinaceus*; 15: *Leucaena esculenta*; 16: *Sapium macrocarpum*; 17: *Acacia farnesiana*; 18: *Pithecoctenium crucigerum*; 19: *Citrus aurantifolia*; 20: *Ficus benjamina*; 21: *Bursera simaruba*; 22: *Tecoma stans*; 23: *Arbutus xalapensis*; 24: *Swietenia humilis*; 25: *Prunus serotina* subsp. *capuli*; 26: *Prunus pérsica*; 27: *Citrus sinensis*; 28: *Pithecellobium dulce*; 29: *Psidium guajava*; 30: *Pinus montezumae*; 31: *Persea americana*; 32: *Eriobotrya japonica*; 33: *Bocconia arborea*; 34: *Gliricidia sepium*; 35: *Spathodea campanulata*.

Conocimiento ecológico tradicional

De los entrevistados el 90% fueron varones, con un rango de edad de 35 a 71 años. Son seis el total de valores de uso de las especies plantadas bajo selección local o toleradas que pertenecen a la vegetación nativa. Sobresale por el número de mención el alimentario (36%), el combustible (26%) y la sombra (26%), este último a pesar de no ser un servicio de provisión los informantes los perciben como tal. Por otra parte, aquellas especies que destacan en los índices estructurales también son nativas del país y presentan uso múltiple (*E. americana*, *I. murucoides*, *S. purpurea*, *P. dulce*, *P. montezumae*, *C. lusitanica* y *A. xalapensis*) (Tabla 4 y Anexo 2).

Tabla 4. Especies sobresalientes en los índices estructurales en relación con el uso y grado de manejo.

Bosque Tropical Caducifolio			
Especies	Origen	Grado de Manejo	No. usos
<i>Erythrina americana</i>	Endémica de México	En proceso de domesticación	3
<i>Ipomoea murucoides</i>	Nativa de México	Silvestre	2
<i>Spondias purpurea</i>	Nativa de México	Domesticada	4
<i>Pithecellobium dulce</i>	Nativa de México	En proceso de domesticación	4
<i>Persea americana</i>	Nativa de México	Domesticada	2
Bosque Pino-Encino			
<i>Quercus rugosa</i>	Nativa de México	Silvestre	2
<i>Pinus montezumae</i>	Nativa de México	Silvestre	2
<i>Cupressus lusitanica</i>	Nativa de México	Silvestre	2
<i>Arbutus xalapensis</i>	Nativa de México	Silvestre	2

Nota: Para el grado de manejo se precisaron por medio de bibliografía (Monroy-Ortiz & Monroy, 2006).

Las prácticas culturales de manejo que llevan a cabo los propietarios de los CV son: 1) el establecimiento por medio de estacas y por plantas que compran, 2) el tolerar especies silvestres que ya estaban presentes, 3) las podas que se efectúan cada uno o dos años en temporal de lluvias y secas, 4) el deshierbe realizado cada uno, dos o tres años, durante la época de lluvias y secas, durante esta última época se realiza también por medio de la quema, con herramientas como el azadón y machete, así como por herbicidas químicos y 5) la fertilización con abono a base de estiércol de animal vacuno. Cabe mencionar que aquellos sitios que presentan mayor diversidad (C6 y C7) se les realiza la mayor cantidad de las practicas mencionadas. En C6 la parcela en la que se encuentran los CV se dedica exclusivamente a la agricultura, y utilizan la producción para venta y autoabasto, en ese orden de importancia. En el segundo sitio (C7) la parcela es ocupada para agricultura y esta compartida con casa habitación, donde la producción obtenida es utilizada de la misma forma que la anterior.

Influencia de las prácticas de manejo en la estructura de los CV

El Análisis de Escalamiento Multidimensional no Métrico indica que la riqueza, estructura y diversidad arbórea de los CV está directamente influenciada por el manejo más que por la altitud, con un valor de stress altamente confiable (Figura 4). De las siete prácticas de manejo que los propietarios de los CV llevan a cabo, sólo tres resultaron estadísticamente significativas: temporal de podas ($r^2=0.63$, $p=0.040$), temporal de deshierbe ($r^2=0.75$, $p=0.005$) y fertilización ($r^2=0.76$, $p=0.008$).

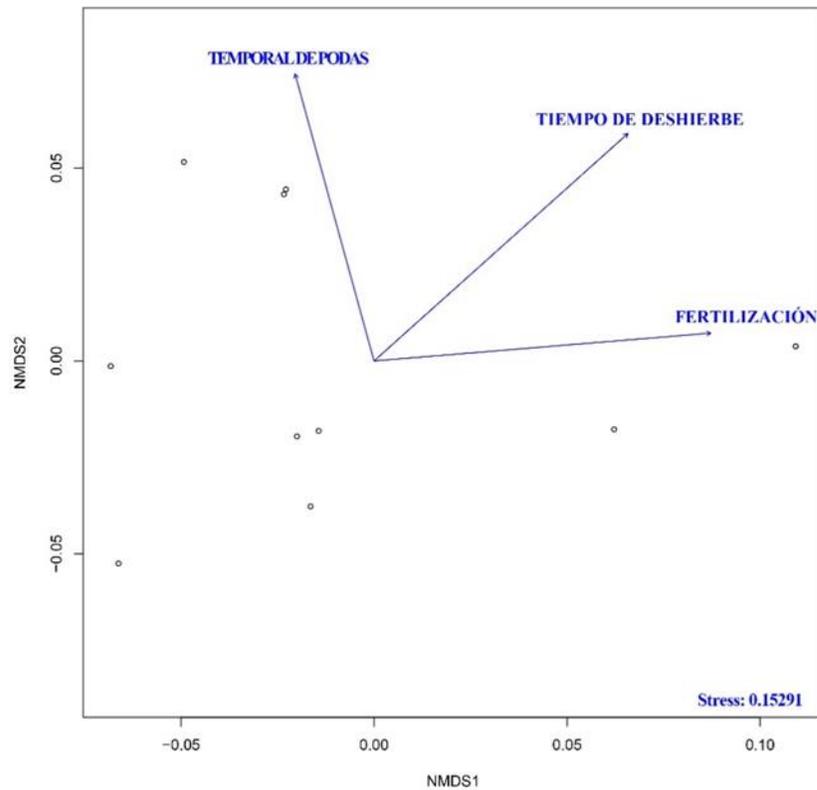


Fig. 4. Representación del Análisis de Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS). Se muestran únicamente las variables estadísticamente significativas.

DISCUSIÓN

De las 35 especies arbóreas reportadas en los CV el 71% son nativas de México, coincidiendo con Avendaño & Acosta (2016) y Zamora *et al.* (2022), quienes hacen referencia para estudios en CV en Veracruz, México, de la alta presencia de árboles y arbustos nativos; sin embargo, el número de especies que reportan es mayor, lo cual se puede atribuir a que trabajaron con diferentes tipos y números de ecosistemas, así como las diversas formas de crecimiento y superficies. A pesar de lo anterior, se comparten algunas especies correspondientes a ecosistemas cálidos y templados como *E. americana*, *S. purpurea*, *B. simaruba*, *G. sepium*, *G. ulmifolia*, *A. cherimola*, *A. xalapensis*, *Q. rugosa* y *C. lusitanica*. Por otra parte, respecto a la riqueza de especies se difiere con Fuentealba & Martínez-Ramos (2014), Torres *et al.* (2008) y Villanueva-López *et al.* (2014), en trabajos realizados en selvas medianas y altas de clima cálido-húmedo.

Teóricamente se reconoce que la variación florística y los patrones de riqueza, diversidad y estructura de especies vegetales entre sitios está asociada a los cambios climáticos relacionados al cambio de altitud (Sang, 2009; Slik *et al.*, 2009; Pausas & Austin, 2001; Ávila *et al.*, 2018). Sin embargo, en el presente estudio se demostró que las variables ambientales no necesariamente determinan la composición y estructura de las especies de los CV debido a que el manejo llevado a cabo por los propietarios

también parece influir en dichos parámetros. Esto se demuestra al encontrarse especies asociadas al BTC (aunque en menor abundancia) en zonas de BPE, implementadas por los propietarios, debido a los beneficios que proveen para éstos, entre las que destacan: *E. americana*, *S. purpurea* y *P. americana*; escenario que permite rechazar la hipótesis planteada en la presente investigación de que los parámetros estructurales ecológicos mostrarán variación tanto por el efecto interactivo del manejo humano como por el gradiente altitudinal". Lo anterior debido a que la presencia de estas taxa es el resultado de su implementación a partir del CET que responde a los requerimientos de sus manejadores, por ejemplo, las labores de mantenimiento como la poda del dosel se hace para priorizar el cultivo de las parcelas aledañas, como también lo reporta Avendaño & Acosta (2016). Esto coincide con Colín et al. (2012), quienes refieren que el factor socioeconómico busca la producción de constante durante todo el año, lo que impacta directamente en la riqueza y principalmente en la estructura de las especies presentes.

Por otra parte, la riqueza de especies de los CV trabajados es similar en las diferentes altitudes (Fig. 2) por la influencia del CET (Fig. 3). En los sitios de mayor altitud la disminución en la riqueza de especies se atribuye a la dificultad para establecer una mayor cantidad de plantas. En estos sitios sobresale que el 80% de las plantas son silvestres y estas tienen menor grado de manejo, lo que coincide con Zamora et al. (2022) en cuanto a que los CV establecidos a mayores elevaciones tienen menor riqueza de especies, pero más del 90% de éstas son silvestres.

Las especies que se reportan con uso múltiple corresponden también a aquellas que tienen los valores más altos tanto en el IVI como en el IVF. La diferencia de *taxas* a lo largo del gradiente altitudinal de acuerdo a los índices referidos es mínima, esto es causado por la influencia del CET debido a que las comunidades a lo largo del gradiente altitudinal tienen una estrecha relación con la biodiversidad que les rodea, al implementar y manejar especies que tienen la capacidad de cubrir parte de sus necesidades básicas (ya sean alimenticias, medicinales, u otras), permitiendo conectar las dimensiones económicas y sociales con las ambientales y así crear caminos alternativos en tiempos de crisis. Un ejemplo es *E. americana*, que es endémica del país. Esta especie se encuentra a lo largo de todo el gradiente altitudinal en el presente estudio, sobresaliendo en zonas de BTC, lo que no es raro, ya que Colín & Monroy (2004), Grande et al. (2013) y Zamora et al. (2022) mencionan que es identificada como una de las especies con mayor presencia en los CV de diferentes regiones del país por su importancia alimenticia y forrajeras, así como por su fácil reproducción y rápido crecimiento. También es de importancia la presencia de *B. simaruba*, que de acuerdo con Hernández-Pérez et al. (2011) es una especie común en los CV del sureste mexicano por sus propiedades medicinales, su uso mágico-religioso de la savia y por la fácil reproducción y rápido crecimiento, sin embargo, en Morelos solo se ha reportado para la Sierra de Huautla al sur de la entidad (Burgos et al., 2017). Pese a lo anterior, resultaron ser árboles dominantes por alturas y cobertura en los CV en el gradiente altitudinal más bajo perteneciente a BTC en el COBIO Chichinautzin, lo que sugerimos es consecuencia de que los dueños de los CV ubicados en esta zona tienen conocimiento sobre el manejo de esta especie en particular, por lo que decidieron implementarla.

Persea americana Mill. variedad Hass reporta una abundancia alta en la zona de transición BTC y BPE, al igual que en el estudio de Zamora et al. (2022) en Veracruz, en un área de ecotonía de zonas cálidas y templadas, lo que se explica porque es una especie de importancia alimenticia y económica, como lo mencionan Pérez et al. (2019). Sin embargo, Bravo-Espinoza et al. (2009) afirman que, a pesar de ser nativa de México, su alta abundancia podría llegar a ser un problema a la diversidad y deteriorar los ecosistemas forestales, como lo es para en el estado de Michoacán.

Respecto a la diversidad alfa y beta y los resultados de ordenación de la información del dendrograma, se demuestra que los CV en toda el área muestreada son muy similares, debido a que no existe un incremento de estos parámetros ecológicos a medida que aumenta la altitud, sino que dichas métricas más bien están influenciadas por las prácticas culturales que se reportan como estadísticamente significativas (Fig. 4). Por ejemplo, C7 y C10 en su mayoría albergan árboles afines al BPE, sin embargo, también están presentes especies de BTC establecidas por los manejadores con una abundancia alta, en que el CET se ve reflejado en las especies utilizadas (Zamora *et al.*, 2022). Esta tendencia es consistente a lo largo del gradiente altitudinal, porque existe una biodiversidad reconocida por los habitantes de las comunidades del COBIO Chichinautzin para satisfacer diversas necesidades, lo que influye directamente en la conformación y configuración espacio-temporal de esos sistemas agroforestales.

En general, los CV del COBIO Chichinautzin además de ser parte del paisaje antrópico constituyen elementos preservación de biológica al funcionar como reservorios de especies vegetales nativas pertenecientes a bosques adyacentes (Avendaño & Acosta, 2016, Dick, 1999; Dirzo *et al.*, 2009 y Harvey *et al.*, 2008). Estudios previos en el país (Avendaño & Acosta, 2016; Estrada & Coates-Estrada, 2001; Fuentealba & Martínez-Ramos, 2014; Harvey *et al.*, 2005; Pulido-Santacruz & Renjifo, 2011) también confirman que, aunque las especies presentes en las CV solo cubren una pequeña área del paisaje, su distribución y estructura es importante al tener un efecto positivo en la posibilidad de aumentar la conectividad general del paisaje y sobre todo en aquellas regiones donde la vegetación ha sido perturbada en mayor grado al establecer campos para la producción.

Los informantes clave del presente trabajo se dedican en un alto porcentaje a la agricultura, las especies vegetales que utilizan en los CV son implementadas bajo selección local con base en el CET. Además, estos CV sirven como linderos para delimitar sus terrenos en los que se incluyen las parcelas dedicadas al cultivo y a la casa habitación, así como de brindar bienes naturales a las comunidades, principalmente de provisión, sobresaliendo el valor de uso alimentario, combustible y sombra. Este es un hallazgo diferente con respecto a otros estudios realizados en el país, debido a que su función secundaria en estos espacios es proveer forraje, sobre todo al localizarse en zonas donde existe una fuerte presencia ganadera (Fuentealba & Martínez-Ramos, 2014; Maldonado *et al.*, 2008; Villanueva-López *et al.*, 2014). Para el estado de Morelos no se ubicaron trabajos dedicados exclusivamente a este sistema agroforestal, sin embargo, Colín *et al.* (2012) y Monroy *et al.* (2017) mencionan este valor de uso en los huertos y zonas de cultivo donde las especies implementadas como CV permiten incrementar el ingreso al núcleo familiar y la disponibilidad de bienes como una respuesta a la crisis de la economía campesina. Con lo anterior, se enfatiza que en la entidad existe una necesidad académica en profundizar sobre las funciones sociales y ambientales de este sistema agroforestal.

El presente estudio demuestra que el CET es el factor principal que influye en la riqueza, composición, estructura y diversidad de las especies presentes en los CV del COBIO Chichinautzin, debido a que el establecimiento de estas *taxa* está relacionado con los diferentes usos que les dan los propietarios, como lo menciona (Stanturf *et al.*, 2014), principalmente alimentarias, sombra, combustible, medicinales, herramienta e insecticidas. Cabe precisar que el establecimiento de estas especies puede reducir la presión sobre las áreas boscosas del COBIO Chichinautzin, limitando la extracción o tala de árboles nativos, lo que favorecería la conservación biológica (Zamora *et al.*, 2022). Los campesinos de las propiedades confirmaron que las plantas utilizadas en los CV son implementadas para obtener productos para autoabasto y el excedente se venden en los mercados locales, lo que confirma que un sistema de esta naturaleza se vuelve ecológica, alimentaria y económicamente viable, ya que como también lo refiere Rendón-Sandoval

et al. (2020), su establecimiento garantiza a los campesinos ahorros económicos, además de aportar un valor ecológico añadido a sus tierras.

CONCLUSIONES

El conocimiento ecológico tradicional es el principal factor relacionado con la riqueza, estructura y diversidad arbórea que presentan los cercos vivos en el Corredor Biológico Chichinautzin. A diferencia de otros estudios, en el presente trabajo la altitud y sus variaciones climáticas no son el principal factor de los parámetros mencionados. El manejo de los cercos vivos se basa en el CET de los propietarios, en el que se incluyen las actividades culturales de apropiación que se relacionan tanto con los servicios ambientales, principalmente los de provisión como el alimentario y combustible, así como en el destino de la producción. Los cercos vivos estudiados tienen como función principal delimitar campos de cultivo y predios de casa habitación, a diferencia de otros reportes donde son utilizados para delimitar potreros para la ganadería vacuna. La colindancia entre parcela, vivienda y CV permite que el conocimiento sobre el manejo tradicional del último influya en la conservación biológica, evidencia de ello es que el 71% de las especies reportadas son nativas del país e incluso endémicas y multipropósito. Además, algunas de estas especies son estructuralmente dominantes en los tipos de vegetación estudiados. Estos sistemas agroforestales también conservan especies sujetas a protección de acuerdo con la NOM-059 de México. A pesar de los hallazgos generados en la presente investigación, solo representan un primer intento para conocer algunas de las especies que son empleadas como CV en el COBIO Chichinautzin de Morelos y de los factores que afectan su presencia. Por tal motivo, se requieren realizar estudios detallados que permitan profundizar el efecto que tiene el CET sobre la estructura y composición de los CV, mismos que deben socializarse con los informantes y con otros grupos sociales, para la revaloración de su importancia en la conservación de la diversidad biocultural.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca otorgada durante la elaboración del presente trabajo al primer autor. A los habitantes de las comunidades del COBIO Chichinautzin por permitirnos trabajar en sus parcelas y sobre todo gracias por su disponibilidad y aportes a la investigación.

LITERATURA CITADA

- Alvarado Rosas, C., & di Castro S. M. R. (2011). Un acercamiento al fenómeno de la fragmentación socio territorial en la zona noreste y noroeste de la ciudad de Cuernavaca, Morelos. *Revista Geográfica De América Central*, 2 (47E), 1–15.
- Avendaño R., S., & Acosta R, I. (2016). Plantas utilizadas como cercas vivas en el estado de Veracruz. *Madera y Bosques*, 6(1). <https://doi.org/10.21829/myb.2000.611342>
- Ávila-Sánchez, P., Sánchez-González, A., Catalán-Heverástico, C., Almazán-Núñez, R. C., & Jiménez-Hernández, J. (2018). Patrones de riqueza y diversidad de especies vegetales en un gradiente altitudinal en Guerrero, México. *Polibotánica*, (45), 101-113. <https://doi.org/10.18387/polibotanica.45.8>
- Barrera-Bassols, N., & Toledo, V. M. (2018). La Devastación biocultural de México. In V. M. Toledo Manzur & P. Alarcon-Cháires (Eds.), *Tópicos bioculturales: reflexiones sobre el concepto de bioculturalidad y la defensa del patrimonio*

- biocultural de México*. (Primera Edición, Vol. 1, pp. 99–119). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bravo-Espinoza, M., Sánchez-Pérez, J. la luz, Vidales-Fernández, J.-A., Sáenz-Reyes, J.-T., Chávez-León, J. G., Madrigal-Huendo, S., Muñoz-Flores, H. J., Tapia-Vargas, L.-M., Orozco-Gutiérrez, G., Alcántar-Rocillo, J.-J., Vidales-Fernández, I., & Venegas-González, E. (2009). Impactos ambientales y socioeconómicos del cambio de uso del suelo forestal a huertos de aguacate en Michoacán. In *Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Pacífico Centro*.
- Berkes, F., Colding, J. & Folke, C. (2000). Rediscovery of Traditional Ecological Knowledge as adaptive management. *Ecological Applications*, 10 (5), 1251-1262.
- Bertoni, M. y López, M. (2010). Percepciones sociales ambientales. Valores y actitudes hacia la conservación de la Reserva de Biosfera «Parque Atlántico Mar Chiquita Argentina. *Estudios y Perspectivas en Turismo*, 19 (5), 835-849.
- Budowski, G. (1987). Living fences in tropical America, a widespread agroforestry practice. In *Agroforestry: realities, possibilities and potentials*.
- Burgos Herrera, B., Cruz León, A., Uribe Gómez, M., Lara Bueno, A., & Torres, R. M. (2017). Valor cultural de especies arbóreas en sistemas agroforestales de la Sierra de Huautla, Morelos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 16. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i16.396>
- Cabrera, O., Benítez, Á., Cumbicus, N., Naranjo, C., Ramón, P., Tinitana, F., & Escudero, A. (2019). Geomorphology and altitude effects on the diversity and structure of the vanishing montane forest of southern Ecuador. *Diversity*, 11(3). <https://doi.org/10.3390/D11030032>
- Cadavid-Florez, L., Laborde, J., & Mclean, D. J. (2020). Isolated trees and small woody patches greatly contribute to connectivity in highly fragmented tropical landscapes. *Landscape and Urban Planning*, 196. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2020.103745>
- Cano Contreras, E., Medinaceli, A., Sanabria Diago, O., & Argueta Villamar, A. (2015). Código de Ética para la Investigación, La Investigación-Acción y la Colaboración Etnocientífica en América Latina. Versión Uno. In *Etnobiología* (Vol. 13, Issue 4).
- Castillo-Campos, G., Dávila-Aranda, P., & Zavala-Hurtado, J. A. (2017). La selva baja caducifolia en una corriente de lava volcánica en el centro de Veracruz: lista florística de la flor vascular. *Botanical Sciences*, 80. <https://doi.org/10.17129/botsci.1747>
- Chablé-Pascual, R., Palam-López, D., Vázquez-Navarrete, C., Ruiz-Rosado, O., Mariaca-Méndez, R., & Ascensio-Rivera, J. (2015). Estructura, diversidad y uso de las especies en huertos familiares de la Chontalpa, Tabasco, México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2(4).
- Cirimwami, L., Doumenge, C., Kahindo, J. M., & Amani, C. (2019). The effect of elevation on species richness in tropical forests depends on the considered lifeform: results from an East African mountain forest. *Tropical Ecology*, 60(4). <https://doi.org/10.1007/s42965-019-00050-z>
- Colín, H., & Monro, R. (2004). Formas de apropiación tradicional en el Corredor Biológico Chichinautzin, Morelos. In H. Colín Bahena & R. Monroy Martínez (Eds.), *Aportes Etnobiológicos. Red Regional de Recursos Bióticos*. (Primera edición). CIB, Facultad de Ciencias Biológicas, UAEM.
- Colín, H., Monroy, R., & Hernández, A. (2013). Huerto familiares tradicionales en los Altos de Morelos. *Inventio*, 9(17), 9–12.
- Colín, H., Hernández, A., & Monroy, R. (2012). El manejo tradicional y agroecológico en un huerto familiar de México, como ejemplo de sostenibilidad. *Etnobiología*, 10(2).

- Colín, H., Monroy, R., & Rodríguez-Chávez, J. M. (2015). Traditional management units, the base of community conservation in Morelos, Mexico. *Revista Chapingo, Serie Ciencias Forestales y Del Ambiente*, 22(1). <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2014.10.045>
- Corella Justavino, F., Valdez Hernández, J. I., Cetina Alcalá, V. M., González Cossio, F. v., Trinidad Santos, A., & Aguirre Rivera, J. R. (2001). Estructura forestal de un bosque de mangles en el noreste del estado de Tabasco, México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 26(90), 73–102.
- Cuevas, M. I., & Monroy-Ortíz, R. (2017). El control tradicional de plagas: identificando los efectos de la fragmentación territorial en la agricultura. . In C. Monroy-Ortíz, R. Monroy Martínez, R. Monroy-Ortíz, & M. de L. Acosta-Urdapilleta (Eds.), *Patrimonio Biocultural amenazado en el estado de Morelos* (Primera edición, pp. 15–40). Plaza y Valdés.
- Curtis, J. T., & McIntosh, R. P. (1951). An upland forest continuum in the pariré-forest border region of Wisconsin. *Ecology*, 32(3), 476–496.
- Diario Oficial de la Federación. (1988). Decreto por el que se declara el área de protección de la Flora y Fauna silvestre, ubicada en los municipios de Huitzilac, Cuernavaca, Tepoztlán, Jiutepec, Tlalnepantla, Tlayacapan y Totolapan, Morelos. In *Diario Oficial de la Federación* (CDXXII(22)). Órgano del Gobierno Constitucional de los Estados Unidos Mexicanos.
- Dick, W. A. (1999). Agroecology: Ecological Processes in Sustainable Agriculture. *Journal of Environmental Quality*, 28(1). <https://doi.org/10.2134/jeq1999.00472425002800010046x>
- Dirzo, R.; Aguirre, A., López, J. C. (2009). Diversidad florística de las selvas húmedas en paisajes antropizados. *Investigación Ambiental*, 1(1).
- Emanuelli, P. (2010). Metodología para la medición y evaluación de la biodiversidad en inventarios forestales. *Mesa de Expertos Sobre Monitoreo Forestal. Ira Reunión En El Marco de Actividades de MRV-REDD*.
- Espinosa, D., & Ocegueda, S. (2007). Introducción. In I. Luna Vega, J. J. Morrone, & D. Espinosa (Eds.), *Biodiversidad de la faja Volcánica Transmexicana* (Primera edición, pp. 5–6). Comisión Nacional para el Conocimiento y el Uso de la Biodiversidad.
- Estrada, A., & Coates-Estrada, R. (2001). Bat species richness in live fences and in corridors of residual rain forest vegetation at Los Tuxtlas, Mexico. *Ecography*, 24(1). <https://doi.org/10.1034/j.1600-0587.2001.240111.x>
- Flores, J. S., Tun Garrido, J., Ortiz Díaz, J. J., & Kantún Balam, J. (2010). Plantas Usadas en Cercas Vivas en la Península de Yucatán. *Etnoflora Yucatanense*, fasc. 28., 146.
- Fuentealba, B. D., & Martínez-Ramos, M. (2014). Transplanting native tree seedlings to enrich tropical live fences: An ecological and socio-economic analysis. *Agroforestry Systems*, 88(2). <https://doi.org/10.1007/s10457-013-9669-y>
- García, E. (1998). Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen, Adaptado para las Condiciones de la República Mexicana. In *Instituto de Geografía*.
- García, J., C., Calvet-Mir, L., Domínguez, P. y Gutiérrez, J. G. (2018). Buenas prácticas de desarrollo sostenible: el huerto familiar en el Altiplano Central Mexicano. En: Mora, Julián (Ed.). *Gestión ambiental y desarrollo sustentable: experiencias comparadas*. España: Thomson Reuters Aranzadi, 129-138.
- García Flores, J. C., Gutiérrez Cedillo, J. G., & Araújo Santana, M. R. (2019). Factores sociales explicativos de la riqueza vegetal en huertos familiares: análisis de una estrategia de vida. *Sociedad y Ambiente*, 19. <https://doi.org/10.31840/sya.v0i19.1931>
- Gentry, A. H. (1982). Patterns of Neotropical Plant Species Diversity. In *Evolutionary Biology*. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6968-8_1

- Gentry, A. H. (1988). Changes in Plant Community Diversity and Floristic Composition on Environmental and Geographical Gradients. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75(1). <https://doi.org/10.2307/2399464>
- Ghafari, S., Ghorbani, A., Moameri, M., Mostafazadeh, R., & Bidarlord, M. (2018). Composition and structure of species along altitude gradient in Moghan-Sabalan rangelands, Iran. *Journal of Mountain Science*, 15(6). <https://doi.org/10.1007/s11629-017-4820-2>
- Grande, D., Villanueva, G., Maldonado, N., & Hernandez, S. (2013). Las cercas vivas. In M. Maldonado (Ed.), *Los sistemas silvopastoriles en Tabasco. Una opción para desarrollar una ganadería productiva y amigable con la naturaleza* (UJAT, pp. 23–39). UJAT.
- Guerrero, J. (2020). Factores de presión a la biodiversidad. In: *La diversidad de Morelos. Estudio de estado 2: Vol. Tomo II* (CONABIO, pp. 127–131). CONABIO.
- Harvey, C. A., Villanueva, C., Villacís, J., Chacón, M., Muñoz, D., López, M., Ibrahim, M., Gómez, R., Taylor, R., Martínez, J., Navas, A., Saenz, J., Sánchez, D., Medina, A., Vilchez, S., Hernández, B., Perez, A., Ruiz, F., López, F., ... Sinclair, F. L. (2005). Contribution of live fences to the ecological integrity of agricultural landscapes. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 111(1–4). <https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.06.011>
- Harvey, C., Villanueva, C., Ibrahim, M., Gómez, R., López, M., Kunth, S., & Sinclair, F. (2008). Productores, árboles y producción ganadera en paisajes de América Central: implicaciones para la conservación de la biodiversidad. In C. Harvey & J. Saenz (Eds.), *Evaluación y conservación de biodiversidad en paisajes fragmentados de Mesoamérica. Santo Domingo de Heredia*. (Primera edición, pp. 197–224). INBIO.
- Hernández-Pérez, E., González-Espinosa, M., Trejo, I., & Bonfil, C. (2011). Distribución del género *Bursera* en el estado de Morelos, Mexico y su relación con el clima. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 82(3). <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2011.3.694>
- Huntington, H. (2000). Using Traditional Ecological Knowledge in science: methods and applications. *Ecological Applications*, 10 (5), 1270–1274.
- Instituto Nacional de Pueblos Indígenas (INPI) (27 de septiembre 2017) Etnografía de los nahuas de Morelos. Portal único del gobierno <https://www.gob.mx/inpi/articulos/etnografia-de-los-nahuas-de-morelos>
- Jost, L. (2006). Entropy and diversity. In *Oikos* (Vol. 113, Issue 2). <https://doi.org/10.1111/j.2006.0030-1299.14714.x>
- Kassambara, A., & Mundt, F. (2022). Factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analysis. In *CRAN- R Package*.
- Kuchler, A. W., Mueller-Dombois, D., & Ellenberg, H. (1976). Aims and Methods of Vegetation Ecology. *Geographical Review*, 66(1). <https://doi.org/10.2307/213332>
- Laiolo, P., & Ramón Obeso, J. (2017). Life-History Responses to the Altitudinal Gradient. In J. Catalan, J. M. Ninot, & M. M. Aniz (Eds.), *High Mountain Conservation in a Changing World* (Primera edición, pp. 253–283). Advisory Board.
- León, M. C., & Harvey, C. A. (2006). Cercas vivas y conectividad paisajística en un paisaje agrícola neotropical. *Agroforestry Systems*, 68(1), 15–26.
- Lira, R., Casas, A., Rosas-López, R., Paredes-Flores, M., Pérez-Negrón, E., Rangel-Landa, S., Solís, L., Torres, I., & Dávila, P. (2009). Traditional knowledge and useful plant richness in the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Economic Botany*, 63(3). <https://doi.org/10.1007/s12231-009-9075-6>
- Manfredo, M., Teel, T. y Dietsch, A. (2016). Implications of human value shift and persistence for biodiversity conservation. *Conservation Biology*, 30, 287–296.

- Maldonado, M. N., Grande, D. J., Fuentes, E. E., Hernández, S., Pérez-Gil, F., & Gómez, A. (2008). Los sistemas silvopastoriles de la región tropical húmeda de México: El caso de Tabasco. *Zootecnia Tropical*, 26(3).
- Magurran, A.E. (2013) *Ecological Diversity and Its Measurement*. Springer, Netherlands.
- Moody, A., y R. K. Meentemeyer, (2001). Environmental factor influencing spatial pattern of shrub diversity in Chaparral, Santa Ynez Mountains, California. *J. Veg. Sci.*, 12: 41-52.
- Mollison, B. (1981). Introduction to Permaculture: Pamphlets I to XIV in the Permaculture Design Course Series. In B.
- Monroy-Martínez, R., Ponce-Díaz, A., Colín-Bahena, H., Monroy-Ortiz, C., & García-Flores, A. (2017). Los huertos familiares tradicionales soporte de seguridad alimentaria en comunidades campesinas del estado de Morelos, México. *Ambiente y Sostenibilidad*. <https://doi.org/10.25100/ays.v0i0.4288>
- Monroy-Ortiz, R., & Monroy, R. (2007). Saber la biodiversidad para lo urbano. Indicadores básicos. In *Escenarios de gestión del espacio urbano y regional en México* (Primera edición, pp. 189–207). Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Planeación Urbana y Regional.
- Morantes-Tolosa, J. L., & Renjifo, L. M. (2018). Cercas vivas en sistemas de producción tropicales: una revisión mundial de los usos y percepciones. *Revista de Biología Tropical*, 66(2). <https://doi.org/10.15517/rbt.v66i2.33405>
- Mostacedo Bonifacio y Frederickson Todd S. (2000). Manual de metodos Basicos de Muestreo y Analisis en Ecologia Vegetal. *Manual de Metodos Basicos de Muestreo y Analisis En Ecologia Vegetal*.
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., Mcglinn, D., Minchin, P. R., O'hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., Szoecs, E., & Maintainer, H. W. (2022). Package “vegan” Title Community Ecology Package Version 2.5-7. *R*, 2.5(7).
- Otero, J., Suarez, L. S., Quiceno, M. P., & Cabrera, E. (2006). Characterization, use and management of life fences inmountain cattle agroecosystems in Colombia. *Lyonia*, 10 (2), 117–136.
- Palacio, F. X., Apodaca, M. J., & Crisci, J. V. (2020). Análisis multivariado para datos biológicos: teoría y su aplicación utilizando el lenguaje R. In *Data Science*.
- Pausas, J. G. y M. P. Austin, (2001). Patterns of plant species richness in relation to different environments: an appraisal. *J. Veg. Sci.*, 12: 153-166.
- Pereira, H. M., Leadley, P. W., Proença, V., Alkemade, R., Scharlemann, J. P. W., Fernandez-Manjarrés, J. F., Araújo, M. B., Balvanera, P., Biggs, R., Cheung, W. W. L., Chini, L., Cooper, H. D., Gilman, E. L., Guénette, S., Hurtt, G. C., Huntington, H. P., Mace, G. M., Oberdorff, T., Revenga, C., ... Walpole, M. (2010). Scenarios for global biodiversity in the 21st century. In *Science* (Vol. 330, Issue 6010). <https://doi.org/10.1126/science.1196624>
- Pérez, S., Ávila Quezada, G., & Coto Arbelo, O. (2019). El aguacatero (*Persea americana* Mill) Review Avocado (*Persea americana* Mill). *Cultivos Tropicales*, 36(In Line).
- Pulido-Esparza, V. A., Espejo-Serna, A., & López-Ferrari, A. R. (2009). Las monocotiledóneas nativas del Corredor Biológico Chichinautzin. *Acta Botanica Mexicana*, 86(1). <https://doi.org/10.21829/abm86.2009.1076>
- Pulido-Santacruz, P., & Renjifo, L. M. (2011). Live fences as tools for biodiversity conservation: A study case with birds and plants. *Agroforestry Systems*, 81(1). <https://doi.org/10.1007/s10457-010-9331-x>
- R Core Team. (2022). R core team (2021). In *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org>.
- Rahbek, C., (1995). The elevational gradient of species richness: a uniform pattern. *Ecography*, 18: 200-205.

- Rahbek, C., (2005). The role of spatial scale and the perception of large-scale species-richness patterns. *Ecol. Letters*, 8:224-239.
- Rendón-Sandoval, F. J., Casas, A., Moreno-Calles, A. I., Torres-García, I., & García-Frapolli, E. (2020). Traditional agroforestry systems and conservation of native plant diversity of seasonally dry tropical forests. *Sustainability (Switzerland)*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/su12114600>
- Reyes-García, V., Broesch, J., Calvet-Mir, L., Fuentes-Peláez, N., McDade, T., Parsa, Soroush, T., Susan, Huanaca, T., Leonard, W. y Martínez-Rodríguez, M. (2009). Cultural transmission of ethnobotanical knowledge and skills: an empirical analysis from an Amerindian society. *Evolution and Human Behavior*, 30, 274-285.
- Rzedowski J. 1978. Vegetación de México. Limusa. México, DF.
- Richards, P. W., Tansley, A. G., & Watt, A. S. (1940). The Recording of Structure, Life Form and Flora of Tropical Forest Communities as a Basis for Their Classification. *The Journal of Ecology*, 28(1). <https://doi.org/10.2307/2256171>
- Richards, P. W., Walsh, R. P. D., Baillie, I. C., & Greg-Smith, P. (1996). The tropical rain forest: an ecological study. Second edition. In *The tropical rain forest: an ecological study. Second edition*.
- Ruiz-Mallen, I., Domínguez, P., Calvet-Mir, L., Orta-Martínez, & Reyes-García, V. (2012). Investigación aplicada en Etnoecología: experiencias de campo». *Revista de Antropología Iberoamericana*, 7 (1),9-32.
- Salas-Morales, S. H., & Williams-Linera, G. (2019). Patterns of vegetation along contrasting elevation gradients in Oaxaca and Veracruz, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 90. <https://doi.org/10.22201/IB.20078706E.2019.90.3059>
- Sang, W. (2009). Plant diversity patterns and their relationships with soil and climatic factors along an altitudinal gradient in the middle Tianshan Mountain area, Xinjiang, China. *Ecological Research*, 24(2). <https://doi.org/10.1007/s11284-008-0507-z>
- Santillán-Alarcón S., Sorani V., Bonilla R., Luna-Figueroa J., & Colín, H. (2010). Escenario Geográfico. In J. R. Bonilla-Barbosa, V. M. Mora, F. J. Luna, H. Colín, & S. Santillán-Alarcón (Eds.), *Biodiversidad, Conservación y Manejo en el Corredor Biológico Chichináutzin. Condiciones Actuales y perspectivas*. (Primera edición, pp. 21–32). Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Seaby, R. M., & Henderson, P. A. (2006). *Species Diversity and Richness* (4.1.2.). Pisces Conservation.
- Sierra, J., Beltrán, L., Blancas, J., & Maldonado, B. (2020). Manejo Forestal. In C. Gómez, K. Nájera, D. López, J. Cruz, & E. Melgarejo (Eds.), *La diversidad de Morelos. Estudio de estado 2: Vol. Tomo II* (CONABIO, pp. 37–50). CONABIO.
- Slik, J. W. F.; N. Raes, A. Shin-Ichiro, F. Q Brearley, C. H. Cannon, E. Meijaard, H. Nagamasu, R. Nilus, G. Paoli, A. D. Poulsen, D. Sheil, E. Suzuki, J. L. Valkenburg, C. O. Webb, P. Wilkie y S. Wulffraat, (2009). Environmental correlates for tropical tree diversity and distribution patterns in Borneo. *Diversity and Distributions*, 15: 523-532.
- Sorani, V., & Rodríguez, G. (2020). Diversidad de regiones ecológicas. In C. Gómez, K. Nájera, D. López, J. Cruz, & E. Melgarejo (Eds.), *La diversidad de Morelos. Estudio de estado 2: Vol. Tomo I* (CONABIO, pp. 29–36). CONABIO.
- Taboada, S. M. (1981). *Aportación al conocimiento frutícola con enfoque etnobotánico y ecológico en el Estado de Morelos*. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Taylor, S. J., & Bogdan, R. (1992). Introducción a los métodos cualitativos de investigación. In *Introducción a los métodos cualitativos de investigación*.
- Toledo, V. (2005). La memoria tradicional: la importancia agroecológica de los saberes locales. *Leisa*, 20, 16-19.

Recibido:
5/diciembre/2022

Aceptado:
23/junio/2023

- Toledo, V. y Barrera, N. (2008). La memoria biocultural. La importancia ecológica de las sabidurías tradicionales. Barcelona: Icaria editorial. Torres
- Rivera, J. A., Flores, R. C., & Cano, D. G. (2008). Cercas de uso pecuario en la cuenca del río La Antigua, México: Inventario florístico y costo de construcción. *Zootecnia Tropical*, 26(3).
- Villanueva-López, G., Martínez-Zurimendi, P., Ramírez-Avilés, L., Casanova-Lugo, F., & Jarquín-Sánchez, A. (2014). Influence of livestock systems with live fences of *Gliricidia sepium* on several soil properties in Tabasco, Mexico. *Ciencia e Investigación Agraria*, 41(2). <https://doi.org/10.4067/s0718-16202014000200004>
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3). <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.017>
- Villaseñor, J. L., Meave, J. A., Ortiz, E., & Ibarra-Manríquez, G. (2003). Biogeografía y conservación de los bosques tropicales húmedos de México. In J. J. Morrone & J. Llorente (Eds.), *Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía* (Primera edición, pp. 2009–2216). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Von Thaden, J., Salazar-Arteaga, H., Laborde, J., Estrada-Contreras, I., & Romero-Urbe, H. (2022). Arboreal elements of the agricultural matrix as structural connecting devices in fragmented landscapes – A case study in the Los Tuxtlas Biosphere Reserve. *Ecological Engineering*, 179. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2022.106633>
- Zamora Pedraza, G., Avendaño-Reyes, S., Coates, R., Gómez Díaz, J. A., Lascrain, M., García-Guzmán, G., & López-Acosta, J. C. (2022). Live Fences as Refuges of Wild and Useful Plant Diversity: Their Drivers and Structure in Five Elevation Contrast Sites of Veracruz, Mexico. *Tropical Conservation Science*, 15. <https://doi.org/10.1177/19400829221078489>

ANEXO 1

Instrumento guía de entrevista semiestructurada para determinar el manejo de cercos vivos

1.- Datos de identificación del informante:

Nombre:

Edad:

Ocupación:

Ubicación de la parcela:

Comunidad:

Municipio:

Fecha:

¿Cuántos años tienen de vivir en la comunidad?

¿De dónde es Originario? (migrante reciente-antiguo del estado o de otros sitios)

¿A qué se dedica?

2.- Prácticas productivas dentro de las cercas vivas

¿Cuál es su principal actividad productiva?

Agricultura ¿Qué cultiva?

Ganadería ¿De qué tipo?

Silvícola-Forestal

Otra

¿Qué plantas tiene en el cerco vivo?

¿Para qué las usa? ¿Qué parte usa?

¿Para uso familiar o comercialización?

¿Cuánto tarda en crecer?

¿Qué otros organismos viven en las plantas arbóreas?

3.- Prácticas del manejo de los cercos vivos

El cerco vivo como lo estableció ¿Estaca o plántula, tolerada?

¿En qué temporada? 79

¿Realiza podas? ¿Qué época y cuantas veces?

¿Realiza deshierbe? ¿de qué tipo? ¿Qué época y cuantas veces?

¿Realiza Fertilización? ¿Qué tipo? ¿Cuántas veces? ¿Cantidad? ¿Realiza Fumigación? ¿Qué tipo? ¿Cuántas veces? ¿Cantidad?

¿Realiza Riego? ¿Cuántas veces?

4.- cambio en el uso de suelo y el ambiente

¿En los últimos años ha notado un cambio en el uso del suelo?

¿Qué uso tenía anteriormente y por cual se cambió?

ANEXO 2

Listado florístico de las especies muestreadas como cercos vivos en el Corredor Biológico Chichinautzin, Morelos, México.

Familia	Especie	Tipo de Vegetación	Frecuencia	Comunidades	Origen Fitogeográfico	Usos	Perteneciente a vegetación nativa del Estado de Morelos
Anacardiaceae	<i>Spondias purpurea</i> L.	BTC- Transición- BPE	70%	C1, C4, C5, C6, C7, C8 y C9	Nativa de México	Al, Me, So y Co	SI
Annonaceae	<i>Annona cherimola</i> Mill.	Transición	20%	C6 Y C7	Nativa América Tropical	Al y Co	NO
Bignoniaceae	<i>Pithecoctenium crucigerum</i> (L.) A.H. Gentry	BTC	10%	C3	Nativa de México	So y Co	SI
Bignoniaceae	<i>Spathodea campanulata</i> P. Beauv	BTC	10%	C1	Exótica	So	NO
Bignoniaceae	<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth	Transición	10%	C7	Nativa de México	Me y Co	SI
Burseraceae	<i>Bursera schlechtendalii</i> Engl.	BTC- Transición	20%	C3 y C4	Nativa de México	So y Co	SI
Burseraceae	<i>Bursera simaruba</i> (L.) Sarg.	BTC	10%	C1	Nativa de México	So y Co	SI
Burseraceae	<i>Bursera glabrifolia</i> (Kunth) Engl.	BTC	10%	C5	Endémica de México	So y Co	SI
Casuarinaceae	<i>Casuarina equisetifolia</i> L.	BTC	20%	C3 y C5	Exótica	So y Co	NO
Convolvulaceae	<i>Ipomoea murucoides</i> Roem. & Schult.	BTC- Transición	50%	C2, C3, C4, C5 y C6	Nativa de México	Al y So	SI
Cupressaceae	<i>Cupressus lusitanica</i> Mill.	Transición- BPE	30%	C6, C9 y C10	Nativa de México	So y Co	SI
Ericaceae	<i>Arbutus xalapensis</i> Kunth	Transición-	20%	C8 y C10	Nativa de México	So y	SI

		BPE				Co	
Euphorbiaceae	<i>Manihot foetida</i> (Kunth) Pohl	BTC	10%	C2	Nativa Mesoamérica	So	NO
Euphorbiaceae	<i>Sapium macrocarpum</i> Müll. Arg.	BTC	10%	C2	Nativa de México	In	SI
Fabaceae	<i>Acacia farnesiana</i> (L.) Willd.	BTC- Transición	30%	C1, C4, Y C5	Nativa de México	Ha y So	SI
Fabaceae	<i>Erythrina americana</i> Mill.	BTC- Transición- BPE	80%	C1, C2, C3, C4, C5, C7, C8 y C9	Endémica de México	Al, Co y So	SI
Fabaceae	<i>Gliricidia sepium</i> (Jacq.) Steud.	BTC	10%	C2	Nativa de México	So	SI
Fabaceae	<i>Leucaena esculenta</i> (Moc. et Sessé ex Dc.) Benth	Transición	20%	C4 y C8	Nativa de México	Al y Co	SI
Fabaceae	<i>Pithecellobium dulce</i> (Roxb.) Benth	BTC	20%	C1 y C2	Nativa de México	Al, Me, So y Co	SI
Fagaceae	<i>Quercus rugosa</i> Née	Transición- BPE	40%	C7, C8, C9 y C10	Nativa de México	So y Co	SI
Lauraceae	<i>Persea americana</i> Mill.	Transición- BPE	30%	C6, C8 y C9	Nativa de México	Al y Co	SI
Malvaceae	<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	BTC- Transición	20%	C3 y C4	Nativa de México	Al, So y Co	SI
Malvaceae	<i>Heliocarpus terebinthinaceus</i> (DC.) Hochr.	BTC	30%	C1, C2 y C3	Nativa de México	Al. Me y Co	SI
Meliaceae	<i>Swietenia humilis</i> Zucc.	BTC	10%	C2	Nativa de México	Me	SI
Moraceae	<i>Ficus benjamina</i> L.	Transición- BPE	20%	C6 y C9	Exótica	So	NO

Moraceae	<i>Ficus carica</i> L.	BTC- Transición	20%	C1 y C6	Exótica	Al	NO
Myrtaceae	<i>Psidium guajava</i> L.	Transición	10%	C6	Nativa de México	Al, Me y Co	SI
Oleaceae	<i>Fraxinus uhdei</i> (Wenz.) Lingelsh	Transición	20%	C6 y C7	Nativa de México	So, Ha y Co	SI
Papaveraceae	<i>Bocconia arborea</i> S. Watson	BTC- Transición	40%	C4, C5 y C6	Nativa de México	Me y Co	SI
Pinaceae	<i>Pinus montezumae</i> Lamb.	Transición- BPE	40%	C7, C8, C9 y C10	Nativa de México	So y Co	SI
Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl	Transición	20%	C6 y C8	Exótica	Al, Co y Me	NO
Rosaceae	<i>Prunus persica</i> (L.) Batsch	Transición	20%	C7 y C8	Exótica	Al y Co	NO
Rosaceae	<i>Prunus serotina subsp. capuli</i> (Cav. ex Spreng.) McVaugh	Transición	20%	C5 y C8	Nativa de México	Al y Co	NO
Rutaceae	<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swingle	Transición- BPE	20%	C6 y C10	Exótica	Al, Me y Co	SI
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Transición	20%	C6 y C7	Exótica	Al y Co	NO

Nota: BTP= Bosque Tropical Caducifolio; BT=Bosque Templado. Frecuencia=Número de sitios en los que se registró la especie. El origen fitogeográfico y si pertenece a la vegetación nativa del estado de Morelos se revisó con base en la propuesta de Villaseñor (2016). Valores de uso Al: Alimentario; So: Sombra; Co: Combustible; Me: Medicina; Ha: Herramienta; In: Insecticida

**EFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO Y
ESCOTOPERIODO EN LA GERMINACIÓN
DE SEMILLAS Y CRECIMIENTO *in vitro*
DE *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler &
W.E. Higgins (ORCHIDACEAE)**

**EFFECT OF CULTURE MEDIA AND
SKOTOPERIOD ON THE GERMINATION
OF SEEDS AND GROWTH *in vitro* OF
Guarianthe skinneri (Bateman) Dressler &
W.E. Higgins (ORCHIDACEAE)**

Hernández-Ramírez, Fabiola; Leobardo Iracheta-Donjuan, Anne Asbhy Damon, Sylvia Patricia Fernández-Pavía y Karina Guillén-Navarro

EFECTO DEL MEDIO DE CULTIVO Y ESCOTOPERIODO EN LA GERMINACIÓN DE SEMILLAS Y CRECIMIENTO *in vitro* DE *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler & W.E. Higgins (ORCHIDACEAE)

EFFECT OF CULTURE MEDIA AND SKOTOPERIOD ON THE GERMINATION OF SEEDS AND GROWTH *in vitro* OF *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler & W.E. Higgins (ORCHIDACEAE)



Efecto del medio de cultivo y escotoperiodo en la germinación de semillas y crecimiento *in vitro* de *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler & W.E. Higgins (Orchidaceae)

Effect of culture media and skotoperiod on the germination of seeds and growth *in vitro* OF *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler & W.E. Higgins (Orchidaceae)

Hernández-Ramírez, Fabiola;
Leobardo Iracheta-Donjuan,
Anne Asbhy Damon,
Sylvia Patricia Fernández-Pavía
y Karina Guillén-Navarro

EFFECTO DEL MEDIO DE
CULTIVO Y
ESCOTOPERIODO EN LA
GERMINACIÓN DE
SEMILLAS Y
CRECIMIENTO *in vitro* DE
Guarianthe skinneri (Bateman)
Dressler & W.E. Higgins
(ORCHIDACEAE)

EFFECT OF CULTURE
MEDIA AND
SKOTOPERIOD ON THE
GERMINATION OF SEEDS
AND GROWTH *in vitro* OF
Guarianthe skinneri (Bateman)
Dressler & W.E. Higgins
(ORCHIDACEAE)

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 151-170. Julio 2023

DOI:

10.18387/polibotanica.56.8

F. Hernández-Ramírez / <https://orcid.org/0009-0008-6568-3515>

El Colegio de la Frontera Sur, 30700, Tapachula, Chiapas, México

Leobardo Iracheta-Donjuan / <https://orcid.org/0000-0003-2908-4183>

Campo Experimental Rosario Izapa del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CERI-INIFAP), 30870, Tuxtla Chico, Chiapas, México

Anne Asbhy Damon / adamon@ecosur.mx

<https://orcid.org/0000-0002-3008-9435>

El Colegio de la Frontera Sur, 30700, Tapachula, Chiapas, México

Sylvia Patricia Fernández-Pavía / <https://orcid.org/0000-0003-0460-5528>

*Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales,
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo,
58880, Tarímbaro, Michoacán, México*

Karina Guillén-Navarro / <https://orcid.org/0000-0001-5199-1156>

El Colegio de la Frontera Sur, 30700, Tapachula, Chiapas, México

RESUMEN: *Guarianthe skinneri* está sujeta a protección debido a la disminución de sus poblaciones silvestres, y la germinación asimbiótica *in vitro* de semillas es una alternativa viable para la conservación y restauración de poblaciones. Este proceso de laboratorio también facilita el estudio detallado de las fases de germinación, ahora, en el caso de las orquídeas, repartido en dos etapas, la pregerminación y la germinación, como contribución al diseño de una estrategia para la restauración de poblaciones de esta orquídea. Con este fin, se evaluó el efecto de cuatro medios de cultivo (Yasuda 10% + 0.112 mg L⁻¹ 6-bencilaminopurina (BAP), Yasuda 100% + 1.125 mg L⁻¹ BAP, Dalla Rosa & Laneri modificado, Murashige & Skoog) y dos condiciones de escotoperiodo (12 y 24 h) sobre las diferentes fases de la pregerminación y germinación de semillas. Los medios Yasuda y Dalla Rosa promovieron el desarrollo y terminación de las fases de germinación, mientras que en el medio MS los porcentajes fueron bajos en el desarrollo de las Fases 4 y 5, ocasionados por los altos porcentajes de oxidación en Fases 2 y 3. Las condiciones de escotoperiodo no afectaron el proceso de germinación de las semillas.

Palabras clave: “La Candelaria”, protocormos, pregerminación, oxidación, agua de coco, 6-bencilaminopurina.

ABSTRACT: *Guarianthe skinneri* is subject to protection due to the loss of natural, wild populations, and the *in vitro* symbiotic germination of seeds is a viable alternative for the conservation and restoration of such populations. This laboratory process also facilitates the detailed study of the phases of germination, that, in the case of orchids, we now divide into two stages, pre-germination and germination, as a contribution towards the design of a strategy for the restoration of populations of this orchid. To that end, we evaluated the effect of four culture media, (Yasuda 10% + 0.112 mg/L 6-benzylaminopurine (BAP), Yasuda

100% + 1.125 mg/L BAP, modified Dalla Rosa & Laneri, Murashige & Skoog) and two skotoperiods (12 and 24 h), observing the phases of pre-germination and germination of the seeds in all treatments. The treatments with the culture media Dalla Rosa and Yasuda promoted the development and completion of the germination phases. The MS medium gave low percentages of development for phases 4 and 5, due to high percentages of oxidation in phases 2 and 3. The two skotoperiods did not affect the germination process.

Key words: “La Candelaria”, protocorms, pre-germination, oxidation, coconut water, 6-benzylaminopurine.

INTRODUCCIÓN

Guarianthe skinneri (Bateman) Dressler & Higgins (antes *Cattleya skinneri* Bateman), llamada “La Candelaria” es una orquídea epífita silvestre, distribuida desde el sureste de México hasta Panamá (Cabrera, 2006). Actualmente se encuentra amenazada por la destrucción de su hábitat natural, y por la alta demanda en temporada de floración debido a la belleza de sus flores, que van de lilas a moradas; plantas completas son arrancadas de sus forófitos en remanentes de bosques, selvas y agroecosistemas de café (Damon, 2013; Solano-Gómez *et al.*, 2016). Para su protección, en México está enlistada en la categoría de amenazada en la NOM-ECOL-059-SEMARNAT-2010, e internacionalmente se encuentra en la categoría II del CITES (Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestre).

Una de las estrategias de conservación, es el cultivo sostenible, el cual solo se permite con los permisos correspondientes (Damon, 2017). Las orquídeas se pueden reproducir por propagación asexual con la división de plantas, no obstante, este proceso es lento, demanda conocimiento de buenas prácticas de manejo para evitar enfermedades y, al ser plantas clonales, la diversidad genética es baja, lo cual representa una desventaja cuando se trata de rescatar y conservar la máxima variabilidad genética. Por el contrario, con la propagación sexual, a través de semillas, la variabilidad genética es mayor, y contribuye al mantenimiento de las poblaciones, y las plantas desarrolladas tienen mayor probabilidad de estar libres de enfermedades. Las semillas de las orquídeas son muy pequeñas (0.006 a 0.2 mm de longitud, de acuerdo con la especie), no tienen endospermo y carecen de reservas, o solo tienen un mínimo de lípidos para germinar (Arditti & Ghani, 2000; Koene *et al.*, 2020; Yeung, 2017). Para la germinación de las semillas y otras funciones fisiológicas, las plantas de la familia Orchidaceae requieren de la asociación con hongos endófitos formadores de micorrizas o HEFM (López-Chávez *et al.*, 2016; Rasmussen *et al.*, 2015). Las orquídeas se caracterizan por la formación del protocormo, estructura embrionaria con incremento de volumen por división celular y diferenciación del meristemo apical, con expresión génica distinta a la del embrión inicial, que consiste en una masa de células aun no diferenciadas, y diseñadas para establecer la asociación con los HEFM (Fang *et al.*, 2016). A partir de estudios *in situ*, se estima que, aun suponiendo la disponibilidad de los HEFM en el medio natural, solo el 1 % de semillas germinan, lo que implica bajas tasas de reclutamiento de nuevos individuos para el mantenimiento de las poblaciones naturales (Cruz-Higareda *et al.*, 2015; Emeterio-Lara *et al.*, 2018). Por ello, resulta útil enfocar esfuerzos para optimizar el aprovechamiento de las semillas producidas por las poblaciones naturales.

Desde hace varias décadas se ha implementado la germinación asimbiótica (sin la asociación de un HEFM) de semillas de orquídeas en laboratorio (*in vitro*), basándose en el uso de diferentes medios de cultivo adicionados con sacarosa para sustituir los recursos alimenticios provistos por los hongos (Arditti & Ghani, 2000). Se ha reportado el uso de medios como Murashige & Skoog (1962) (Coello *et al.*, 2010) y otros medios de cultivo utilizados para la germinación de semillas de orquídeas como el medio Dalla Rosa & Laneri (1977), Yasuda *et al.* (1985) y Knudson (1946), los cuales han tenido respuestas favorables (Damon *et al.*, 2014; Torres-González *et al.*, 2011) y no han sido reportados para la germinación de semillas de *G. skinneri*. Los medios de cultivo pueden ser adicionados con reguladores de crecimiento, por ejemplo, con 6-bencilaminopurina (BAP), conocida por promover la

diferenciación celular y proliferación de protocormos (David *et al.*, 2008) o la adición de componentes orgánicos como el agua de coco (*Cocos nucifera* L.) que facilita la germinación por el contenido de varias hormonas como auxinas y citoquininas (Utami & Hariyanto, 2020). Una de las respuestas observadas en el cultivo *in vitro* es la oxidación u oscurecimiento de las células vegetales causado por diversos factores, como la composición del medio de cultivo o condiciones ambientales, entre otros. Los periodos de escotoperiodo (Vogel & Macedo, 2011) y la reducción de las concentraciones de los medios de cultivo (Cassells & Curry, 2001) son medidas propuestas para evitar la oxidación en el cultivo de tejidos vegetales *in vitro*.

Una de las ventajas de la germinación *in vitro* es que se pueden observar detalladamente las fases de germinación y la proporción de individuos en cada una de ellas, y de allí poder precisar tratamientos para optimizar el proceso. Se ha documentado, bajo condiciones de laboratorio, que los embriones pasan por diferentes fases, y de acuerdo al criterio aplicado puede ir desde la fase 0 hasta la 5, 6 o 7. Las fases contemplan desde semillas sin embrión (0), el hinchamiento o imbibición del embrión (1), ruptura de testa (cubierta delgada que protege al embrión) (1-2), incremento de tamaño del embrión (3), diferenciación de protocormos (3-4), desarrollo de ápices foliares y raicillas (5) y el desarrollo de hojas y raíces (6-7) (Damon *et al.*, 2014; Johnson & Kane, 2007; Maldonado *et al.*, 2020; Salazar-Mercado, 2012; Stewart & Kane, 2006; Vasudevan & Van Staden, 2010; Vogel & Macedo, 2011). Además, se ha observado variación en el tiempo de inicio de la germinación de las semillas, conocido como asincronía (Koene *et al.*, 2020). Las fases de desarrollo y el grado de asincronía no han sido reportados aún en la germinación asimbiótica *in vitro* de *G. skinneri*.

Por lo antes mencionado, el objetivo de este estudio fue identificar el efecto de cuatro medios de cultivo, en combinación con dos condiciones de escotoperiodo, sobre las fases de germinación asimbiótica de *G. skinneri*, en condiciones de *in vitro*, para la producción de plántulas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material biológico y desinfección de la cápsula

En abril del 2020, se colectaron cápsulas de semillas maduras, antes de la dehiscencia (aproximadamente 12 meses de desarrollo) de *G. skinneri* (5 cm de longitud x 1.5 cm de diámetro), disponibles en el Jardín Etnobiológico de las Selvas del Soconusco (JESS), de El Colegio de la Frontera Sur, ubicado en el municipio de Tuzantán, Chiapas (Coordenadas: 15°07'02.3" N, 92°24'48.7" W y altitud de 80 m). Se encontraron dos cápsulas que se trasladaron en una bolsa etiquetada hacia el Laboratorio de Biotecnología del Campo Experimental Rosario Izapa del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CERI-INIFAP), en Tuxtla Chico, Chiapas. De estas dos capsulas solo una tenía la calidad adecuada y se trabajó con una cápsula.

La cápsula se desinfectó usando la metodología de (Torres-González *et al.*, 2011), con las siguientes modificaciones: la superficie de la cápsula se limpió por un minuto con algodón humedecido con detergente líquido comercial y se enjuagó con abundante agua del grifo. Dentro de la campana de flujo laminar, la cápsula se colocó en una caja de Petri de vidrio esterilizada (de 90 x 15 mm) y se asperjó con alcohol etílico 96 % y se flameó por 30 s.

Siembra de semillas en medios de cultivo y escotoperiodo

Una vez que la cápsula estuvo a temperatura ambiente, se realizó un corte longitudinal (Fig. 1A); con una pinza se extrajeron las semillas y se depositaron en 50 mL de agua destilada esterilizada, después se agitó constantemente para formar una solución homogénea. Con una micropipeta, se tomaron 500 μ L de la solución (aproximadamente 3,171 semillas), cantidad que se depositó en la superficie de cuatro medios de cultivo semisólidos (Fig. 1B). Al finalizar la siembra, las cajas Petri selladas y etiquetadas se incubaron a 26 ± 1 °C, en dos condiciones de escotoperiodo, de 12 h o 24 h. Para la

primera condición de escotoperiodo, la fase luminosa se suministró con lámparas LED de color blanco frío (Smartlight, con $43 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Los cuatro medios semisólidos utilizados para la siembra de las semillas correspondieron a los siguientes: Medio Y10, con macro y micronutrientes de Yasuda *et al.* (1985) al 10%, adicionado con 0.112 mg L^{-1} 6-bencilaminopurina (BAP; Sigma-Aldrich[®]); medio Y100, constituido por las sales de Yasuda *et al.* (1985) al 100%, con 1.125 mg L^{-1} BAP, ambos medios con 30 g L^{-1} de sacarosa, 5.2 g L^{-1} de Phytigel (Sigma-Aldrich[®]) y pH de 6.3 de acuerdo con Torres *et al.* (2011). Medio DR (Dalla Rosa & Laneri, 1977), adicionado con 150 mL L^{-1} de agua de coco (A de coco^R), 20 g L^{-1} de sacarosa y 8 g L^{-1} de agar (Bacto Agar BD) y pH 5.5. Medio MS (Murashige & Skoog, 1962) con 30 g L^{-1} de sacarosa, 5.2 g L^{-1} de Phytigel y pH de 5.8. Todos los medios fueron esterilizados a 120 °C y 1.1 kg cm^{-2} de presión por 20 min y después se vertieron 10 mL en cajas Petri esterilizadas de 60 x 15 mm.



Fig. 1. A) Corte longitudinal de cápsula de semillas de *Guarianthe skinneri*, B) Siembra de semillas en medio de cultivo y C) Plántulas de *G. skinneri* en proceso de aclimatación.

Prueba de viabilidad

De la solución utilizada en la siembra, se depositaron $500 \mu\text{L}$ en un criotubo de $2000 \mu\text{L}$, dejando que las semillas se precipitaran. Con una micropipeta se retiró el agua del criotubo, enseguida se agregaron 1.5 mL de una solución de 1 g L^{-1} de tetrazolio (2,3,5-cloruro trifenil tetrazolio; Sigma-Aldrich[®]); la muestra se preservó en oscuridad por 24 h en $26 \pm 1 \text{ °C}$. Posteriormente la viabilidad se evaluó, para lo cual, se realizó la observación y conteo de las semillas en tetrazolio por campo de visión en un microscopio estereoscopio Zeiss ($1.0 \times \text{FWD}$ 81 mm). Las semillas se consideraron viables cuando se observó el embrión teñido en rojo; semillas con el embrión de color blanco se consideraron no viables, y semillas vanas o vacías eran las que no tenían embrión. El porcentaje de viabilidad se obtuvo al multiplicar el número de semillas viables (embriones teñidos) por 100, dividido entre el total de semillas en la muestra. El conteo se realizó 10 veces en zonas diferentes de cada una de las cuatro placas y se obtuvo un promedio.

Diseño del experimento

Para la evaluación de la germinación de las semillas se estableció un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial 4×2 (AxB), del cual se obtuvieron ocho tratamientos, resultado de la combinación de cuatro medios de cultivo (Factor A) y dos condiciones de escotoperiodo (Factor B). Para las evaluaciones, se tomaron muestras de cada tratamiento, correspondiente a 1 cm^2 de medio de cultivo con 155 semillas aproximadamente, y con cuatro repeticiones.

Variables

La evaluación de la pregerminación (Fases 2 y 3) y germinación (Fases 4 y 5) se realizó de acuerdo con las fases descritas por Damon *et al.*, (2014), modificado de esta forma: Fase 1 = semilla con embrión. Para la etapa de pregerminación, se incluye la Fase 2 = hinchamiento o imbibición de embrión y Fase 3 = ruptura de testa y formación de protocormo. La etapa de germinación comprende la Fase 4 = protocormo con ápice (diferenciación) y la Fase 5 = protocormo con emergencia de rizoides o primordio foliar (Fig. 2). Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de cada fase al multiplicar el número de embriones y protocormos en la fase correspondiente por 100, y el resultado obtenido dividido entre el total de semillas.

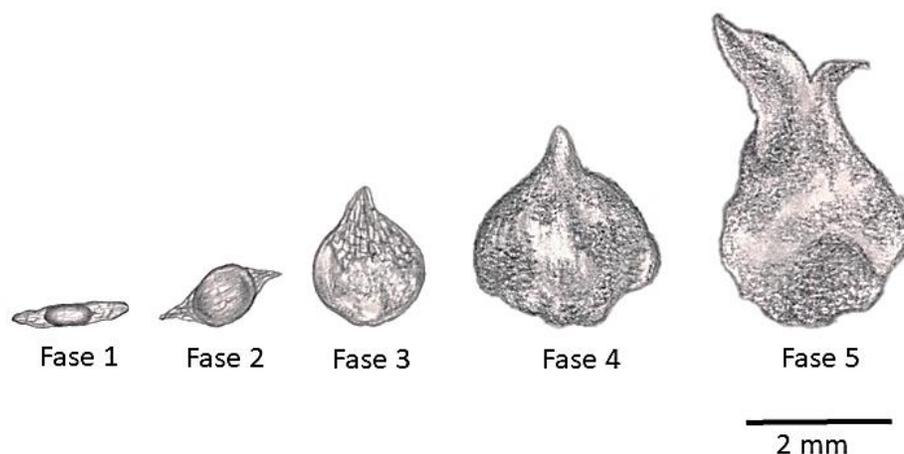


Fig 2. Fases de germinación de semillas de *Guarianthe skinneri*. Fase 1 = semilla con embrión, Pregerminación: Fase 2 = hinchamiento o imbibición de embrión, Fase 3 = ruptura de testa y formación de protocormo, Germinación: Fase 4 = protocormo con ápice (diferenciación) y Fase 5 = protocormo con emergencia de rizoides o primordio foliar.

Se capturaron imágenes de los embriones y protocormos usando un microscopio estereoscópico y una escala, y posteriormente se realizaron las mediciones de longitud y ancho en milímetros con el programa de procesamiento de imagen digital ImageJ®.

Para evaluar el porcentaje de oxidación se consideraron dos variantes: para el caso de las muestras expuestas a escotoperiodo de 12 h, se consideró explante oxidado al cambio de coloración en los embriones y/o protocormos verdes (clorofilicos) a café en la totalidad del tejido, sin respuesta morfogénica, y para el caso del escotoperiodo de 24 h, correspondió al cambio de coloración de blanco (aclorofilicos) a café, sin respuesta morfogénica. El porcentaje de oxidación se obtuvo al multiplicar el número de embriones y /o protocormos oxidados en cada área de muestreo por 100, y el resultado dividido entre el total de semillas por área de muestreo.

Las evaluaciones se realizaron cada siete días por 14 semanas.

Obtención de plantas aclimatadas

Se realizó la aclimatación de plántulas, de acuerdo con la metodología de Ortiz *et al.*, (2013). Una vez que las plántulas alcanzaron 1.5 a 2 cm de altura, con cinco a seis hojas expandidas y al menos una raíz desarrollada (Fig.1C), fueron trasplantadas en recipientes de unisel (19.5 cm de largo x 17.18 cm de ancho y 7 cm de altura) que contenían una mezcla de fibra de coco, agrolita y turba de *Sphagnum* (proporción 1:1:1) previamente esterilizado a 120 °C y 1.1 kg cm⁻² por 40 min (humedecido con 100 mL de agua destilada). Para recrear una cámara de humedad, los recipientes se colocaron en el interior

de charolas de germinación sobre una base de fibra de coco humedecida con 350 mL de agua. Para evitar la deshidratación durante la aclimatación temprana, se cubrieron con un domo (vinil transparente, 54 cm de largo x 28 cm de ancho y 11 cm de altura). Finalizado el trasplante, en la base de las plántulas se aplicaron 10 mL de MS al 25 % de concentración de sales.

Las charolas de germinación se trasladaron a un invernadero con malla sombra de color negro al 70 % de luz, cubierto con plástico blanco para evitar la precipitación pluvial. Las condiciones ambientales fueron registradas con un medidor ambiental (Enviro-meter®), a mediodía, una vez a la semana por 12 semanas. Se realizaron riegos con agua destilada sobre la base del sustrato de fibra de coco para alcanzar una humedad relativa (HR) del 90 %. En la semana dos después del trasplante, en los domos se realizaron ocho perforaciones (1 cm de diámetro), en la semana tres, los domos fueron levantadas parcialmente a una altura de 12 cm, y una semana después los domos fueron retirados. Durante las siguientes dos semanas se aplicaron riegos de agua por aspersion, hasta llevar a capacidad de campo.

Análisis de datos

Los análisis estadísticos fueron realizados en R versión 4.1.2. Los datos de las fases de desarrollo y la oxidación se compararon en un análisis de varianza (ANOVA); cuando hubo diferencias significativas se realizó la comparación de medias con la prueba de Tukey ($p < 0.05$). Se aplicó una prueba de correlación de Spearman para poder comparar el efecto de los diferentes medios de cultivo y los patrones temporales observados en relación con los promedios de la longitud y el ancho de los embriones y protocormos.

RESULTADOS

Viabilidad y pregerminación de semillas de *Guarianthe skinneri*

La prueba de tetrazolio mostró que, en promedio, el porcentaje de semillas viables fue del 80.3%, el 6.8% de las semillas fueron no viables y el 12.9% fueron semillas vanas (Fig. 3).

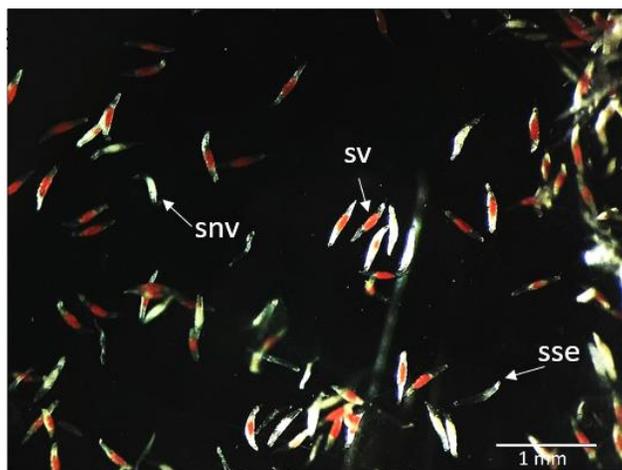


Fig 3. Semillas maduras de *Guarianthe skinneri* sometidas a la prueba de viabilidad con tetrazolio. sv= semilla viable, snv= semilla no viable, sse= semilla sin embrión o vana. Barra: 1 mm.

En los ocho tratamientos, la pregerminación se observó a partir de la tercera semana después de la siembra (sds), con el inicio de la Fase 2 (imbibición) de los embriones de *G. skinneri*. No obstante, el mayor porcentaje de respuesta para esta fase se obtuvo a partir de las seis semanas. Los tratamientos

con el mayor porcentaje de imbibición en esta fase fueron el Y10/24h, DR/12h y DR/24h con más del 80 % (Cuadro 1). Conforme los embriones de la Fase 2 continuaron su desarrollo, los porcentajes de imbibición disminuyeron gradualmente en las siguientes semanas. El inicio de la Fase 3 (ruptura de testa) se observó a las 5 sds, pero a partir de las 9 sds los porcentajes más altos (>50 %) se registraron en los tratamientos Y100/12h y Y10/12h, mientras que los tratamientos Y10/24h y DR/24h, expresaron el máximo porcentaje (>60 %) hasta las 12 sds y los porcentajes más bajos se obtuvieron en MS/12h y MS/24h (Cuadro 1).

El inicio de la Fase 4 (protocormos con ápice) se observó a las 8 sds y los porcentajes más altos fueron observados hasta las 14 sds en Y10/12h (44 %), mientras que los tratamientos MS/12h y MS/24h tuvieron los porcentajes más bajos, con menos del 8 %. Por su parte, el inicio de la Fase 5 (protocormos con primordios foliares y rizoides) ocurrió a partir de las 10 sds en Y10/24h y Y10/12h (7 a 10%); los tratamientos con menor porcentaje de desarrollo de embriones fueron MS/12h y MS/24h, con nulo o 1% (Cuadro 1).

El promedio general de la máxima expresión de desarrollo, en cada una de las fases, fue disminuyendo, por lo que en la Fase 2 se consigna el promedio más alto, el cual disminuyó gradualmente en las siguientes fases (Cuadro 1). Esto demuestra que no todos los embriones que alcanzan una etapa específica pasan al mismo tiempo a la etapa que precede.

Las cinco fases de desarrollo de embriones y protocormos fueron observadas a partir de las 10 sds en Y10/12h y a las 13 sds en el resto de los tratamientos. Por lo que, a las 14 sds se pudieron observar todas las fases de desarrollo en todos los tratamientos (Fig. 4), esto evidencia la asincronía en el proceso de pregerminación y germinación de semillas de *G. skinneri*. No obstante, aun cuando la máxima expresión de cada una de las fases de desarrollo se presenta en diferentes periodos de tiempo, a los 14 sds se observó que, en la mayoría de los tratamientos, la Fase 3 se presenta en mayor porcentaje, a excepción de los tratamientos Y10/12h con mayor proporción de la Fase 4 y ambos medios MS, con mayor porcentaje de la Fase 2 (Fig. 4). Lo anterior indica que el tratamiento Y10/12h induce con mayor celeridad el desarrollo de los embriones hacia fases más complejas. Mientras que ambos tratamientos con sales de MS propician una menor diferenciación en los embriones, lo que retrasa la expresión de fases de desarrollo más complejas.

Cuadro 1. Tiempo y porcentaje de respuesta máxima y mínima en cada fase de desarrollo de semillas de *Guarjanthe skinneri* cultivadas *in vitro* en diferentes condiciones de medio de cultivo y escotoperiodo, evaluados durante 14 semanas después de la siembra.

Tratamiento	Fase de desarrollo												
	Pregerminación									Germinación			
	Fase 1		Fase 2			Fase 3			Fase 4			Fase 5	
	Semilla		Imbibición			Ruptura de testa			Protocormo ápice			PPF [†] y rizoides	
Duración sds ^{††}	Mínima respuesta sds (%)	Inicio sds	Máxima respuesta sds (%)	Mínima respuesta sds (%)	Inicio (sds)	Máxima respuesta sds (%)	Mínima respuesta sds (%)	Inicio (sds)	Máxima respuesta sds (%)	Respuesta sds (%) ^{†††}	Inicio (sds)	Respuesta sds (%) ^{†††}	
Y10-12 h	2	7 (7)	3	7 (64)	10 (13)	5	10 (55)	12 (13)	8	12 (46)	14 (44)	10	14 (7)
Y10-24 h	2	8 (3)	3	6 (86)	12 (12)	5	12 (65)	14 (49)	8	14 (16)	14 (16)	10	14 (10)
Y100-12 h	2	8 (11)	3	7 (65)	12 (17)	5	9 (56)	14 (46)	8	14 (12)	14 (12)	10	14 (0)
Y100-24 h	2	6 (15)	3	6 (66)	14 (9)	5	14 (32)	14 (32)	8	14 (29)	14 (29)	10	14 (4)
DR-12 h	2	5 (8)	3	6 (84)	12 (14)	5	12 (47)	13 (43)	8	13 (28)	14 (28)	10	14 (1)
DR-24 h	2	7 (7)	3	6 (81)	13 (5)	5	12 (62)	13 (47)	8	14 (28)	14 (28)	10	14 (3)
MS-12 h	2	7 (32)	3	9 (45)	11 (37)	5	12 (10)	10 (8)	8	10 (08)	14 (08)	10	14 (1)
MS-24 h	2	7 (30)	3	6 (61)	11 (63)	5	12 (11)	10 (10)	8	10 (01)	14 (01)	10	14 (0)
Promedio		(14)		(69)	(21)		(42)	(31)		(21)	(21)		(3)

† PPF=Protocormos con primordios foliares. ††sds=semanas después de la siembra. ††† No categorizada como mínima al ser la respuesta registrada en la semana 14.

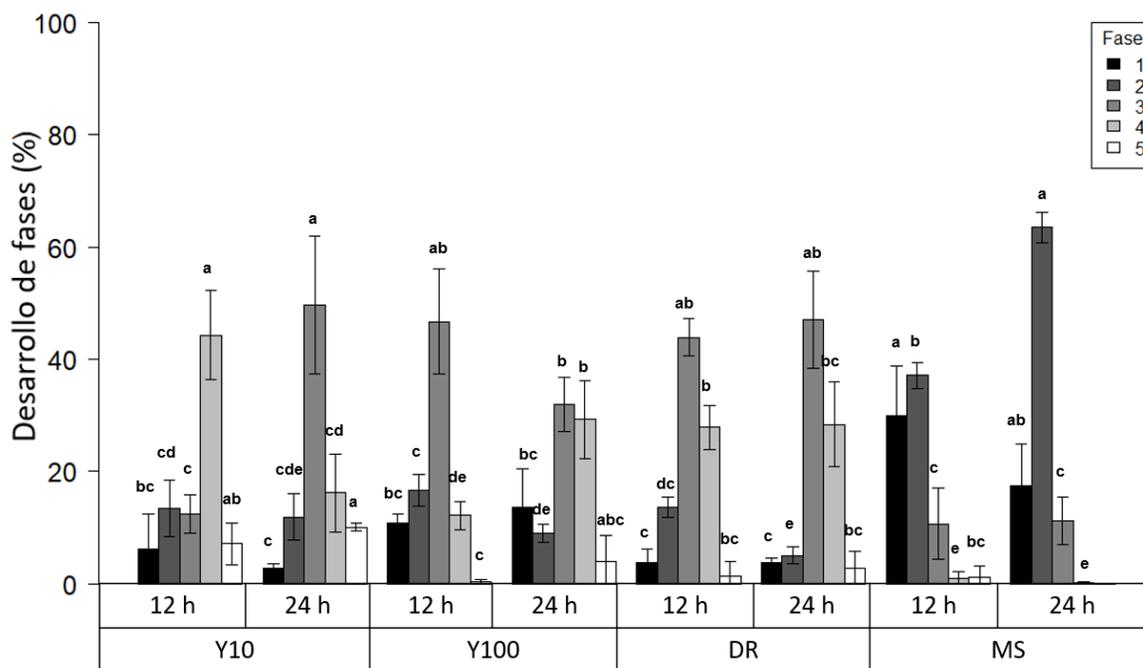


Fig. 4. Efecto de los tratamientos en el desarrollo de las fases de germinación de semillas de *Guarjanthe skinneri*. Porcentaje promedio a las 14 semanas después de la siembra (sds). Los tratamientos con letras iguales no son estadísticamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Barra indica desviación estándar.

Oxidación de embriones en las fases de desarrollo

La oxidación de los embriones se observó a partir de las 7 sds, dos semanas después de la máxima expresión de desarrollo de la Fase 2 (imbibición). A las 14 sds, el acumulado de los porcentajes de oxidación sobresalen en las Fases 2 y 3 (Fig. 5). De acuerdo con el análisis estadístico, hubo un efecto significativo del medio ($p \leq 0.05$), donde los medios MS y Y100 presentaron los porcentajes de oxidación más altos en la Fase 2, lo que implicó que la cantidad de semillas que pasaron a la Fase 3 disminuyó al no continuar con la sucesión de embriones, ya que fueron afectados por la oxidación.

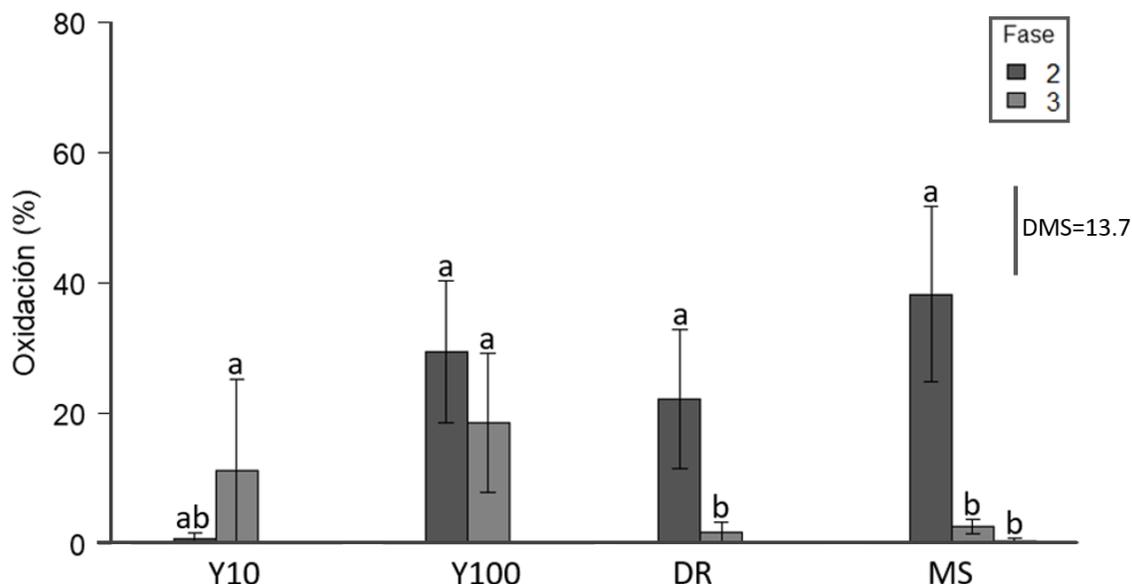


Fig. 5. Efecto de los medios de cultivo en la oxidación de los embriones en las fases 2 y 3 de pregerminación de *Guarjanthe skinneri*. Porcentaje promedio a las 14 sds. Los medios con letras iguales no son estadísticamente diferentes, de acuerdo con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$).

El factor escotoperiodo no indujo diferencias significativas para la variable oxidación de los embriones, en las diferentes fases de desarrollo evaluadas, por lo que la oxidación se presentó tanto en los embriones sin luz como en los que permanecieron en oscuridad (Fig.6).

Efecto del escotoperiodo sobre las fases de desarrollo

Se observaron diferencias significativas entre ambas condiciones de escotoperiodo en la Fase 3 de desarrollo de los embriones (Tukey $P \leq 0.05$); en dicho caso, la condición de 24 h de escotoperiodo propició mayor porcentaje de desarrollo de embriones (35%) que la condición de 12 h (28%). Sin embargo, en el resto de las fases no se presentaron diferencias significativas entre ambas condiciones de luz.

Los embriones expuestos a escotoperiodo de 12 h (Y10/12h, Y100/12h, DR/12h y MS/12h) adquirieron un cambio en su coloración de blanco a verde hialino (transparente), a partir de la tercera semana. El tratamiento Y10/12h generó un color verde tenue en los embriones, en comparación con Y100/12h y DR/12h donde se observó promovieron un color verde más intenso. Los embriones de los tratamientos con escotoperiodo de 24 h (Y10/24h, Y100/24h, DR/24h y MS/24h) mantuvieron un color blanquecino que no fue impedimento para continuar el proceso de germinación, aunque en la Fase 5 se observó etiolación de los primordios foliares (Fig. 6).

Efecto del medio de cultivo y escotoperiodo en el tamaño del embrión o protocormo

De acuerdo con el promedio general de la longitud y ancho de los embriones, en cada una de las fases, estas medidas fueron aumentando; por lo que en la Fase 1, los embriones elípticos presentaron una longitud de 0.24 mm (± 0.02) y ancho de 0.1 mm (± 0.02), y a partir del contacto con el medio de cultivo los embriones incrementaron el tamaño (Cuadro 2). La correlación indicó que la Fase 2 y longitud del embrión estuvieron ligeramente correlacionadas. La Fase 2, se caracterizó por el incremento del ancho de los embriones hasta expandir la testa en forma de red sin romperla, con una forma ligeramente esférica; en este caso los tratamientos Y100/12h y Y100/24h promovieron los

embriones con mayor tamaño entre las 6 y 9 sds con un el máximo entre 0.25 a 0.30 mm x 0.18 a 25 mm, de longitud y ancho respectivamente. A medida que el embrión continuó aumentando de tamaño, ocasionó la ruptura de la testa (Fase 3) y en este momento el embrión fue llamado protocormo; para esta fase entre las 9 y 14 sds, Y10/12h promovió el mayor tamaño con medidas que oscilaban entre 0.26 a 0.56 x 0.21 a 0.52 mm de longitud y ancho, respectivamente (Fig.6). Entre las 10 y 14 sds, en uno de los polos longitudinales inició la formación del meristemo (Fase 4), donde el Y10/12h indujo el mayor tamaño de protocormos en esta fase, con medidas entre 0.46 a 0.79 mm x 0.45 a 1.03 mm. Conforme continua el crecimiento del protocormo (Fase 5), se desarrolla el primordio foliar, en esta fase las medidas observadas hasta la 14 sds oscilaron entre 2.2 a 2.84 mm x 0.7 a 1.35 mm de longitud y ancho, respectivamente.

Cuadro 2. Valores promedio de tamaño (longitud y ancho en milímetros) de los embriones o protocormos de *Guarianthe skinneri* en cada fase de desarrollo, observados durante la semana de mayor respuesta, por 14 semanas de evaluación.

Tratamiento	Fase de desarrollo									
	Pregerminación						Germinación			
	Fase 1		Fase 2		Fase 3		Fase 4		Fase 5	
	Semilla	Imbibición		Ruptura de testa		Protocormo ápice		PPF [†] y rizoides		
sds ^{††}	Tamaño longitud x ancho (± DE)	Máxima respuesta sds	Tamaño longitud x ancho (± DE)	Máxima respuesta sds	Tamaño longitud x ancho (± DE)	Máxima respuesta sds	Tamaño longitud x ancho (± DE)	Respuesta sds	Tamaño longitud x ancho (± DE)	
Y10-12 h	0	0.24 (± 0.02) x 0.1 (± 0.02)	7	0.26 (± 0.02) x 0.19 (± 0.02)	10	0.56 (± 0.03) x 0.52 (± 0.03)	12	0.79 (± 0.21) x 1.03 (± 0.18)	ND	2.84 (± 0.6) x 1.35 (± 0.33)
Y10-24 h	0	0.24 (± 0.02) x 0.1 (± 0.02)	8	0.25 (± 0.02) x 0.19 (± 0.02)	12	0.27 (± 0.05) x 0.21 (± 0.02)	14	0.58 (± 0.01) x 0.90 (± 0.40)	ND	2.76 (± 1.1) x 1.17 (± 0.16)
Y100-12 h	0	0.24 (± 0.02) x 0.1 (± 0.02)	7	0.30 (± 0.04) x 0.21 (± 0.01)	9	0.32 (± 0.02) x 0.29 (± 0.01)	14	0.46 (± 0.1) x 0.45 (± 0.05)	ND	2.3 (± 0.5) x 0.9 (± 0.22)
Y100-24 h	0	0.24 (± 0.02) x 0.1 (± 0.02)	6	0.29 (± 0.01) x 0.22 (± 0.01)	14	0.35 (± 0.03) x 0.29 (± 0.04)	14	0.46 (± 0.05) x 0.48 (± 0.05)	ND	2.6 (± 0.3) x 0.9 (± 0.47)
DR-12 h	0	0.24 (± 0.02) x 0.1 (± 0.02)	6	0.28 (± 0.04) x 0.25 (± 0.03)	12	0.41 (± 0.03) x 0.39 (± 0.02)	13	0.54 (± 0.05) x 0.59 (± 0.08)	ND	2.5 (± 0.5) x 0.9 (± 0.1)
DR-24 h	0	0.24 (± 0.02) x 0.1 (± 0.02)	6	0.26 (± 0.03) x 0.18 (± 0.03)	12	0.45 (± 0.04) x 0.43 (± 0.03)	14	0.65 (± 0.07) x 0.67 (± 0.20)	ND	2.4 (± 0.4) x 0.85 (± 0.2)
MS-12 h	0	0.24 (± 0.02) x 0.1 (± 0.02)	9	0.29 (± 0.03) x 0.19 (± 0.02)	11	0.31 (± 0.03) x 0.30 (± 0.03)	10	0.54 (± 0.1) x 0.47 (± 0.03)	ND	2.2 (± 0.4) x 0.7 (± 0.2)
MS-24 h	0	0.24 (± 0.02) x 0.1 (± 0.02)	6	0.28 (± 0.01) x 0.19 (± 0.02)	11	0.36 (± 0.01) x 0.32 (± 0.03)	10	0.56 (± 0.1) x 0.49 (± 0.03)	ND	ND

†PPF=Protocormos con primordios foliares. ††sds=Semanas después de la siembra. ND= No determinado.

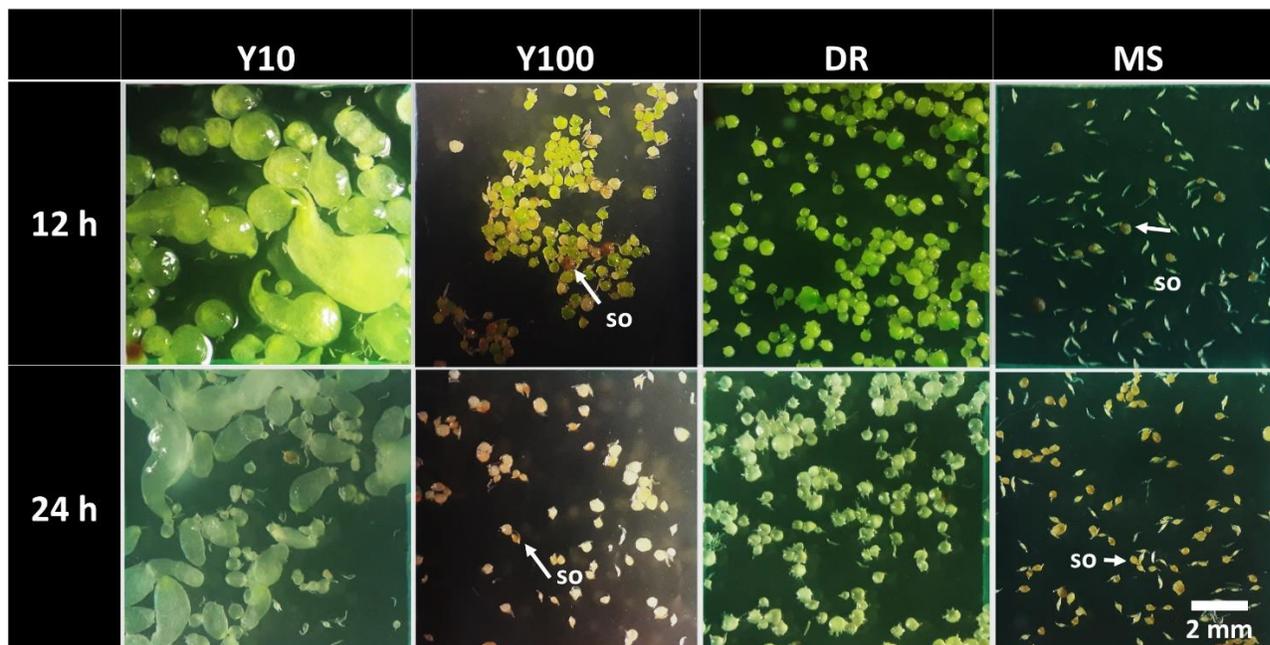


Fig. 6. Fases de desarrollo de *Guarianthe skinneri* observadas a las 14 sds en respuesta a los medios de cultivo en combinación con el escotoperiodo. SO = semillas oxidadas. Micrografías con 4X de aumento. Cada micrografía corresponde al área de evaluación de 1 cm².

Aclimatación de plántulas

El porcentaje de sobrevivencia en la aclimatación de plántulas de *G. skinneri* en promedio fue 80% a los 85 días a partir del trasplante. A los 60 días después del trasplante se obtuvo 20% de mortandad, causado por la herbivoría ocasionada por moluscos y larvas de un insecto no identificado.

Las plántulas generaron un promedio de dos hojas y cuatro raíces durante el periodo de aclimatización. Se observó engrosamiento en las hojas nuevas, y las raíces incrementaron su longitud de 2 a 3 cm.

DISCUSIÓN

Este estudio proporciona información de las fases de germinación asimbiótica *in vitro*, en las etapas de pregerminación y germinación de semillas de *Guarianthe skinneri*, en función de su respuesta a cuatro medios de cultivo, Yasuda al 10% y 100%, Dalla Rosa y MS, y dos condiciones de escotoperiodo (12 y 24 h).

El 80.3% de viabilidad de las semillas fue confirmado por los tratamientos con los mayores porcentajes de hinchamiento e imbibición de la Fase 2, Y10/24h, DR/12h y DR/24h (86, 84 y 81%, respectivamente). Por lo que se consideró que este proceso pregerminativo es una excelente aproximación de la viabilidad observada con el tetrazolio, toda vez que durante la imbibición los embriones absorben agua, lo que provoca que las células se expandan e inicien las primeras señalizaciones de los procesos de respiración celular y metabolismo energético (Valadares *et al.*, 2014). No obstante, factores como el medio de cultivo, escotoperiodo y diversidad genética de las semillas podrían contribuir a la variabilidad en la germinación posterior y en algunos casos a un aumento o disminución de esta. Al respecto Hosomi *et al.* (2011) y Salazar & Osorio, (2022), consignan que en *Cattleya* spp., es posible observar niveles de germinación inferiores al porcentaje de viabilidad indicado por tetrazolio, por causas

desconocidas, por lo que la aplicación de pretratamientos o la inclusión de aditamentos orgánicos en los medios de cultivo, podrían mejorar las tasas de germinación de las semillas.

Germinación de las semillas de *G. skinneri*

En este estudio, los medios de cultivo en orden del más al menos completo en el contenido de nutrientes fue MS, después Yasuda al 100 %, Dalla Rosa y Yasuda 10%. Se logró comprobar que los medios Yasuda, a ambas concentraciones (10 y 100%) adicionados con BAP, promovieron las fases de desarrollo durante la pregerminación y germinación, respectivamente. De acuerdo con diversos estudios, el BAP, presente en ambos medios de cultivo (a 10 y 100% de la formulación original), interviene en la división celular, y su efecto puede estar asociado con el estado de diferenciación celular durante el proceso de germinación. Así mismo, Quiroz *et al.* (2017) reportaron un avance en la germinación de semillas de la orquídea terrestre *Chloreaea crispa* Lindl. con la formación de protocormos, con una concentración de 0.1 mg L⁻¹ de BAP y en condiciones de oscuridad. En el medio Yasuda al 10%, se obtuvieron todas las fases en menos tiempo, a las 10 sds, comparado con los otros medios, a pesar de que contaba con una concentración mínima de sales. Aunque no hay antecedentes de estos medios usados en *G. skinneri*, datos similares han sido presentados en *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andres (Orchidaceae), donde Torres-González *et al.* (2011) obtuvieron el mayor porcentaje de germinación a las 13 sds en el mismo medio Yasuda 10 %. Existen evidencias que comprueban que los medios en concentraciones menores de la fórmula original promueven el arranque de germinación de semillas de orquídeas (Chen *et al.*, 2015), tal y como se comprueba en el presente estudio. Esto coincide con el hecho de que, en condiciones naturales en las copas de los árboles, las epifitas disponen de pocos recursos nutrimentales para la germinación y desarrollo (Damon *et al.*, 2014), y estos serían suministrados indirectamente mediante los HEFM.

El medio DR adicionado con agua de coco, promovió de igual forma las cinco fases de germinación de *G. skinneri*, incluso a las 14 sds promovió en mayor medida la Fase 4. De acuerdo con lo reportado por (Damon *et al.*, 2014), *G. aurantiaca*, especie cercana a *G. skinneri* obtuvo el 92.12% de germinación a los 160 días en este mismo medio. Dado que este medio contiene agua de coco, ha sido documentado que uno de sus componentes es la citoquinina importante para la germinación de semillas (Ma *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2015). Las citoquininas exógenas pueden ayudar en la movilización de lípidos dentro de los embriones de orquídeas (Kauth *et al.*, 2008), y por ende promover la germinación de semillas mediante la eficiente utilización de los lípidos que usualmente son escasos en el medio natural.

La baja tasa de germinación de las semillas de *G. skinneri* en el medio MS 100%, estuvo asociada a la alta concentración de sales inorgánicas del medio. Resultados similares han sido reportados para esta misma especie por García *et al.* (1993) quienes obtuvieron el 3.5% de germinación a los 75 días después de la siembra y con un desarrollo lento. Así mismo, Andrade-Rodríguez *et al.* (2015) obtuvieron 31% de germinación de semillas del híbrido *Brassolaeliacattleya* (Orchidaceae) en MS al 100%, quienes argumentaron un efecto osmótico negativo (-0.3349 Mpa) por su alta cantidad de sales, lo cual impidió la absorción eficiente de los macro y micronutrientes del medio. Es por ello, que se sugiere realizar pruebas previas de susceptibilidad al medio de cultivo, en la fase de imbibición y desarrollo de protocormo, para evitar el desperdicio de semillas y posibles afectaciones en las fases posteriores. El medio MS en este estudio no fue favorable para la etapa de germinación; sin embargo, ha resultado ser idóneo para varias especies, demostrado en diversos estudios donde han probado diferentes concentraciones o han añadido otros componentes (Ávila-Díaz *et al.*, 2009; Mercado & Contreras, 2017; Salazar & Osorio, 2022; Utami & Hariyanto, 2019).

Existen paradigmas ampliamente aceptados con respecto a la relación entre la germinación de semillas de orquídeas y el escotoperiodo, uno de ellos es que las orquídeas epifitas requieren luz y las especies terrestres oscuridad para germinar (Kauth *et al.*, 2008). Los requerimientos de escotoperiodo pueden ser particulares para inducir o inhibir las fases de la germinación de

orquídeas epífitas (Castillo-Pérez *et al.*, 2021; López *et al.*, 1994) y terrestres (Chen *et al.*, 2015). De acuerdo con los datos obtenidos en este estudio, la condición de escotoperiodo no afectó el proceso de desarrollo de las fases de germinación. Las semillas que contaron con 12 h de escotoperiodo formaban embriones y luego protocormos clorofilicos, debido a incidencia de la luminosidad recibido a las células de los embriones desde la Fase 2. Las semillas expuestas a 24 h de escotoperiodo fueron aclorofilicos; sin embargo, esto no fue impedimento para continuar el desarrollo, ya que la fuente de nutrimentos provenía del medio de cultivo. Fue notable, que Zeng *et al.* (2012), consignan que la luz continua se asoció con el cambio de coloración de blanquecino a marrón (oxidación) y la muerte prematura de los protocormos de *Paphiopedilum wardii* Summerhayes (Orchidaceae) por ello propusieron que las etapas iniciales permanezcan bajo oscuridad durante las primeras seis semanas y posteriormente sean llevadas a la luz. En el presente estudio, los resultados indican algo diferente, que la oxidación de los embriones estuvo relacionada con el medio de cultivo en las fases 2 y 3 y no con el escotoperiodo.

Valdría la pena reflexionar que, en condiciones naturales, las semillas de orquídeas epífitas aterrizan en diferentes superficies, con o sin disponibilidad de luz. Al ser tan pequeñas es posible que entren en pequeñas grietas en las cortezas de los árboles y podrían ser cubiertas por materia orgánica que impida la recepción de la luz, pero a su vez podría contribuir a evitar la desecación y lograr una estabilidad térmica adecuada durante las etapas iniciales de germinación (Rasmussen *et al.*, 2015). Así podríamos dejar atrás el paradigma del requerimiento de luz de epífitas e impulsar la evaluación del efecto de la oscuridad, en conjunto con otras condiciones ambientales. En estos casos, los protocormos que continuaron con el desarrollo de primordios foliares desarrollados en oscuridad, posiblemente contaban con el almacenamiento de energía obtenida del medio de cultivo; no obstante, requieren de las horas con luz para poder aprovechar la clorofila para fotosintetizar y así optimizar el crecimiento y desarrollo en las siguientes etapas.

La pregerminación y germinación de las semillas de *G. skinneri* fueron asincrónicas y las respuestas iniciales ocurrieron con diferentes frecuencias en cada fase y más rápidas en Y10/12h, mientras que en DR/12h, DR/24h y Y100/12h los cambios fueron tardíos entre fases. Aún no se ha profundizado en las condiciones que genera la asincronía en la germinación de semillas de orquídeas. Koene *et al.* (2020) reportaron la germinación asincrónica de *Acianthera prolifera* (Herb. ex Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase (Orchidaceae), y sugirieron probar con otras formulaciones del medio de cultivo utilizado y realizar subcultivos en las etapas tempranas para evitar el agotamiento de los componentes del medio antes de completar la germinación de todas las semillas. La germinación asincrónica se ha presentado en otras orquídeas, documentado en *Acianthera ochreatea* (Lindl.) Pridgeon & M.W. Chase, *Laelia autumnalis* (Lex.) Lindl. y *L. speciosa* (Kunth) Schltr. (Aguilar-Morales & López-Escamilla, 2013; Hernández-Muñoz *et al.*, 2017). El fenómeno de asincronía, en conjunto con la posibilidad de germinar tanto en condiciones de luz u oscuridad, seguramente ofrece mayor flexibilidad de respuesta a las condiciones naturales cambiantes, pero requiere de estudios genéticos, fisiológicos y bioquímicos para poder entender y aprovechar estos atributos.

Aclimatación

En este estudio se logró el 80% de sobrevivencia de plántulas hasta los 85 días después del trasplante, y sin evidencias de enfermedades. Esto es una cifra importante, e indica haber evitado la causa principal de mortandad ocasionado por enfermedades fúngicas y bacterianas durante la aclimatación temprana (Teixeira da Silva *et al.*, 2017). Sin embargo, la herbivoría fue un evento externo que propició la disminución de la vitroplantulas en este estudio, y en condiciones naturales, las plantas se enfrentan a este suceso como parte de las inevitables interacciones ecológicas. Fue posible observar que algunas plantas ya defoliadas por herbivoría luego generaron un brote, lo que indica que el meristemo no fue dañado. Sería importante evaluar la capacidad de vitroplantulas aclimatadas de superar tasas leves de herbivoría una vez que se lleven a establecerse en los sitios de conservación.

CONCLUSIONES

La germinación asimbiótica *in vitro* se realizó con éxito para *Guarianthe skinneri* y se logró determinar el tiempo de desarrollo en las diferentes fases de pregerminación y germinación, información útil para conocer el tiempo y la producción de una fase de acuerdo con el objetivo de interés. Además, se comprobó que el factor de asincronía es parte del proceso de germinación de semillas de *G. skinneri* y se determinó que los medios Yasuda 10% + 0.112 mg/L BAP promovió la celeridad de las fases. Para *G. skinneri*, las condiciones de escotoperiodo no afectaron el proceso de germinación. Con la información generada es posible diseñar el proceso completo de propagación por semillas completo hasta contar con plántulas listas y aptas para su establecimiento en el medio natural, y así, optimizar el aprovechamiento de las semillas para contribuir en la conservación de la diversidad genética de *G. skinneri*.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio fue apoyado por El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), American Orchid Society (AOS), el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (CERI-INIFAP), y por la beca de doctorado del CONACYT no. 736042 otorgada a FHR. Se agradece el apoyo de Diana Claudia Molina Ozuna por la ilustración de la Figura 2.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

LITERATURA CITADA

- Aguilar-Morales, M., & López-Escamilla, A. (2013). Germinación *in vitro* de *Laelia speciosa* (Kunth) Schltr., una herramienta para su conservación *ex situ*. *Estudios Científicos en el Estado de Hidalgo y Zonas Aledañas. Vol. II. G. Pulido F. y S. Monks (eds.). Zea Books, University of Nebraska. Lincoln, Nebraska, USA., 1(1)*, 18-24.
<http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1004&context=hidalgo>
- Andrade-Rodríguez, M., Vargas-Araujo, J., Villegas-Torres, O., López-Martínez, V., Guillen-Sánchez I., Alia-Tejacal, D., & Andrade-Rodríguez, M. (2015). Germinación de semillas y crecimiento de plántulas de *Cattleya (Brassolaeliocattleya) in vitro*. *Interciencia, 40(8)*, 549-553.
- Arditti, J., & Ghani, A. K. A. (2000). Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *New Phytologist, 145*, 367-421.
- Ávila-Díaz, I., Oyama, K., Gómez-Alonso, C., & Salgado-Garciglia, R. (2009). *In vitro* propagation of the endangered orchid *Laelia speciosa*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 99(3)*, 335-343. <https://doi.org/10.1007/s11240-009-9609-8>
- Cassells, A. C., & Curry, R. F. (2001). Oxidative stress and physiological, epigenetic and genetic variability in plant tissue culture: implications for micropropagators and genetic engineers. Dans *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 64, 145-157.
- Castillo-Pérez, L. J., Martínez-Soto, D., Fortanelli-Martínez, J., & Carranza-Álvarez, C. (2021). Asymbiotic seed germination, *in vitro* seedling development, and symbiotic acclimatization of the Mexican threatened orchid *Stanhopea tigrina*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 146(2)*, 249-257. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02064-9>
- Chen, Y., Goodale, U. M., Fan, X.-L., & Gao, J.-Y. (2015). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Paphiopedilum spicerianum*: An orchid with an extremely small population in China. *Global Ecology and Conservation, 3*, 367-378. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.gecco.2015.01.002>

- Coello, C., Miceli, C., Orantes, C., Dendooven, L., & Gutiérrez, A. (2010). Plant growth regulators optimization for *in vitro* cultivation of the orchid *Guarianthe skinneri* (Bateman) Dressler & W.E. Higgins. *Gayana Bot*, 67(1), 19-26.
- Cruz-Higareda, J. B., Luna-Rosales, B. S., & Barba-Álvarez, A. (2015). A novel seed baiting technique for the epiphytic orchid *Rhynchostele cervantesii*, a means to acquire mycorrhizal fungi from protocorms. *Lankesteriana*, 15(1), 67-76. <https://doi.org/10.15517/lank.v15i1.18525>
- Damon, A. (2013). Conservation status and strategies for the preservation of orchids in the Soconusco Region of southeast Mexico. *Lankesteriana*, 13(1-2), 27-31. <https://doi.org/10.15517/lank.v0i0.11530>
- Damon, A. (2017). Estrategia para el rescate, conservación y aprovechamiento sustentable de las orquídeas (Orchidaceae) en el sureste de México. *Agroproductividad*, 10(6), 25-30.
- Damon, A., Aguilar-Guerrero, E., Rivera, L., & Nikolaeva, V. (2014). Germinación *in vitro* de semillas inmaduras de tres especies de orquídeas de la región del Soconusco, Chiapas, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 10(2), 195-203.
- David, D., Gansua J. A., & Abdullah, J. O. (2008). Effect of NAA and BAP on protocorm proliferation of Borneo Scented Orchid. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 16(3), 221-224. <https://www.researchgate.net/publication/259920952>
- Emeterio-Lara, A., García-Franco, J. G., Hernández-Apolinar, M., Mora-Herrera, M. E., Toledo-Hernández, V. H., Valencia-Díaz, S., & Flores-Palacios, A. (2018). Endogamy costs and reproductive biology of *Laelia autumnalis*, an endemic orchid of Mexico. *Plant Ecology*, 219(12), 1423-1434. <https://doi.org/10.1007/s11258-018-0891-6>
- Fang, S. C., Chen, J. C., & Wei, M. J. (2016). Protocorms and protocorm-like bodies are molecularly distinct from zygotic embryonic tissues in *Phalaenopsis aphrodite*. *Plant Physiology*, 171(4), 2682-2700. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00841>
- García, J. A., Valerín, A. T., & Salazar, R. (1993). Utilización de tres medios orgánicos para la germinación *in vitro* de semillas de guaria morada, *Cattleya skinneri* (Bateman). *Uniciencia*, 79-83.
- Hernández-Muñoz, S., Pedraza-Santos, M., López, P., De la Cruz-Torres, E., Martínez-Palacios, A., Fernández-Pavía, S., & Chávez-Bárceñas, A. (2017). Estimulación de la germinación y desarrollo *in vitro* de *Laelia autumnalis* con rayos gamma. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 40(3), 217-283.
- Hosomi, S. T., Santos, R. B., Custodio, C. C., Seaton, P. T., Marks, T. R., & Machado-Neto, N. B. (2011). Preconditioning *Cattleya* seeds to improve the efficacy of the tetrazolium test for viability. *Seed Science and Technology*, 39(1), 178-189. <https://doi.org/10.15258/sst.2011.39.1.15>
- Johnson, T. R., & Kane, M. E. (2007). Asymbiotic germination of ornamental *Vanda*: *In vitro* germination and development of three hybrids. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 91(3), 251-261. <https://doi.org/10.1007/s11240-007-9291-7>
- Kauth, P., Dutra, D., Johnson, T., Stewart, S., Kane, M., & Vendrame, W. (2008). Techniques and applications of *in vitro* orchid seed germination. *Floriculture, Ornamental and plant biotechnology*, 375-391. <https://www.researchgate.net/publication/257385365>
- Koene, F. M., Amano, É., Smidt, EdC., & Ribas, L. L. F. (2020). Asymbiotic germination and morphological studies of seeds of Atlantic Rainforest micro-orchids (Pleurothallidinae). *PLoS ONE*, 15(12), 1-17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0243297>
- López, V. A., Mejía, M. J., & Sosa-Moss, C. (1994). Cultivo de tejidos de orquídeas: *Cattleya*, *Encyclia*, *Oncidium* y *Stanhopea*. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 1, 58-62.
- López-Chávez, M. Y., Guillén-Navarro, K., Bertolini, V., Encarnación, S., Hernández-Ortiz, M., Sánchez-Moreno, I., & Damon, A. (2016). Proteomic and morphometric study of the *in vitro* interaction between *Oncidium sphacelatum* Lindl. (Orchidaceae) and *Thanatephorus* sp. RG26 (Ceratosidiaceae). *Mycorrhiza*, 26(5), 353-365. <https://doi.org/10.1007/s00572-015-0676-x>

- Ma, Z., Ge, L., Lee, A. S. Y., Yong, J. W. H., Tan, S. N., & Ong, E. S. (2008). Simultaneous analysis of different classes of phytohormones in coconut (*Cocos nucifera* L.) water using high-performance liquid chromatography and liquid chromatography–tandem mass spectrometry after solid-phase extraction. *Analytica Chimica Acta*, 610(2), 274-281.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.01.045>
- Maldonado, G. P., Yarzabal, L. A., Cevallos-Cevallos, J. M., Chica, E. J., & Peña, D. F. (2020). Root endophytic fungi promote *in vitro* seed germination in *Pleurothallis coriacardia* (Orchidaceae). *Lankesteriana*, 20(1), 107-122.
<https://doi.org/10.15517/LANK.V20I1.41472>
- Mercado, S. A. S., & Contreras, N. A. V. (2017). Asymbiotic seed germination and *in vitro* propagation of *Cattleya trianae* Linden & Reichb.f. (Orchidaceae). *Acta Agronomica*, 66(4), 544-548. <https://doi.org/10.15446/acag.v66n4.63597>
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with *Tobacco* tissue cultures. *Plant Physiology*, 15(4), 31.
<https://doi.org/10.1104/pp.113.231753>
- Ortiz, C. S., González, C. G., López, G. P., & Donjuan, L. I. (2013). Efecto de sustratos, soluciones nutritivas y tamaño de vitroplanta en aclimatación de *Candelaria* (*Guarianthe skinneri*). *Memorias de Congreso Nacional y Primer Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A.C.*
- Quiroz, K., Saavedra, J., Vogel, H., Verdugo, G., Caligari, P. D. S., & García-González, R. (2017). *In vitro* asymbiotic germination for micropropagation of the recalcitrant terrestrial orchid *Chloraea crispa* (Orchidaceae). *Applications in Plant Sciences*, 5(8), 1600142. <https://doi.org/10.3732/apps.1600142>
- Rasmussen, H. N., Dixon, K. W., Jersáková, J., & Těšitelová, T. (2015). Germination and seedling establishment in orchids: A complex of requirements. *Annals of Botany*, 116(3), 391-402. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv087>
- Salazar, S. A., & Osorio, Y. M. (2022). Implementation of organic components to the culture medium to improve the *in vitro* propagation of *Cattleya warscewiczii* and *Cattleya gaskelliana*. *South African Journal of Botany*, 148, 352-359.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.05.002>
- Salazar-Mercado, S. (2012). Germinación asimbiótica de semillas y desarrollo *in vitro* de plántulas de *Cattleya mendelii* Dombroin (Orchidaceae). *Acta Agronómica*, 61(1), 69-78.
- Solano-Gómez, R., Damon, A., Cruz-Lustre, G., Jiménez-Bautista, L., Avendaño-Vázquez, S., Bertolini, V., Rivera-García, R., & Cruz-García, G. (2016). Diversity and distribution of the orchids of the Tacaná-Boquerón region, Chiapas, Mexico. *Botanical Sciences*, 94(3), 625-656. <https://doi.org/10.17129/botsci.589>
- Stewart, S. L., & Kane, M. E. (2006). Asymbiotic seed germination and *in vitro* seedling development of *Habenaria macroceratitidis* (Orchidaceae), a rare Florida terrestrial orchid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 86(2), 147-158.
<https://doi.org/10.1007/s11240-006-9098-y>
- Teixeira da Silva, J. A., Hossain, M. M., Sharma, M., Dobránszki, J., Cardoso, J. C., & Zeng, S. (2017). Acclimatization of *in vitro*-derived *Dendrobium*. *Horticultural Plant Journal*, 3(3), 110-124. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2017.07.009>
- Torres-González, M. J., Aguirre-Medina, J. F., & Iracheta-Donjuan, L. (2011). Germinación de semilla y obtención de plántulas de *Vanilla planifolia* Andrews en condiciones *in vitro*. *AGROProductividad*, 4(2), 3-8.
- 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*.
<https://doi.org/10.1155/2019/8105138>
- Utami, E. S. W., & Hariyanto, S. (2020). Organic compounds: contents and their role in improving seed germination and protocorm development in orchids. *International Journal of Agronomy*. <https://doi.org/10.1155/2020/2795108>

Recibido:
26/octubre/2022

Aceptado:
1/junio/2023

- Valadares, R. B. S., Perotto, S., Santos, E. C., & Lambais, M. R. (2014). Proteome changes in *Oncidium sphacelatum* (Orchidaceae) at different trophic stages of symbiotic germination. *Mycorrhiza*, 24(5), 349-360. <https://doi.org/10.1007/s00572-013-0547-2>
- Vasudevan, R., & Van Staden, J. (2010). *In vitro* asymbiotic seed germination and seedling growth of *Ansellia africana* Lindl. *Scientia Horticulturae*, 123(4), 496-504. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.11.010>
- Vogel, I. N., & Macedo, A. F. (2011). Influence of IAA, TDZ, and light quality on asymbiotic germination, protocorm formation, and plantlet development of *Cyrtopodium glutiniferum* Raddi., a medicinal orchid. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104(2), 147-155. <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9810-9>
- Yasuda, T., Fujii, Y., & Yamaguchi, T. (1985). Embryogenic callus induction from *Coffea arabica* leaf explants by benzyladenine. *Plant and Cell Physiology*, 26(3), 595-597. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076946>
- Yeung, E. C. (2017). A perspective on orchid seed and protocorm development. *Botanical Studies*, 58(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s40529-017-0188-4>
- Zeng, S., Wu, K., Teixeira da Silva, J. A., Zhang, J., Chen, Z., Xia, N., & Duan, J. (2012). Asymbiotic seed germination, seedling development and reintroduction of *Paphiopedilum wardii* Sumerh., an endangered terrestrial orchid. *Scientia Horticulturae*, 138, 198-209. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.02.026>
- Zhang, Y. Y., Wu, K. L., Zhang, J. X., Deng, R. F., Duan, J., Teixeira Da Silva, J. A., Huang, W. C., & Zeng, S. J. (2015). Embryo development in association with asymbiotic seed germination *in vitro* of *Paphiopedilum armeniacum* S. C. Chen et F. Y. Liu. *Scientific Reports*, 5. <https://doi.org/10.1038/srep16356>

**Polibotánica**

ISSN electrónico: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

**PLANT REGENERATION FROM
INDIRECT SOMATIC EMBRYOGENESIS
OF *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp.
salmiana USING ZYGOTIC EMBRYO OBTAINED
BY *in-casa* POLLINATION AS EXPLANTS**

**REGENERACIÓN DE PLANTAS POR
EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA
INDIRECTA DE *Agave salmiana* Otto ex
Salm-Dyck subsp. *salmiana* USANDO
EMBRIONES CIGÓTICOS OBTENIDOS POR
POLINIZACIÓN *in-casa* COMO EXPLANTES**

Angeles-Vázquez, Blanca Vianey; Jorge Alvarez-Cervantes; Xochitl Tovar-Jiménez y Benjamín Rodríguez-Garay

PLANT REGENERATION FROM INDIRECT SOMATIC EMBRYOGENESIS OF *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* USING ZYGOTIC EMBRYO OBTAINED BY *in-casa* POLLINATION AS EXPLANTS

REGENERACIÓN DE PLANTAS POR EMBRIOGÉNESIS SOMÁTICA INDIRECTA DE *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* USANDO EMBRIONES CIGÓTICOS OBTENIDOS POR POLINIZACIÓN *in-casa* COMO EXPLANTES

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 171-182 México. Julio 2023

DOI: 10.18387/polibotanica.56.9



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0
Atribución-No Comercial ([CC BY-NC 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)).

Plant regeneration from indirect somatic embryogenesis of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* using zygotic embryo obtained by *in-casa* pollination as explants

Regeneración de plantas por embriogénesis somática indirecta de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* usando embriones cigóticos obtenidos por polinización *in-casa* como explantes

Angeles-Vázquez, Blanca Vianey;
Jorge Alvarez-Cervantes;
Xochitl Tovar-Jiménez y
Benjamín Rodríguez-Garay

PLANT REGENERATION
FROM INDIRECT SOMATIC
EMBRYOGENESIS OF *Agave*
salmiana Otto ex Salm-Dyck
subsp. *salmiana* USING
ZYGOTIC EMBRYO
OBTAINED BY *in-casa*
POLLINATION AS
EXPLANTS
REGENERACIÓN DE

PLANTAS POR
EMBRIOGÉNESIS
SOMÁTICA INDIRECTA DE
Agave salmiana Otto ex Salm-
Dyck subsp. *salmiana*
USANDO EMBRIONES
CIGÓTICOS OBTENIDOS
POR POLINIZACIÓN *in-casa*
COMO EXPLANTES

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 171-182. Julio 2023

DOI:

10.18387/polibotanica.56.9

Blanca Vianey Angeles-Vázquez

<https://orcid.org/0000-0003-4650-4098>

Maestría en Biotecnología, Universidad Politécnica de Pachuca,
Carretera Pachuca-Cd. Sahagún km 20, Ex Hacienda de Santa Bárbara,
Zempoala, Hidalgo, México, CP-43830

Jorge Alvarez-Cervantes / jorge_ac85@upp.edu.mx

<https://orcid.org/0000-0002-0379-5588>

Xochitl Tovar-Jiménez

<https://orcid.org/0000-0002-6626-6237>

Universidad Politécnica de Pachuca, Carretera Pachuca - Cd. Sahagún km 20
Ex-Hacienda de Santa Bárbara, Zempoala Hidalgo, México CP-43830.

Benjamín Rodríguez-Garay / agavero01@hotmail.com

<https://orcid.org/0000-0003-4307-6622>

Unidad de Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y
Diseño del Estado de Jalisco, Camino el Arenero No. 1227,
Colonia El Bajío del Arenal, Zapopan Jalisco, México CP-45019

ABSTRACT: The use of somatic embryogenesis can be an alternative to produce a large number of somatic seedlings in less time at low cost; however, the viability and success of this method depend on several factors such as the type of explant used, the hormonal balance, among others. In this sense, the present research work evaluated the use of immature zygotic embryos obtained by *in-casa* pollination as explants of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* obtained from different municipalities of the state of Hidalgo, Mexico. After 30-40 days of having pollinated inflorescences or panicles, a total of 89 fruits were obtained, of which 1608 zygotic embryos were rescued *in vitro*, and from these somatic embryos were generated in a nutrient medium (MS) by Murashige and Skoog, supplemented with vitamins L2, 9 μM of the auxin 2,4-dichlorophenoxyacetic (2,4-D) and 1.3 μM of the cytokinin 6-6 benzylaminopurine (BAP). Calli were used in two experiments in the presence of 2,4-D auxins and α -naphthaleneacetic acid (NAA) in combination with the cytokinin BAP. After 40 days of incubation, it was observed that a large number of embryos and embryogenic calli were generated using 4.5-9.0 μM 2,4-D in combination with 0.4-1.3 μM BAP. *In-casa* pollination allows the formation of viable zygotic embryos, and these can be used as explants in somatic embryogenesis, this being an alternative to help the genetic conservation of *Agave* plants in Mexico.

Key words: *In-casa* pollination, embryo rescue, zygotic embryos, auxins

RESUMEN: El uso de embriogénesis somática puede ser una alternativa para producir en menos tiempo un gran número de plántulas somáticas a bajo costo; sin embargo, la viabilidad y el éxito de este método dependen de varios factores como el tipo de explante utilizado, el balance hormonal entre otros. En este sentido, el presente trabajo de investigación evaluó el uso de embriones cigóticos inmaduros obtenidos por polinización-cruzada *in-casa* como explantes de *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* obtenidos de diferentes municipios del estado de Hidalgo, México.

Después de 30-40 días de haber polinizado inflorescencias o panículas se obtuvieron un total de 89 frutos, de los cuales se rescataron *in vitro* 1608 embriones cigóticos, y de estos se generaron embriones somáticos en un medio nutritivo (MS) de Murashige y Skoog, suplementado con vitaminas L2, 9 μM de la auxina 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y 1,3 μM de la citoquinina 6-6 bencilaminopurina (BAP). Los callos se utilizaron en dos experimentos con presencia de auxinas 2,4-D y el ácido naftalenoacético (NAA) en combinación con la citoquinina BAP. Después de 40 días de incubación, se observó que se generó una gran cantidad de embriones y callos embriogénicos utilizando 4,5-9,0 μM de 2,4-D en combinación con 0,4-1,3 μM de BAP. Después de 60 días de incubación, el porcentaje de germinación de embriones somáticos fue superior al 70% en todos los tratamientos, con una tasa de supervivencia superior al 95% en 21 días. La polinización cruzada *in-casa* permite la formación de embriones cigóticos viables, y estos pueden ser utilizados como explantes en la embriogénesis somática, siendo esto, una alternativa para ayudar a la conservación genética de plantas de *Agave* en México.

Palabras clave: Polinización-cruzada en casa, rescate de embriones, embriones cigóticos, auxinas.

INTRODUCTION

The genus *Agave* is endemic to America and is the largest and most diverse of the Asparagaceae family with 210 species of angiosperm and monocotyledonous plants; of these, 159 are native to Mexico (García-Mendoza A, 2002). An example is *Agave salmiana* that is distributed mainly in the Mexican states of Tlaxcala, Puebla, Mexico, and Hidalgo (MolinaVega *et al.*, 2021). This species is used in the elaboration of traditional foods, fibers production, pulque and mezcal, saponins, fructans and in obtaining biofuels (Álvarez-Chávez *et al.*, 2021). It is a semelparous species and takes 10 to 15 years to reproduce sexually. In comparison, asexual reproduction takes about five years with the formation of offshoots, being this form of propagation the most used for commercial purposes. However, this has led to the incidence of pests and diseases due to the decrease in genetic variability (Puente-Garza *et al.*, 2015). Plant tissue culture can be a biotechnological tool of great help to preserve the genetic diversity of this species and take advantage of its diverse uses. *In vitro* propagation of *Agave* by the proliferation of axillary buds has been reported in different species between them *A. salmiana* subspecies *crassispina* (Nava-Cruza *et al.*, 2015).

Somatic embryogenesis (SE) is an alternative to the mass culture of plants, which is characterized as a pathway for the regeneration of whole plants from a bipolar structure derived from somatic cells. This process is carried out through the induction of plant cells to dedifferentiate and enter a new biological development program and the subsequent expression and germination of the resulting embryos (Gutierrez-Mora *et al.*, 2012), by using growth regulators such as auxins and cytokinins. Auxins being an essential factor for the initial cell polarization and asymmetrical first division (Asghar *et al.*, 2023).

Some of the factors that have been studied to carry out the embryogenesis process in *Agave* are the type of explant used, the combination and hormonal concentration, osmotic conditions, concentration of amino acids and salts, etc. In the SE of *Agave spp*, different explants have been used: leaf segments, in *A. victoria-reginae* (Rodríguez-Garay *et al.*, 1996), *A. salmiana* (FloresBenítez *et al.*, 2007), *A. vera-cruz* (Tejavathi *et al.*, 2007) and *A. tequilana* Weber, blue cultivar (Portillo *et al.*, 2007; Rodríguez-Sahagún *et al.*, 2011); stem tissues in *A. victoria-reginae* Moore (Martínez-Palacios *et al.*, 2003) and *A. fourcroydes* Lem (Monja-Mio & Robert, 2016); tissue of bulbil apices in *A. sisalana* (Nikam *et al.*, 2003) zygotic embryos in *A. angustifolia* Haw (Arzate-Fernández & Mejía-Franco, 2011; Reyes-Díaz *et al.*, 2017) The combination of hormones is another of the parameters that has been manipulated to induce ES in different species of *Agave*, being 2,4-D auxin in combination with other hormones the common one of all. Such as the study carried out on *Agave marmorata* in which it was combined with BAP, using mature seeds as explants (Alvarez-Aragón *et al.*, 2020).

Therefore, the use of somatic embryogenesis using zygotic embryos as explants of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana*, a product of *in-casa* cross-pollination, could be a useful alternative in the production of plants, conservation of genetic diversity, and for the genetic improvement of this species.

MATERIALS AND METHODS

Plant material. In the April-June 2017 period, panicles and inflorescences of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* in the stage of sexual reproduction were collected in the municipalities El Arenal (N: 20° 10' 39.1" W: 98° 53' 56.1" 2217 m.s.n.m, N: 20° 10' 36.8" W: 98° 53' 54.5" 2239 m.s.n.m., N: 20° 10' 37.1" W: 98° 53' 51.5" 2246 m.s.n.m, N: 20° 10' 38.4" W: 98° 53' 53.1" 2267 m.s.n.m), Cardonal (N: 48° 78' 94.0" W: 22° 77' 97.3" 1961 m.s.n.m, N: 20° 36' 03.8" W: 99° 06' 40.0" 1953 m.s.n.m, N: 20° 36' 03.8" W: 99° 06' 40.0" 1953 m.s.n.m.), San Agustín Tlaxiaca (N: 51° 40' 99" W: 22° 18' 749" 2624 m.s.n.m, N: 50° 96' 66" W: 22° 25' 077" 2301 m.s.n.m) and Emiliano Zapata (N: 19° 39' 20.2" W: 98° 33' 10.4" 2502 m.s.n.m). The taxonomic classification was made according to dichotomous keys (Little & Gentry, 1983). The plant material was kept in the laboratory in containers with clean water (flower vases) at an average room temperature of 21-23 °C.

Pollen viability tests. Mature flowers were emasculated, and anthers were collected and placed on a sheet of bond paper at room temperature, for three days, to carry out the pollen harvest and its subsequent viability test. The viability of pollen grains was observed through the formation and growth of the pollen tube. The pollen grains were placed in Petri dishes (100 mm x 15 mm) with 25 mL of culture medium containing 102.69 g L⁻¹ sucrose, 0.02 g L⁻¹ boric acid, 0.287 g L⁻¹ calcium nitrate and 5 g L⁻¹ agar, subsequently incubated for 30 minutes at 25 °C (López Díaz & Rodríguez Garay, 2008).

***In-casa* cross-pollination.** After checking the viability of pollen and when the flower was receptive with the presence of a pollen drop in the stigma, pollination was carried out as described by Rodríguez-Garay *et al.*, (2018).

Callus formation. After 30 to 40 days post-pollination, the fruits were collected from the panicles and disinfected with 96% v/v alcohol and flamed within a laminar flow hood, then opened with a sterile scalpel and extracted the immature viable seeds (black color). The immature zygotic embryos were extracted with the help of a stereoscopic microscope, fine forceps, and a scalpel under aseptic conditions (Rodríguez-Garay *et al.*, 2018). These immature zygotic embryos were used as explants. Embryos were placed in Petri dishes (100 mm x 15 mm) containing 25 mL of MS medium; supplemented with 30 g L⁻¹ sucrose, L₂ vitamins (Phillips & Collins, 1979), 8 g L⁻¹ agar, 9.0 µM 2,4-D (Sigma-Aldrich D8407) and 1.3 µM of BAP (Sigma-Aldrich B3408) (Portillo *et al.*, 2007). The pH was adjusted to 5.8 prior sterilization in an autoclave. Five explants (immature zygotic embryos) were seeded in each Petri dish and incubated at 27 °C ± 2 °C for 40 days under total darkness.

Experimental method

To increase the number of genotypes that could form somatic embryos, the explants that formed calluses were distributed in two experiments that differed by the use of plant growth regulators and their concentration.

Experiment 1: A 3 × 3 bifactorial experiment was designed: The first factor was 2,4-D in concentrations of 4.5, 9.0, and 13.5 µM, in combination with the second factor BAP in concentrations of 0.4, 1.3 and 2.2 µM (Portillo *et al.*, 2007).

Experiment 2: A 3×3 bifactorial experiment was designed, using the auxin α naphthaleneacetic acid (NAA) (Sigma-Aldrich N0640) in concentrations of 1.34, 2.7 and 4.06 μM , and the cytokinin BAP in concentrations of 2.5, 5.0 and 7.05 μM (Flores-Benítez *et al.*, 2007).

Induction medium

For each of the experiments, MS medium (Murashige & Skoog, 1962), supplemented with 30 g L^{-1} sucrose, L_2 vitamins (Phillips & Collins, 1979) and 8 g l^{-1} agar was used, with plant growth regulator, respectively.

Each experiment resulted in nine treatments, with eight and seven replications respectively for both experiments. Each experimental replication consisted of four calluses per Petri dish (nodular calluses, reliable and beige in color). They were incubated at $27^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ for 40 days under total darkness. After this period, the number of calluses that could express somatic embryogenesis was quantified, as well as the number of somatic embryos formed in each callus before its maturation and germination.

Statistical analysis. A unifactorial analysis of variance (ANOVA) with a level of significance of 0.05 was performed, using the PAleontological STatistics program version 3.20 (Hammer & Harper, Norway).

The response surface methodology was used with the help of Design-expert software version 7.1.5 (Stat-Ease, Minneapolis), adjusting the data to a Miscellaneous 3^2 design with 4 points in the center to estimate the optimal conditions within the experimental area, (Table 1).

Table 1. Experimental range of the levels of the two independent variables in terms of real values in the experiments of induction of somatic embryogenesis in *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana*.

Variables	Symbol	Coded variable levels		
		-1	0	+1
6-bencilaminopurine (BAP)	X1	0.4 μM	1.3 μM	2.2 μM
2,4-diclorofenoxiacetic acid (2,4-D)	X2	4.5 μM	9.0 μM	13.5 μM

Maturation and germination of somatic embryos. The somatic embryos generated in both experiments were transferred to Petri dishes (100 x 15 mm) containing 25 mL of MS medium with the addition of 30 g L^{-1} sucrose, 500 mg L^{-1} glutamine, 250 mg L^{-1} casein hydrolysate and supplemented with L_2 vitamins, and 6 g L^{-1} phytigel (Sigma P8169) (Santacruz-Ruvalcaba *et al.*, 1998). For this purpose, eight embryos per Petri dish were incubated at $27^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ with a photoperiod of 16 h light for 60 days, to quantify the percentage of germination.

Propagation. Two germinated plants without roots were placed in each bottle containing 100 mL of MS medium supplemented with 30 g L^{-1} sucrose, 44.3 μM BAP, 0.18 μM 2,4-D, and 8 g L^{-1} agar (Santacruz-Ruvalcaba *et al.*, 1999). The pH was adjusted to 5.8 prior sterilization in an autoclave. The cultures were incubated at $27^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ for 60 days with a photoperiod of 16 h light to generate the formation of multiple shoots.

For rooting, the same light and temperature conditions were used; however, the culture medium did not contain plant growth regulators and with a salts reduction of 50% of the MS medium. Finally, the rooted plants were transplanted to vessels made of expanded polystyrene (EPS) with an equivalent mixture of peat moss, vermiculite, and soil (1: 1: 1). The survival rate of plants was quantified 21 days after the initiation of incubation.

RESULTS

Pollen viability tests in most of the collected parent plants indicated that 90% of the collected pollen could form a pollen tube. In Figure 1, the general process of the formation of zygotic embryos is depicted. 89 fruits were formed after 30 to 40 days as a product of the *in-casa* pollination. 25 out of 89 fruits were selected randomly, of which 1608 immature zygotic embryos were rescued. Seven of the rescued embryos had two cotyledons. 744 (46.3%) out of 1608 immature zygotic embryos could form calli, and 30 (1.8%) of them expressed somatic embryogenesis after 40 days of incubation in the induction medium; however, it was observed that only explant formed somatic embryos within 20 days.

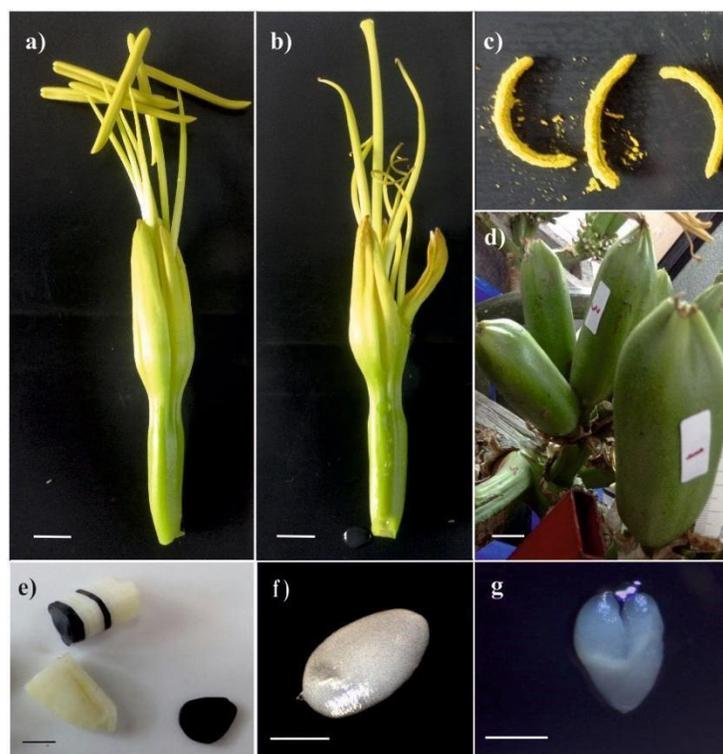


Fig. 1. Formation of zygotic embryos by *in-casa* cross-pollination of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana*. **a)** Flowers ready to be emasculated (Bar = 1cm). **b)** Mature flower ready to be pollinated (Bar = 1cm). **c)** Mature and open anthers for pollen harvest. **d)** Fruit ripening (Bar = 1cm). **e)** Viable (black color) and non-viable (white color) seeds (Bar = 5mm). **f)** Monocotyledon zygotic embryo (Bar = 1mm). **g)** Dicotyledon zygotic embryo (Bar = 0.5mm).

The analysis of variance (ANOVA) for the results of experiment 1 showed that there was a statistically significant difference between the treatments, after quantifying the number of calli that expressed somatic embryogenesis ($p = 0.040$) (Table 2). The response surface methodology predicted the number of calli expressed by somatic embryogenesis as a function of BAP and 2,4-D, and the results were adjusted to a second-order equation:

$$y = 1.098 - 0.148 x_1 + 0.218 x_2 - 0.007 x_1 x_2 - 0.058 x_1^2 - 0.014 x_2^2$$

Table 2. Number of calli that expressed somatic embryogenesis of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* in nine treatments with different concentrations of growth regulators: 2,4-D / BAP.

BAP / 2,4-D	4.5 μM	9.0 μM	13.5 μM
0.4 μM	1.750 \pm 0.250 ^a	1.875 \pm 0.479 ^{ab}	1.125 \pm 0.227 ^c
1.3 μM	1.250 \pm 0.250 ^c	1.500 \pm 0.189 ^{ac}	1.125 \pm 0.227 ^c
2.2 μM	1.250 \pm 0.313 ^c	1.000 \pm 0.267 ^{bc}	0.500 \pm 0.189 ^c

*Number of calluses per Petri dish (Maximum value 4) \pm standard error

*Values with the same letter do not have a statistically significant difference ($p < 0.05$) using the LSD test.

The model predicted that the optimal concentration of plant growth regulators within the experimental area was 0.44 μM BAP and 7.39 μM 2,4-D with a response of 1.812 calli expressing SE. According to the model, the factor with the highest level of significance was auxin 2,4-D ($p = 0.003$). Figure 2 shows the response surface as a function of different concentrations of BAP and 2,4-D. It was found that there was no significant statistical difference between treatments ($p = 0.456$) when quantifying the number of somatic embryos formed.

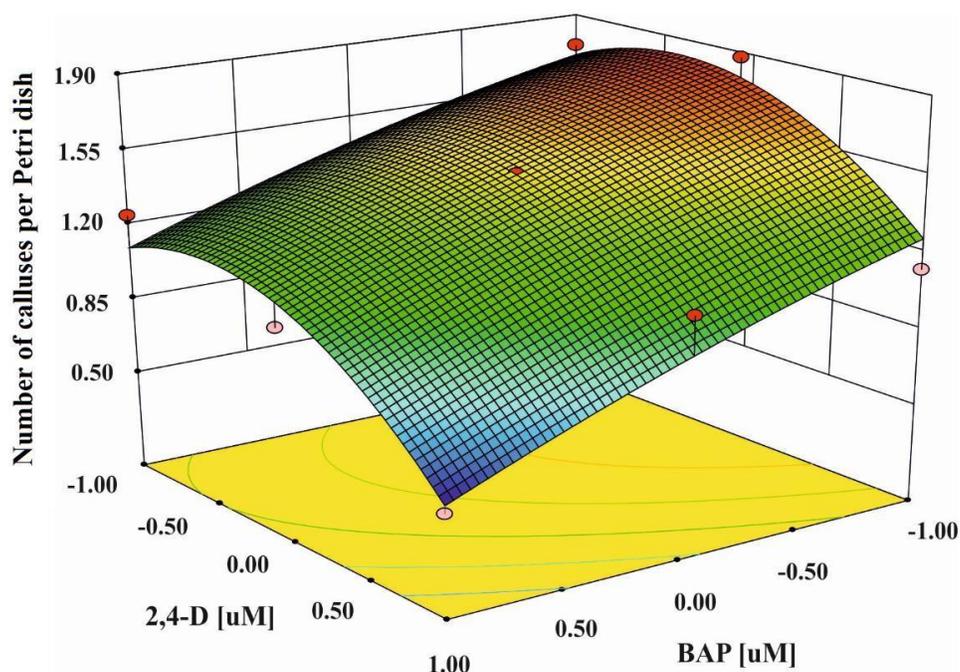


Fig. 2. Contour plot of the surface for the number of embryogenic calluses (Z) using the interaction of the variables (X1) cytokinin BAP and (X2) auxin 2,4-D. Having as answer the number of calluses formed per Petri dish (The coding of the data is shown in Table 1).

In experiment 2, the ANOVA demonstrated that there was no statistically significant difference between treatments when quantifying the number of calli that expressed somatic embryogenesis ($p = 0.315$), as well as in the number of somatic embryos formed ($p = 0.617$). However, when comparing the results of both experiments, a statistically significant difference was observed in the number of genotypes (each zygotic embryo) that expressed somatic embryogenesis ($p = 0.035$), and in the number of somatic embryos formed ($p = 0.000$) (Table 3).

Table 3. Comparison of two experiments with different auxin in combination with BAP for the SE of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana*.

Experiment	Number of calluses per Petri dish	Number of somatic embryos per callus
(1) 2,4-D / BAP	1.264 ± 0.137	42.419 ± 5.858
(2) NAA / BAP	0.873 ± 0.099	10.698 ± 1.925

Number of calluses per Petri dish have a Maximum value $4 \pm$ standard error.

The germination percentage of the somatic embryos in experiments 1 and 2 was $97.11 \pm 0.98\%$ and $73.03 \pm 5.43\%$, respectively. There was a 95% survival rate as a result of the acclimatization. Figure 3 shows some images of the process.

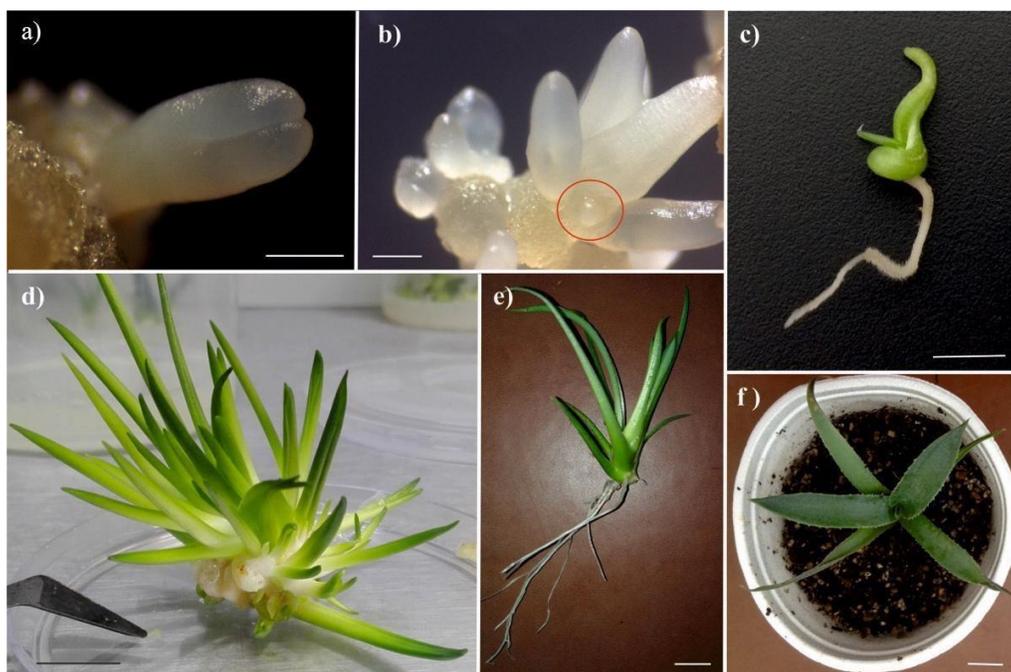


Fig. 3. *In vitro* propagation of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* by somatic embryogenesis. **a)** Dicotyledonous somatic embryo (heart) (Bar = 0.5 mm). **b)** Globular and torpedo structures seen under the stereo microscope on the surface of the embryogenic callus. (Bar = 0.5 mm). **c)** Germination of a somatic embryo (Bar = 5 mm). **d)** Bud formation (Bar = 1 cm). **e)** Rooted plant ready to be transplanted to soil (Bar = 1cm). **f)** Plant regenerated in substrate after 21 days (Bar = 1cm)

DISCUSSION

In-casa cross-pollination could be a useful tool for the conservation of the genetic diversity of agave plants of the same species and variety. The previous procedure can be carried out in the laboratory under controlled conditions for the production of hybrids through sexual reproduction (Rodríguez-Garay *et al.*, 2018), avoiding open pollination of unknown species/varieties. The results obtained in this proposal allowed the rescue of zygotic embryos, which were used as explants in the process of somatic embryogenesis, facilitating the selection of phenotypes and the production of cell lines with genetic diversity of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* for conservation and propagation purposes (Angeles Vázquez *et al.*, 2018).

The genus *Agave* is composed of monocotyledonous plants, which are characterized by having only one cotyledon in their embryonic phase (Rodríguez-Garay, 2016). However, in this work, embryos with two cotyledons were found, similar to those reported for *Agave tequilana* with an incidence of 4% (Ayala-González *et al.*, 2014). The presence of more than one cotyledon in this genus represents an opportunity to study the mechanisms that gave rise to its unique cotyledon since the phylogenetic groups of monocots and dicots are closely related (Ayala-González *et al.*, 2014).

The embryogenic calli obtained in this work showed beige, yellow, and green colorations, with friable and compact textures, many of them nodular. These characteristics have been found in embryogenic calli of *Agave victoria-reginae* (Martínez-Palacios *et al.*, 2003), *Agave sisalana* (Nikam *et al.*, 2003), and *Agave tequilana* (Portillo *et al.*, 2007), showing a specific morphology for embryogenic callus where they are generally friable and nodular of a beige coloration. After 20 days of incubation in the induction medium, somatic embryos were observed in some of the explants. This incubation period is shorter than that reported for other *Agave* species such as *A. victoria-reginae* (Rodríguez-Garay *et al.*, 1996), *A. tequilana* (Rodríguez-Sahagún *et al.*, 2011), *A. fourcroydes* (Monja-Mio & Robert, 2013), *A. sisalana* (Carneiro *et al.*, 2014). This period is attributed to the type of explant used, in which the suspensor plays a significant role since several studies indicate that it is made up of totipotent cells that have the possibility of producing somatic embryos (Liu *et al.*, 2015). In this work, it was observed that in most of the explants (zygotic embryos), the formation of embryogenic callus was initiated in the suspensor. As can be seen in Figure 3. At the end of 40 days of incubation, indirect embryogenesis occurred, which has been described in most *Agave* species (Arzate-Fernández & Mejía-Franco, 2011).

Recent studies have reported the use of zygotic embryos as explants to carry out the process of somatic embryogenesis in the *Agave* genus, rescued from seeds formed by open pollination, such as the one reported for *A. angustifolia*, *A. cupreata* and *A. salmiana*, the which were subjected to osmotic stress induced by the application of compounds such as polyethylene glycol (PEG) and abscisic acid (ABA), reaching percentages of embryogenic callus formation above 50% (Hernández-Solis *et al.*, 2023). Other factors have also been explored, such as the concentration of vitamins in the induction medium, such as Thiamine, using the same type of explants (embryonic axes) in *A. angustifolia*, demonstrating that the higher the concentration of this compound, it is possible to obtain a greater number of embryos somatic (Reyes-Díaz *et al.*, 2020.)

The addition of plant growth regulators in the *in vitro* culture indirectly causes local variations in the auxin concentration of the explant, possibly triggering the *de novo* synthesis and relocation of the endogenous auxin. Also, it has been demonstrated that the auxin analog 2,4-D can act directly as an inducer of genes related to stress (Fehér, 2015). Besides, it has been shown that it causes hypermethylation of DNA, inducing the expression of the MET1 gene that leads to the reprogramming of the genome and the acquisition of embryogenic competence (Leljak-Levanić *et al.*, 2004).

The auxin 2,4-D is the most used analog in SE protocols in different species, including the genus *Agave* (Monja-Mio & Robert, 2016). Finally, the results obtained in this work show that the SE of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana* is favored by relatively high concentrations of 2,4-D with the addition of low concentrations of the cytokinin BAP, as established for other *Agave* species (Delgado-Aceves *et al.*, 2021).

CONCLUSIONS

The use of complete inflorescence of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana in-casa* cross-pollination allowed obtaining viable zygotic embryos after 30 days post-pollination, which presented embryogenic capacity when using an MS medium supplemented with vitamins L2, 2,4-D and ANA in combination with the cytokinin BAP. The presence of 2,4-D auxin compared to ANA, in a 40-day incubation period in the dark, increased the number of somatic embryos formed and the number of embryogenic calli. The proposal to carry out *in-casa* crosspollination facilitates the conservation of diversity through the controlled pollination of a certain species or variety of *Agave*. Furthermore, it is possible to induce and express the embryogenic capacity of zygotic embryos of *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck subsp. *salmiana*, this being an alternative to help the genetic conservation of *Agave* plants in Mexico.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Mexico's Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the scholarship awarded to Blanca Vianey Angeles-Vázquez (No. 447330), to support her M.Sc. studies in Biotechnology at Universidad Politécnica de Pachuca. Also, to Red Temática Mexicana Aprovechamiento Integral Sustentable y Biotecnología de los Agaves (AGARED-CONACyT 2017 Mobility Plan) and the project "Industrial techniques for the production and exploitation of maguey" of the 2017 Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del estado de Jalisco, A.C. (CIATEJ) Trust Fund.

LITERATURE CITED

- Alvarez-Aragón, C., Martín Arzate-Fernández, A., Yarensy Martínez-Martínez, S., & Martínez-Velasco, I. (2020). Regeneración de plantas de *Agave marmorata* Roezl, vía embriogénesis somática † [Regeneration of *Agave marmorata* Roezl Plants, by somatic embryogenesis]. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 23.
- Álvarez-Chávez, J., Villamiel, M., Santos-Zea, L., & Ramírez-Jiménez, A. K. (2021). *Agave* By-Products: An Overview of Their Nutraceutical Value, Current Applications, and Processing Methods. *Polysaccharides*, 2(3), 720–743. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2030044>
- Angeles Vázquez, B. V., Álvarez Cervantes, J., Anducho Reyes, M. A., & Rodríguez Garay, B. (2018). Embriogénesis somática como método de conservación y propagación de *A. salmiana* var. *salmiana*. *SIRGEAC*, 407–410. https://vun.inifap.gob.mx/VUN_MEDIA/BibliotecaWeb/_media/_memoria/1080_4764_XI_Simposio_Internacional_de_Recursos_Gen%C3%A9ticos_para_las_Am%C3%A9ricas_y_el_Caribe.pdf
- Arzate-Fernández, A. M., & Mejía-Franco, R. (2011). Capacidad embriogénica de callos inducidos en ejes embrionarios cigóticos de *Agave angustifolia* Haw. *Revista Fitotecnica Mexicana*, 34(2). <https://doi.org/10.35196/rfm.2011.2.101>
- Asghar, S., Ghorri, N., Hyat, F., Li, Y., & Chen, C. (2023). Use of auxin and cytokinin for somatic embryogenesis in plant: a story from competence towards completion. In *Plant Growth Regulation* (Vol. 99, Issue 3, pp. 413–428). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s10725-022-00923-9>

- Ayala-González, C., Gutiérrez-Mora, A., & Rodríguez-Garay, B. (2014). The occurrence of dicotyledonar embryos in *Agave tequilana*. *Biologia Plantarum*, 58(4). <https://doi.org/10.1007/s10535-014-0456-z>
- Carneiro, F. dos S., Queiroz, S. R. de O. D., Passos, A. R., Nascimento, M. N. do, & Santos, K. S. dos. (2014). Embriogênese somática em *Agave sisalana* Perrine: indução, caracterização anatômica e regeneração. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 44(3). <https://doi.org/10.1590/s1983-40632014000300005>
- Delgado-Aceves, L., González-Arnao, M. T., Santacruz-Ruvalcaba, F., Folgado, R., & Portillo, L. (2021). Indirect somatic embryogenesis and cryopreservation of *Agave tequilana* weber cultivar 'chato.' *Plants*, 10(2), 1–14. <https://doi.org/10.3390/plants10020249>
- Fehér, A. (2015). Somatic embryogenesis - stress-induced remodeling of plant cell fate. In *Biochimica et Biophysica Acta - Gene Regulatory Mechanisms* (Vol. 1849, Issue 4). <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2014.07.005>
- Flores-Benítez, S., Jiménez-Bremont, J. F., Rosales-Mendoza, S., Argüello-Astorga, G. R., Castillo-Collazo, R., & Alpuche-Solís, Á. G. (2007). Genetic transformation of *Agave salmiana* by *Agrobacterium tumefaciens* and particle bombardment. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 91(3). <https://doi.org/10.1007/s11240-007-9287-3>
- García-Mendoza A. (2002). Distribution of *Agave* (Agavaceae) in Mexico. *Cactus and Succulent Journal*. https://www.researchgate.net/profile/Abisai-GarciaMendoza/publication/303263665_Distribution_of_Agave_Agavaceae_in_Mexico/link/s5b3676cdaca2720785f8e251/Distribution-of-Agave-Agavaceae-in-Mexico.pdf
- Gutiérrez-Mora, A., Guillermina, A., Rodríguez-Garay, B., Ascencio-Cabral, A., & Li-Wei, L. (2012). Plant Somatic Embryogenesis: Some Useful Considerations. In *Embryogenesis*. <https://doi.org/10.5772/36345>
- Hernández-Solis, M., Arzate-Fernández, A. M., Martínez-Martínez, S. Y., & Acosta-Villagrán, L. (2023). Effect of promoting compounds of indirect somatic embryogenesis in three *Agave* species. *Agrociencia*. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i1.2858>
- Leljak-Levanić, D., Bauer, N., Mihaljević, S., & Jelaska, S. (2004). Changes in DNA methylation during somatic embryogenesis in *Cucurbita pepo* L. *Plant Cell Reports*, 23(3). <https://doi.org/10.1007/s00299-004-0819-6>
- Little, E. L., & Gentry, H. S. (1983). Agaves of Continental North America. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 110(3). <https://doi.org/10.2307/2996199>
- Liu, Y., Li, X., Zhao, J., Tang, X., Tian, S., Chen, J., Shi, C., Wang, W., Zhang, L., Feng, X., & Sun, M. X. (2015). Direct evidence that suspensor cells have embryogenic potential that is suppressed by the embryo proper during normal embryogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(40). <https://doi.org/10.1073/pnas.1508651112>
- López Díaz, S., & Rodríguez Garay, B. (2008). Simple methods for in vitro pollen germination and pollen preservation of selected species of the genus *Agave*. *E-Gnosis*, 6(2). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=73011197002www.redalyc.orgwww.egnosis.udg.mx/vol6/art2>
- Martínez-Palacios, A., Ortega-Larrocea, M. P., Chávez, V. M., & Bye, R. (2003). Somatic embryogenesis and organogenesis of *Agave victoriae-reginae*: Considerations for its conservation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 74(2). <https://doi.org/10.1023/A:1023933123131>
- Molina-Vega, A., Hernández-Domínguez, E. M., Villa-García, M., & Álvarez-Cervantes, J. (2021). *Comadia redtenbacheri* (Lepidoptera: Cossidae) and *Aegiale hesperiaris* (Lepidoptera: Hesperidae), two important edible insects of *Agave salmiana* (Asparagales: Asparagaceae): a review. In *International Journal of Tropical Insect Science* (Vol. 41, Issue 3, pp. 1977–1988). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00396-1>
- Monja-Mio, K. M., & Robert, M. L. (2013). Direct somatic embryogenesis of *Agave fourcroydes* Lem. through thin cell layer culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 49(5). <https://doi.org/10.1007/s11627-013-9535-7>

Recibido:
18/abril/2023

Aceptado:
30/junio/2023

- Monja-Mío, K. M., & Robert, M. L. (2016). Somatic embryogenesis in *Agave*: An overview. In *Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-0_17
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3). <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>
- Nava-Cruza, N. Y., Medina-Morales, M. A., Martinez, J. L., Rodriguez, R., & Aguilera, C. N. (2015). *Agave* biotechnology: An overview. In *Critical Reviews in Biotechnology* (Vol. 35, Issue 4, pp. 546–559). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.923813>
- Nikam, T. D., Bansude, G. M., & Aneesh Kumar, K. C. (2003). Somatic embryogenesis in sisal (*Agave sisalana* Perr. ex. Engelm). *Plant Cell Reports*, 22(3). <https://doi.org/10.1007/s00299-003-0675-9>
- Phillips, G. C., & Collins, G. B. (1979). In Vitro Tissue Culture of Selected Legumes and Plant Regeneration from Callus Cultures of Red Clover 1. *Crop Science*, 19(1). <https://doi.org/10.2135/cropsci1979.0011183x001900010014x>
- Portillo, L., Santacruz-Ruvalcaba, F., Gutiérrez-Mora, A., & Rodríguez-Garay, B. (2007). Somatic embryogenesis in *Agave tequilana* Weber cultivar azul. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 43(6). <https://doi.org/10.1007/s11627-007-9046-5>
- Puente-Garza, C. A., Gutiérrez-Mora, A., & García-Lara, S. (2015). Micropropagation of *Agave salmiana*: Means to production of antioxidant and bioactive principles. *Frontiers in Plant Science*, 6(NOVEMBER), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01026>
- Reyes-Díaz, J. I., Arzate-Fernández, A. M., Piña-Escutia, J. L., & Norman-Mondragón, T. H. (n.d.). THE EFFECT OF INOSITOL, PYRIDOXINE AND THIAMINE ON SOMATIC EMBRYOGENESIS OF *Agave angustifolia* † [EL EFECTO DEL INOSITOL, PIRIDOXINA Y TIAMINA EN LA].
- Reyes-Díaz, J. I., Arzate-Fernández, A. M., Piña-Escutia, J. L., & Vázquez-García, L. M. (2017). Media culture factors affecting somatic embryogenesis in *Agave angustifolia* Haw. *Industrial Crops and Products*, 108, 81–85. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.06.021>
- Rodríguez-Garay, B. (2016). Somatic embryogenesis in *Agave* spp. In *Somatic Embryogenesis: Fundamental Aspects and Applications*. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33705-0_16
- Rodríguez-Garay, B., Gutiérrez-Mora, A., & Acosta-Dueñas, B. (1996). Somatic embryogenesis of *Agave victoria-reginae* Moore. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 46(1). <https://doi.org/10.1007/BF00039700>
- Rodríguez-Garay, B., López-Díaz, S., Rodríguez-Domínguez, J. M., Gutiérrez-Mora, A., & Tapia-Campos, E. (2018). Application of in Casa Pollination and Embryo Rescue Techniques for Breeding of *Agave* Species. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1815). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8594-4_20
- Rodríguez-Sahagún, A., Acevedo-Hernández, G., Rodríguez-Domínguez, J. M., Rodríguez-Garay, B., Cervantes-Martínez, J., & Castellanos-Hernández, O. A. (2011). Effect of light quality and culture medium on somatic embryogenesis of *Agave tequilana* Weber var. Azul. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 104(2). <https://doi.org/10.1007/s11240-010-9815-4>
- Santacruz-Ruvalcaba, F., Gutierrez-Mora, a, & Rodriguez-Garay, B. (1998). Somatic embryogenesis in some cactus and agave species. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 3.
- Santacruz-Ruvalcaba, F., Gutiérrez-Pulido, H., & Rodríguez-Garay, B. (1999). Efficient in vitro propagation of *Agave parrasana* Berger. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 56(3). <https://doi.org/10.1023/A:1006232911778>
- Tejavathi, D. H., Rajanna, M. D., Sowmya, R., & Gayathamma, K. (2007). Induction of somatic embryos from cultures of *Agave vera-cruz* Mill. *In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant*, 43(5). <https://doi.org/10.1007/s11627-007-9088-8>

FLAVONOIDS, ANTHOCYANINS AND TOTAL MACRONUTRIENTS IN HANDMADE PRODUCTS OF BLACKBERRY (*Rubus* sp.) FROM ATECAXIL, VERACRUZ, MEXICO

FLAVONOIDES, ANTOCIANINAS Y MACRONUTRIENTES TOTALES EN PRODUCTOS ARTESANALES DE ZARZAMORA (*Rubus* sp.) DE ATECÁXIL, VERACRUZ, MÉXICO

Felipe-Mendoza, Neil Abdiel; María de Jesús Martínez-Hernández; María del Carmen Ramírez-Benítez; Karla Daniela Hernández-González; Jorge Molina-Torres; Mayvi Alvarado-Olivarez y Vianey del Rocío Torres-Pelayo

FLAVONOIDS, ANTHOCYANINS AND TOTAL MACRONUTRIENTS IN HANDMADE PRODUCTS OF BLACKBERRY (*Rubus* sp) FROM ATECAXIL, VERACRUZ, MEXICO

FLAVONOIDES, ANTOCIANINAS Y MACRONUTRIENTES TOTALES EN PRODUCTOS ARTESANALES DE ZARZAMORA (*Rubus* sp) DE ATECÁXIL, VERACRUZ, MÉXICO



Flavonoids, anthocyanins and total macronutrients in handmade products of blackberry (*Rubus* sp) from Atecoxil, Veracruz, Mexico

Flavonoides, antocianinas y macronutrientes totales en productos artesanales de zarzamora (*Rubus* sp) de Atecoxil, Veracruz, México

Felipe-Mendoza, Neil Abdiel;
María de Jesús Martínez-
Hernández; María del Carmen
Ramírez-Benítez; Karla
Daniela Hernández-González;
Jorge Molina-Torres;
Mayvi Alvarado-Olivarez y
Vianey del Rocío Torres-Pelayo

FLAVONOIDS,
ANTHOCYANINS AND
TOTAL MACRONUTRIENTS
IN HANDMADE PRODUCTS
OF BLACKBERRY (*Rubus* sp)
FROM ATECOXIL,
VERACRUZ, MEXICO

FLAVONOIDES,
ANTOCIANINAS Y
MACRONUTRIENTES
TOTALES EN PRODUCTOS
ARTESANALES DE
ZARZAMORA (*Rubus* sp) DE
ATECOXIL, VERACRUZ,
MÉXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 183-201. Julio 2023

DOI:
10.18387/polibotanica.56.10

Neil Abdiel Felipe-Mendoza

*Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n,
Zona Universitaria, C.P. 91000 Xalapa, Veracruz, México.*

María de Jesús Martínez-Hernández

*Facultad de Ciencias Agrícolas, Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n,
Zona Universitaria, C.P. 91000 Xalapa, Veracruz, México.*

María del Carmen Ramírez-Benítez

Karla Daniela Hernández-González

*Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n,
Zona Universitaria, C.P. 91000 Xalapa, Veracruz, México.*

Jorge Molina-Torres

*Laboratorio de Fitobioquímica, Departamento de Biotecnología y Bioquímica,
CINVESTAV-IPN, Unidad Irapuato, Km 9.6 Libramiento Norte
Carretera Irapuato-León, C.P. 36824 Irapuato, Guanajuato, Gto., Mex.*

Mayvi Alvarado-Olivarez

*Instituto de Neuroetología, Universidad Veracruzana, Av. Dr. Luis Castelazo Industrial
de las ánimas, Rubi Animas, C.P. 91190 Xalapa-Enríquez, Veracruz. México.*

Vianey del Rocío Torres-Pelayo / vitorres@uv.mx

*Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Circuito Gonzalo Aguirre Beltrán s/n,
Zona Universitaria, C.P. 91000 Xalapa, Veracruz, México.*

RESUMEN: El fruto de zarzamora (*Rubus fruticosus*) es considerado alto en fibra, vitaminas, minerales y antioxidantes y se destacan por tener propiedades terapéuticas. Sin embargo, es importante determinar si estos antioxidantes aún se conservan en alimentos o frutas procesados; y brindar al consumidor información nutricional de este producto, el cual ha tenido una gran demanda en la región centro del Estado de Veracruz. El objetivo principal fue determinar los contenidos totales de flavonoides y antocianinas en la mermelada y licor de zarzamora artesanal; así como la cantidad de carbohidratos, lípidos y proteínas totales en estos productos, elaborados en Atecoxil, Veracruz, México. Se realizó un tamiz fitoquímico preliminar cualitativa y Cromatografía en Capa Fina de Alta Resolución (HPTLC, por sus siglas en inglés) en frutos, licor y mermelada artesana de zarzamora l. Los flavonoides y antocianinas totales se cuantificaron en la mermelada y licor artesanal de zarzamora por espectrofotometría, durante los tres años de producción. Con la prueba fitoquímica cualitativa, se encontró mayor presencia (+++) de alcaloides y flavonoides tanto en el fruto como en ambos productos artesanales. Se observó en la placa cromatográfica, bandas de color púrpura a púrpura claro, que son características de las antocianinas (Rf 0.2 a 0.3). Durante los tres años de producción la concentración de flavonoides y antocianinas fue similar, comparando entre los productos, hay mayor cantidad de flavonoides totales en la mermelada (43,6 mg) que en el licor (16,0 mg). Las antocianinas se encontraron en mayor cantidad en la mermelada de mora (59,3 mg) que

en el licor de mora (23,6 mg). El licor de zarzamora artesanal se encontró un valor energético de 82,48 kJ/19,7 kcal por 15 mL, 3,5 g de carbohidratos, 0,1 g de lípidos y 0,1 g de proteína total, 33 porciones por envase (cada porción de 15mL). En la mermelada de zarzamora artesanal se encontró un valor energético de 110.11kJ/26.3 kcal por 10 g, 6g de carbohidratos, 0.1 g de lípidos y 0.1 g de proteína total, 34 porciones cada envase (cada porción de 10 g). Estos productos artesanales podrían competir en el mercado; debido que aún se preservan los flavonoides y antocianinas, y su valor energético podría proporcionar información importante al consumidor.

Palabras claves: Alimento, productos comerciales, *Rubus* sp., antioxidantes, fitoquímicos.

ABSTRACT: The fruit of blackberry (*Rubus fruticosus*) bush is considered high in fiber, vitamins, mineral and some components are considered as antioxidants, they stand out by their therapeutic properties. Nevertheless, it is important to determine if these antioxidants are still retained in processed food; and to provide the consumer nutrimental information of this product, which has been in great demand in the central region of the State of Veracruz. The main objective was to determine the total contents of flavonoids and anthocyanins in jelly and handmade blackberry liqueur; as well as the amount of total carbohydrates, lipids and proteins contained in these products, produced in Atecoxil, Veracruz, Mexico. A preliminary phytochemical analysis and High Performance Thin Layer Chromatography (HPTLC) were performed on fruits, liquor and jelly of blackberry handmade. Total flavonoids and anthocyanins were quantified by spectrophotometry, during the three years of production. In the three samples there was a higher presence of alkaloids and flavonoids (+++). Bands purple color to light purple were observed on the chromatography plate (Rf 0.2 a 0.3), they are characteristic of anthocyanins. During the three years of production, the concentration of flavonoids of flavonoids and anthocyanins were similar, comparing between the products, there is a greater concentration of total flavonoids in jelly (43.6 mg) than in liqueur (16.0 mg). Anthocyanins were found in higher concentration in the blackberry jelly (59.3mg) than in the blackberry liqueur (23.6 mg). Both products recovered total flavonoids and anthocyanins, after the processing of the blackberry fruit. The handmade liqueur had an energetic value of 82.48kJ/19.7 kcal per 15 mL, 3.5g of carbohydrates, 0,1 g of lipids and 0.1 g of total protein, 33 serving per container (each portion or serving of 15 mL). In the artisanal blackberry jelly there was an energetic value of 110.11kJ/26.3 kcal per 10 g, 6g of carbohydrates, 0.1 g of lipids and 0.1 g of total protein, 34 portions each container (each portion of 10g). These products could compete in the handmade market, because the total flavonoids and anthocyanins are still preserved during the fabrication of the product; which could provide important information to the consumer.

Key words: Functional foods, Craft products, *Rubus* sp., Antioxidants, Phytochemical.

INTRODUCTION

The fruit of blackberry belonging to the genus *Rubus* of the Rosaceae family, is a perennial shrub with aggregate fruit and is considered widely varied all over the world (Li *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2012). In the zone of the mountain mesophilic forest of the central region of the state of Veracruz, it is one of the states in which blackberry is cultivated, as wild blackberries as introduced ones; and they are consumed mainly as fresh fruit, in jellies, and a liqueur known as “morita”. These fruits are obtained from the cultivars in the field of localities of the central region of the State of Veracruz. For example, Atecoxil, Ixhuacan de los Reyes, Veracruz, Mexico is a locality rich in culture and most of the population has been devote to the sale of goat cheese, breeding creole poultry, egg production and the elaboration of handmade products derived from bush berry, as an economic sustenance source. These products are made by a local family which is dedicated to producing jelly and handmade liqueur made of blackberry (*Rubus fruticosus*). Previous research has reported that the fruit of bush berry (*Rubus* spp) has a great number of polyphenolic components (Robinson *et al.*, 2020), and is a rich source of minerals, vitamins (such as vitamins E and C), calcium, flavonoids, anthocyanins, ellagic acid,

ellagitannins, epi/catechin, and proanthocyanidins (Baby *et al.*, 2018). In recent years, consumers have shown increasing interest in blackberries due to their rich nutrient content, which are considered nutraceutical to human health (Li *et al.*, 2022). The anthocyanins are natural colorants (Morata *et al.*, 2019) and some are considered as bioactive compounds (Huang *et al.*, 2022). They could be functional products due to presence of these phenolic compounds, which are considered as chemopreventive, antiinflammatory agents, antioxidant capacity and neuroprotective effects (Gardener *et al.*, 2021; Zannou & Koca, 2022). Also, diets higher in flavonoids appear nutritionally beneficial in the prevention of cardiovascular disease (Parmenter *et al.*, 2020; Santacruz Cifuentes, 2011). However, it is unknown if antioxidants are still preserved in processed products. Several studies have investigated the effects of juice processing on blueberry polyphenolics, for example, in black mulberries jelly (*Morus nigra*), the content of antioxidants in the processed fruit it decreases (Tomas *et al.*, 2017), but approximately, 60-70% of the fruit anthocyanins were retained in the final juice (Tomas *et al.*, 2015); however, these variations should not be generalized for all processed foods, because mashing and pressing some times are effective for the recovery of fruit polyphenolics into the juice fraction. Thus, it is important to evaluate the presence of these phenolic compounds in processed products, in this case, handmade products, and we could contribute to the knowledge and relevant nutrimental information to producers and consumers. The handmade products do not have nutrimental information available for consumers and have had a huge demand in the central region of the State of Veracruz. The main objectives of this study were 1) to determine the presence of flavonoids and total anthocyanins in cultivated fruits "*Rubus fruticosus*", as well as in derived products, liqueur and handmade blackberry jelly, and 2) to determine carbohydrates, lipids, proteins total and the energetic value measured in calories and number of portions by container of handmade blackberry products elaborated in Atecáxil, Ixhuacán de los Reyes, Veracruz, Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Collection of handmade products

The locality of Atecaxil, geographically is located in Municipality of Ixhuacan de los Reyes of the state of Veracruz, Mexico, in the coordinates Length (dec) -97.076389 and Latitude (dec) 19.373611, with a height of 1580 meters above sea level (msnm by its abbreviation in Spanish). Jars of liqueur and blackberry jelly bottled of the community of Atecaxil, Ixhuacan de Los Reyes, Veracruz, were obtained in 2017, 2018 and 2019; each product by years were kept in freezer at -20 °C with thermostat (Black&Decker®) until their analysis at laboratory. Likewise, fruits of blackberry (*Rubus fruticosus*) cultivated in the town of Atecaxil, Ixhuacan de Los Reyes, Veracruz (Figura 1), were obtained during the months of March and May of each year. These were placed in a paper bag and stored in a container to be taken in the freezer at -20 °C (Black&Decker®) until their analysis at laboratory by each year, and to avoid degradation of the phytochemicals.

Sample ethanolic extraction

Extracts of cultivated blackberry fruits (*Rubus fruticosus*) and jelly (5 g) were made by sonication with 100 mL ethanol to 96% (Cole-Parmer® 8891 ultrasonic bath) for 30 minutes, until the sample was depleted. Obtained extracts were concentrated under reduced pressure in a rotary evaporator (Avante®, RE100-Pro) at a controlled temperature (45°C). The blackberry liqueur was filtered with Whatman paper number one, and it was kept, previously labeled, in freezer at -20°C (Black&Decker®) for their analysis and to avoid degradation of the phytochemicals (Carmona-Hernández *et al.*, 2014).



Fig. 1. A) Cultivated blackberry fruits (*Rubus fruticosus*), B) Fruits collected of *Rubus fruticosus*, C) Mrs. Lupe preparing blackberry jelly in casserole.

Preliminary phytochemical screening

The identification of the secondary metabolites present in ethanolic extracts of fruits (*Rubus fruticosus*), jelly and blackberry liqueur, is carried out by qualitative tests for alkaloids, flavonoids, phenolic compounds, triterpenes/sterols, coumarins and saponins, using described method by (Domínguez, 1979) and modified by Carmona-Hernández *et al.*, (2014). All samples were analyzed by each year, If there was no variation in preliminary phytochemical screening, it was considered to analyze the handmade blackberry product at the end of production, only in year 2019.

High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)

The ethanolic extracts of fruit, liqueur and jelly of blackberry were applied on a glass plate Silica gel Merk 60 F254 (2 μm thick) of 10 by 10 cm. 3 μL of each sample were injected onto the plate, including 4 standards (routine, quercetin, chlorogenic acid and caffeic acid), bandwidth of 8 mm, first application on the X axis to 15.8 mm, first application on the Y axis 15 mm, distance between bands of 11.4 mm, application speed 10s/ μL . The plates were developed using a mobile phase of n-butanol - acetic acid - water (50:10:20: V/V), drying of the plate for 30s, followed by a saturation of 20 min at room temperature; and after the development a drying of 10 min. The derivatization was performed with Anisaldehyde-sulfuric acid (a universal reagent for natural products) by heating the plate at 100°C for 10 min (Agatonovic-Kustrin *et al.*, 2019; Wagner & Bladt, 1996). The derivatization was used for target-directed identification of biologically active molecules separated on chromatographic plates. The chromatographic plates were developed and visualized in visible light and at wavelengths at 254 and 366nm with the CAMAG AUTOMATIC TC SAMPLER 4 (CINVESTAV-IPN, Irapuato Unit, Guanajuato).

Total flavonoids content

The colorimetric method of aluminum chloride was used to determine total flavonoids (Martínez-Cruz *et al.*, 2011; Zhishen *et al.*, 1999). 200 μL of fruit extracts, jelly and blackberry liqueur were taken and mixed with 800 μL at 96% ethanol, plus 1mL of aluminum chloride at 2%. Subsequently, the mixture was incubated for 30 min at room temperature and in the absence of light. The absorbance was measured at 510nm in a spectrophotometer (JENWAY-GENOVA®). For the calibration curve, Quercetin solutions between 0-50 μg were used (Sigma Aldrich®). Total flavonoid content was expressed as milligrams (mg) Quercetin (EQ) equivalents/100 g of sample. This procedure was carried out with each of the extracts obtained in triplicate.

Total anthocyanins content

Determination of total anthocyanins was carried out by the method described by (Di Stefano & Flamini, 2008) and method modified by (Ivanova *et al.*, 2010). 200µL of fruit sample, jelly and blackberry liqueur were mixed with 1800µL of an ethanol solution/ H₂O/HCl (70:30:1), pH 2 and immediately afterwards the absorbance at 540 nm was measured in a spectrophotometer (JENWAY-GENOVA®). The content of total anthocyanins was calculated using the following equation:

$$AT\ 540nm\ (mg/L) = A_{540nm} * 16.7 * d$$

Where: A_{540nm} is the absorbance and, d is the dilution and 16.7, molar extinction coefficient of malvidin-3-glucoside, using described method modified by Ivanova *et al.*, (2010).

Statistical Analysis

Total flavonoids and anthocyanins content were reported as means ± standard deviation of five samples by years. The data were subjected to analysis of variance (ANOVA) to repeated samples and were compared with a Tukey test ($P \leq 0.05$). All statistical analyses were performed using the STATISTICA® program for Windows.

Basic Nutritional Profile of Products

Random containers were obtained of each product (10 containers), blackberry liqueur and jelly. To quantify carbohydrates, lipids and total proteins, from each sample of blackberry liqueur and jelly. First were obtained the constant weight to determine dry weight and percentage of humidity in the samples to be analyzed. Then, 5g of jelly and 5mL of liqueur were used to determine the amount of carbohydrates, lipids and total proteins following the protocol (Analytical Official Chemists Association guide was considered, "AQAO by its abbreviation in Spanish" 2015).

Total Carbohydrates Quantification

It was used the method described by (López-Legarda *et al.*, 2017) which consisted of taking aliquots of 2mg of blackberry liqueur and blackberry jelly in which 1mL of phenol were added at 5% and 5mL of H₂SO₄ absolute concentration. The tubes were shaken for 30 seconds approximately, until to be mixed. The reaction of samples was stopped in cold bath during a period of 20 minutes, once the reaction was stopped, a reading in the spectrophotometer (JENWAY-GENOVA®) was carried out at 490nm. The values obtained of absorbance were helpful to plot a graph which is very crucial in estimating carbohydrate content. The calibration curve took place with a glucose standard (100mg/mL), repeating the same method used previously.

Total Lipids Quantification

It was used the method modified by (Lykke & Padonou, 2019), to determine the total Lipids Quantification, which consisted of homogenizing 5g of liqueur dry extract (extracts previously obtained to eliminate alcohol, humid and impurities) with 10mL of chloroform and 20mL of methanol; the same procedure was used with 5g of blackberry jelly (extracts previously obtained). Later, another 10mL of chloroform were added and homogenized for 1min. When the procedure ended, 10mL of water were added and it was homogenized for 1 more min. The mixture was filtered with Whatman paper number 1, the paper was set in a Buchner funnel in vacuum. The filtered mixture was transferred to a test tube of 50mL, once again the filter was washed with 10mL of chloroform, and it was filtered one more time. The filtered solution was left to rest until obtaining chloroform and methanolic phase, since separation was obtained, methanolic superior phase was withdrawn with a Pasteur pipette and the volume of chloroform phase was transferred to a flask previously weighed (first weighting of flask). Later, it was set in water bath to 50°C in order to evaporate chloroform phase and the remaining was dried over anhydrous phosphoric in a desiccator in vacuum. After that, the flask was weighed for a second time, and 5mL of chloroform was added to extract lipids. This solution was poured into another

flask, cleaned and dried previously. The flask containing lipids evaporated one more time and it was weighed for third time.

The next calculation was carried out.

Lipids weight = *weight of flask that containing lipids evaporated X total volume of chloroform used (30mL) / evaporated chloroform volume.*

Total Protein Quantification

It was used the Biuret method (Ceballos Luna *et al.*, 2018; Coutiño *et al.*, 2015), which consisted of adding 0.5mL of liqueur and 0.5g of blackberry jelly in test tubes. In each test tube containing the samples, 1mL of NaCl were added in 0.9% and 3mL of Biuret reactive, subsequently, it was mixed till homogenize. The obtained mixtures were heated to 50°C in water bath for 10min, when it finished a reading was carried out in the spectrophotometer at 540nm a calibration curve was taken in albumin standard (100mg/mL), repeating the procedure used before.

Elaborating Nutritional Information

To elaborate the nutritional information of homemade products of berry and to obtain the energy calculation from conversion factors, it was used the method described by (Salvador Badui Dergal, 2006) and (Pérez Grana, 2013) while consisted in used accuracy of food composition tables in the determination of nutrients. As well, it was determined the amount of carbohydrates, lipids and total proteins by each portion of blackberry liqueur and jelly, 15mL of liqueur and 10g of homemade blackberry jelly. The reported values were converted into the same units and synthetized in a table. The Mexican official standard NOM-051-SCFI-1995 was used to reference the table of homemade products.

RESULTS AND DISCUSSION

Preliminary phytochemical analysis

The qualitative analysis for secondary metabolites in the fruit of blackberry, jelly and handmade liqueur in three years showed a similar pattern. Mainly displayed presence of alkaloids and flavonoids; and minor presence of saponins, terpenes and steroids. However, in all samples, coumarins had a low presence (Table 1, only showed results in 2019). These results were similar during the three years and are therefore an important parameter to evaluate the phenolic contents in *Rubus fruticosus* of Atecacil, Ver.; mainly the anthocyanins and total flavonoids content in fruit, jelly and handmade blackberry liqueur was carried in the final year of production on 2019. (Mulero *et al.*, 2011) reported antioxidant activity in all 3 types of wine elaborated and found no differences in the concentrations of the different types of phenolic compounds in wine made with the 3 different methods, and during 3 months of storage showed a similar pattern. Thus, we still found the prevalence of alkaloids and flavonoids in the fruit of blackberry (*Rubus fruticosus*) and in processed blackberry products of Atecacil, Ver. These qualitative findings, depends, not only on the quantity of sample, but also on the bond and/or interaction of these compounds with other molecules, on the location in the food matrix, and the presence of other bioactive compounds into samples (Minatel *et al.*, 2017). During the cooking process, the temperature thermal may to destruction of cell wall and other subcellular components, stimulating the release of these compounds (alkaloids, flavonoids, saponins, terpenes and steroids) and were stable during the manufacturing process. Several research studies have shown increase in the phenolic compound levels, as well as in the antioxidant activity after cooking (Leong & Oey, 2012; Murador *et al.*, 2016). It's important pointing, there are indications that the retention of phytochemicals and the antioxidant properties are present after the cooking and vary considerably between the different vegetables and methods used in their preparation ((Jiménez-Monreal *et al.*, 2009; Minatel *et al.*, 2017; Pellegrini *et al.*, 2009). However, is important to remember that the exact composition of blackberries is highly dependent on the cultivars, cultural practices and numerous preharvest factors, especially

climatic and soil conditions (Vergara *et al.*, 2016). Mainly the flavonoids are a group of natural substances with variable phenolic structures and are widely distributed in plants; recently, 26 phenolics compounds were identified and quercetin and isoquercitrin were the predominant phenolic compounds in the fruit in *Rubus ulmifolius* (Schulz *et al.*, 2019). In year previous, have been reported thousands of phenolic antioxidant compounds exist and are classified into several categories based on structural similarities (Craft *et al.*, 2012), in the maturation stages (Schulz *et al.*, 2019). For example, separated phenolics into seven categories: phenolic acids, coumarins, flavonoids, isoflavonoids, stilbenes, lignans, and phenolic polymers (tannins), hydroxybenzoic acids, flavan-3-ols and anthocyanin. These groups differ from each other in functional group placement, or the addition of a chemical moiety as in glycosylation. These results reinforce the prevalence potential of flavonoids alkaloids, saponins, terpenes and steroids in blackberry fruit (*Rubus fruticosus*) and liqueur and handmade jelly from Atecaxil, Ixhuacan de Los Reyes, Veracruz (Table 1). On the other hand, there are limited information is available on how different processing methods in processed products, impact on the polyphenolic content of the fruit (Brownmiller *et al.*, 2009), which is implied by an increase of its bioavailability in the human body when they consume it.

Table 1. Qualitative result of preliminary phytochemical analysis of samples from blackberry fruit, liqueur and handmade jelly from Atecaxil, Ixhuacan de Los Reyes, Veracruz, on year 2019.

Compound	Alkaloids			Flavonoids			Saponins	Coumarins	Terpenes/ steroids	
Products	Qualitative Tests									
	M	D	W	A	C	S	F	SL	Co	LB
Blackberry fruit	++	+++	++	+	+++	+++	++	n/d	+	+
Jelly	-	++	++	++	+++	++	-	n/d	+	-
Liqueur	-	++	+++	-	+++	++	++	n/d	+	++

Alkaloids: M= Mayer Test, D= Drangendorff y Test, W= Wagner Test. Flavonoids: A= H₂SO₄ Test, C= FeCl₂ Test, S= Shinoda Test. Saponins: F= Foam Test, SL= Lieberman Test. Coumarins: Co= Fluorescence Test. Triterpenes and/or Sterols: LB= Lieberman-Bouchard Test. Intensity: major +++, medium ++, low +, null - and n/d non-determined.

High-Performance Thin-Layer Chromatography

The plate observed in visible light (RT-White), was found in the sample of fruit and liqueur of blackberry a band of brown to red light brick color with a R_f of retention 0.25 and another thin band with a R_f 0.4. While, in the jelly sample, a band from purple to light purple was observed with a R_f 0.3. Also, a wavelength of 254 nm, light bands were observed in the three samples, with a R_f 0.25, they were observed in visible light; but with a single variation of bands observed with a R_f 0.8 (Fig. 2). Finally, at a wavelength of 366nm, bands with a similar R_f 0.4, 0.6 and 0.85 were observed both in fruit and blackberry liqueur. On the other hand, a R_f 0.15 and 0.45 were observed in liqueur (Fig. 2). These similarities and differences indicate that there are compounds shared, at least, some similar chemical structures or they are similar compounds. Observed coloration in visible light between fruit, liqueur and blackberry jelly, can indicate that both in fruit and products, there are compounds that are maintained after the elaboration process, bottled and shelf life. Also, the pigments continue to be observed. Similar studies in blackberry fruits of the species *Rubus adenotrichus* Schldl and other wild blackberries (*Rubus* spp) from the central region of Veracruz, have reported presence of these pigments (Aguilera-Otíz *et al.*, 2011; Morata *et al.*, 2019), known as anthocyanins (Martínez-Cruz *et al.*, 2011). Aguilera-Otíz *et al.*, (2011) reported that intensification of blue coloration is due to increase of phenolic ring hydroxyls, while introduction of methoxyls cause the formation

of red color. Also, (Morata *et al.*, 2019) reported that the color of natural anthocyanins covers most of the visual spectra from yellow - orange to blue-violet. The stability of anthocyanins depends on several parameters, such as pH, temperature, and oxidative conditions, but they are normally quite stable in acidic media. Likewise, it has been reported that in aqueous solutions, pigments are basically stable, and they have an intense red color, and at pH above 7, quinoidal shapes are present (A, A-) purple color that is degraded rapidly because of oxidation with air; sometimes when oxygen is excluded from the system, color deterioration is not observed (Garzón, 2008; Morata *et al.*, 2019). Thus, during the elaboration and conservation of handmade products from the locality Atecaxil; these chemical factors mentioned before, had not effect on pigments, since purple color or light purple or blue and brown tones to light brick red are still observed in both products; aversely, temperature applied in the elaboration of blackberry jelly did not affect, and the cane alcohol added to the blackberry liqueur, could detonate particular features in each product. Therefore, during the elaboration process of these products, it is possible to detect pigments light brick brown-reddish coloration in blackberry handmade liqueur, meanwhile in blackberry jelly from purple to light purple color can be observed (Fig. 2-C and 3). In this study, we found pigments still when submitted to thermal processing, in water or ethanol (Fig. 2). (Kalt *et al.*, 2020), reported two blueberry polyphenolic compounds, including both flavonoid and nonflavonoid types. There are abundant nonflavonoid polyphenolic compounds in blueberries are the hydroxycinnamic acid esters (especially chlorogenic acid). In our results, we found bands con Rf similarities to standard chlorogenic acid (Fig. 3 A).

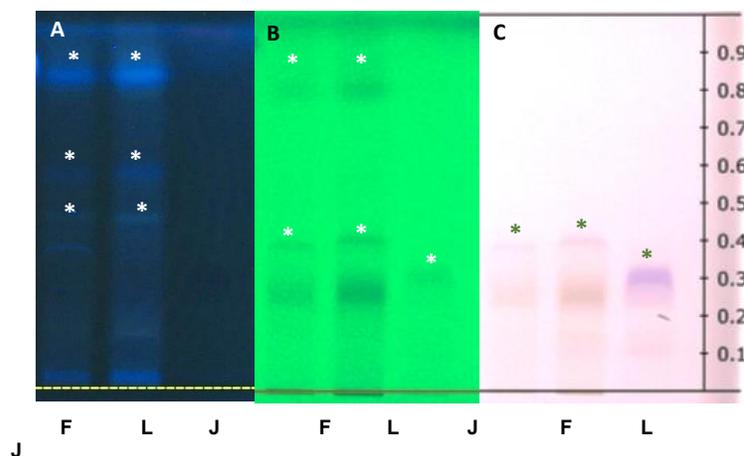


Fig. 2. High performance thin layer chromatography of Fruit (F), Liqueur (L) and blackberry Jelly (J) observed at wavelengths of 366nm (A), 254 nm (B) and RT White (C); observing the separation of compounds reflected in bands, with similarity and difference between Rf's each sample [Indicated with an asterisk in white (A and B) and green (C)].

It can be observed, bands Rf similar to the standards used (Rutin, Quercetin, Chlorogenic Acid and Caffeic Acid) whit the technique not derivatized (Fig. 3-A), between fruits and liqueur showed similar results. While that derivatized with Anisaldehyde-Sulfuric Acid (AS) reagent, it is reflected the separation of others compounds in Rf's each sample (Fig. 3-B), i.e., all samples revealed additional bands in the upper part of the chromatograms, showed similar results (Rf 0.09 to 0.27) between fruits, liqueur and handmade blackberry Jelly. Among the factors that affect the leaching of matrix compounds, we can include the polarity of medium used; such as water, allow changes in the phenolic compound levels. In contrast, if the medium is nonpolar (use of oil for frying, in both deep frying and pan frying), the loss of compounds is lower due to the lack of diffusion or migration to the medium or, may be due to the amount of fruit used to

make the homemade jelly and the fruit, flavonoids were retained more in the jelly than liqueur. Blackberry contains abundant phenolic compounds, including anthocyanins (Cyanidin, Delphinidin, Malvidin, Peonidin), flavonols and chlorogenic acids (Sandoval *et al.*, 2020). Some of these compounds are pigments that impart pleasant and characteristic colors to the fruits. Another hand, (Li *et al.*, 2022) found phenolic acids such as p-hydroxybenzoic acid, chlorogenic acid, coumarin, and syringic acid are the most widely available polyphenols in fruit juices (samples of blueberry, cherry and mulberry). The Rutin in mulberry juice is the highest polyphenol (420.87 $\mu\text{g/g}$). Therefore, the composition and content of phenolic substances are different in fruit juice. This authors, described in previous research that polyphenolic compounds are the material basis for the flavor, color, and nutritional properties of fruits, which directly affect the taste and quality of fruits and fruit-based processed foods (Maragò *et al.*, 2016), or depending on the type of used solvent, it can interfere in the number of compounds present in fruits (Lee *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2022). While Minatel *et al.*, (2017) mentioned that flavonols improved the color stability of mulberry juice during storage. In addition, blueberries are one of the richest sources of anthocyanins among common fruits (Wu *et al.*, 2006) and anthocyanins are the pigments that confer red, blue, and purple coloration. During berry ripening, anthocyanin content rises dramatically to provide a visual cue to distinguish between early to fully ripe fruit (Kalt *et al.*, 2020). Finally, in the three samples, indicate that there is presence of flavonoids and anthocyanins in blackberry jelly and liqueur (Fig. 3).

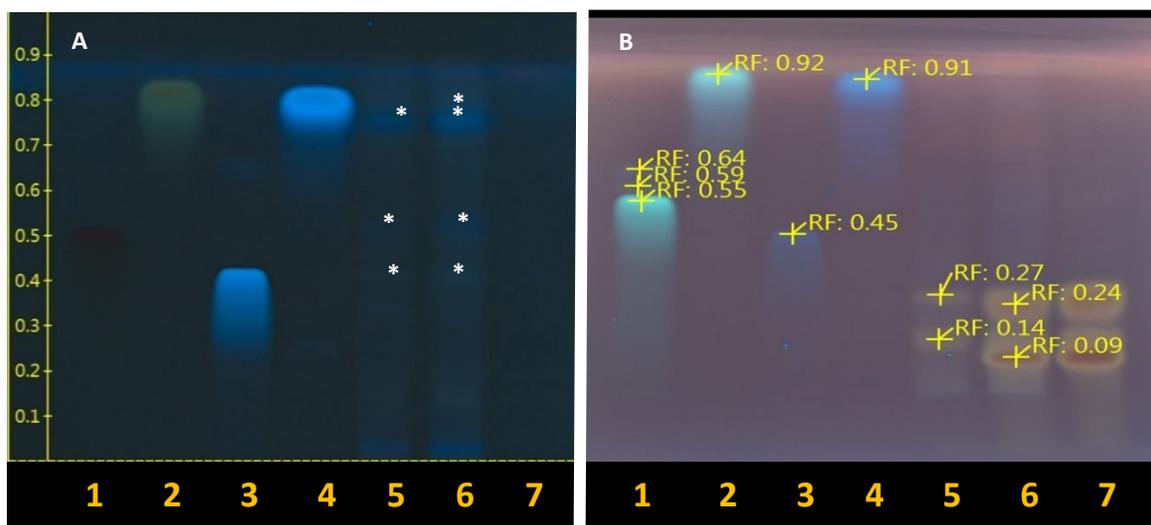


Fig. 3. High performance thin layer chromatography of Fruit (F), Liqueur (L) and blackberry Jelly (J) observed at wavelengths of 366nm. A) Not derivatized and B) Derivatized with Anisaldehyde-Sulfuric Acid (AS) reagent. 1: Rutin, 2: Quercetin, 3: chlorogenic acid; 4: Caffeic Acid, 5: blackberry fruit, 6: blackberry liqueur, 7: blackberry jelly. It is observing the separation of compounds reflected in bands, with similarity and difference between Rf's each sample [Indicated with an asterisk in white (A)].

In the table 2, showed content similar in total flavonoids and anthocyanins in fruit samples, handmade blackberry jam and liqueur, do not show significant year-by-year differences (Table 2). When comparing anthocyanin concentrations between handmade products, there are a higher concentration of anthocyanins in blackberry jelly and lower concentration in liqueur and fruit (Table 2), the fruit anthocyanins were retained in the final jelly, the temperature did not affect the presence of anthocyanins. The anthocyanins quantity found in handmade products may be due, firstly, to the amount of fruit used to make both products and state of maturity of the fruit as has been reported in Zarzamora (*Rubus ulmifolius*) by Borrego Corchado, (2018).

Similarly, previous studies by (Li *et al.*, 2022) reported an increment of anthocyanin content whit the increased gradual of the ripening stages of fruits. Also, indicated anthocyanins content in blackberry does not decrease with respect to the thermal processing of fruit, so they propose the idea that they are preserved and can be a good source of antioxidants (Bernal-Roa, 2012; Garzón, 2008). There is evidence that in the blackberry pulp have a concentration of monomeric anthocyanins between 6.05 to 7.37 mg/L (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2010) or ranged from 70.3 to 201 mg/100 g FW (fresh weight). In other studies have reported an average of 12.3 mg of anthocyanins (equivalent of malvidin-3-glucoside) for each gram of dried fruit of *Rubus adenotrichus* species (Martínez-Cruz *et al.*, 2011). Previous reports indicated that blueberries sample is quite different from those published for blueberries from other locations, being the major anthocyanins found peonidin-3-O-arabinoside and delphinidin-3-O-arabinoside (37.43 ± 4.76 and 34.43 ± 3.28 mg/100 g fresh weight, respectively) followed by malvidin-3-O-glucoside and petunidin-3-O-rutinoside (Johnson *et al.*, 2020; Yousef *et al.*, 2013). Mustafa *et al.*, (2022) also found anthocyanins were the main phenolic constituents in blueberry and strawberry. Furthermore, the higher total phenolic content in the blueberry fruit and jam justified their greater antioxidant capacity measured by DPPH free radical assay, compared to strawberry. Elez Garofulić *et al.*, (2012) reported that anthocyanins are the predominant wine pigments, transferred to wine from both fruit skin and pulp during the maceration process and the concentration oscillated in an extremely wide range, from 5.07 mg/L (CBW 2) to 217 mg/L (CBW 7), but there is difference between the conventional wines (76.2 mg/L) and organic wines, was considerably lower (53.5 mg/L) (Amidžić Klarić *et al.*, 2020). This is in accordance with the study of Johnson & Gonzalez de Mejia, (2012), that reported concentrations of total anthocyanins in blackberry wines in the range from 10.71 mg/L to 191.95 mg/L (expressed as cyaniding-3-glucoside equivalents) and an average concentration of 75.56 mg/L. Mudnic *et al.*, (2010) also reported an extremely wide range of total anthocyanin values for blackberry wines, i.e., from 13.4 ± 3 to 164 ± 3 mg/L (expressed as malvidin 3-glucoside equivalents) and found it to be comparable to total anthocyanins in red grape wine. In contrast, the results of the present study did not indicate a significant difference in total anthocyanins between the years, but there is significant difference between products. These variations may be due to studied species and the amount of used sample or location, cultivar, and time of harvest; as is reported by other authors (Bunea *et al.*, 2011; Fia *et al.*, 2018). However, the anthocyanin, cyanidin-3-O-glucoside (C3G) are consistently the predominant phenolic antioxidant found in blackberries and have been shown to have prominent bioactivity (Schulz *et al.*, 2019). Among the factors that affect the prevalence of compounds, is the polarity of medium used. Polar mediums, such as water and ethanol, allow changes in the phenolic compound levels (Gardener *et al.*, 2021; Pellegrini *et al.*, 2009).

Table 2. Total flavonoids and anthocyanins in fruit samples, handmade blackberry jelly and liqueur from Atecaxil, Ixhuacan de Los Reyes, Veracruz, during three years of production 2017 to 2019.

Sample	Total Flavonoids			Total Anthocyanins		
	2017	2018	2019	2017	2018	2019
Blackberry fruit	20.5 ± 2.8	26.1 ± 3.6	24.3 ± 1.0	12.37 ± 1.8	16.19 ± 0.7	13.26 ± 5.7
Jelly	38.8 ± 6.8	43.6 ± 1.3	38.0 ± 4.06	59.3 ± 4.4	54.6 ± 3.8	52.1 ± 2.6
Liqueur	16.0 ± 3.6	24.0 ± 3.4	20.0 ± 1.7	20.5 ± 3.8	23.6 ± 0.2	22.1 ± 3.2

Values are represented in miligramos (mg) and standard deviation from 3 replicates by years (ANOVA-Tukey test, $P \leq 0.5$).

Total Flavonoids expressed in milligram (mg) EQ/100g

Total Anthocyanins expressed in milligram (mg) of malvidin-3-glucoside/100g

On the other hand, when comparing total flavonoids concentrations between handmade products, there is a higher concentration in blackberry jelly and lower concentration in liqueur and fruit (Table 2). In blackberry jelly there is more fruits incorporated, while in blackberry liqueur has less fruit used for its preparation, according to the comments of the producing family. Similarly, other authors mention that black mulberry juice is rich in phenolic acids compared to the fruit and anthocyanins are highly retained during juice processing, approximately 60-70% (Tomas *et al.*, 2015, 2017), effectively, recover polyphenolics into the juice. Other authors have found (+)-Catechin and its isomer (–)-epicatechin, are consistently the most abundant flavan-3-ols (class of flavonoids) in blackberries (Robinson *et al.*, 2020). (Li *et al.*, 2022) analyzed polyphenols in fruit juice samples of blueberry, cherry and mulberry, they found that the yields of polyphenols extracted by ethanol from fruit juice samples were obviously higher than those by water and acetone. They determined how canning, puréeing and juicing of blueberries, as well as storage of processed products at 25°C, influenced the retention of chlorogenic acid, total flavonols, total anthocyanins, and total procyanidins. The retention of flavonols (57- 99%) and chlorogenic acid (64-100%) was greater than that of anthocyanins (42-72%) and procyanidins (19-78%). In non-clarified juices retained higher levels of chlorogenic acid, total flavonols, and total anthocyanins than clarified juices, but clarified juices contained higher levels of total procyanidins. The 97% retention of chlorogenic acid in non-clarified juices was much higher than the previously reported value (53%) for non-clarified blueberry juices (Skrede *et al.*, 2000). It was also found in organic blackberry wines (BW) than the concentration of caffeic acid and p-coumaric acid, both being higher in the organic BW samples than in conventional vines. While than the concentration of total flavonoids in the analyzed samples of blackberry wine ranged from 161 to 774 mg/L, and the mean concentration between the organic and conventional group of samples did not differ (Amidžić Klarić *et al.*, 2020). Another factor that affects the prevalence of compounds is the polarity of medium used, such as water and ethanol, allow changes in the phenolic compound levels (Gardener *et al.*, 2021; Pellegrini *et al.*, 2009). In any case, processing the fruit facilitated its subsequent extraction in our studies, we are recovering total flavonoids and anthocyanins after liqueur and jelly processing of the blackberry fruit (see Table 2). In this study, we confirmed that it is conserve the total flavonoids and anthocyanins and the elaboration process does not affect the presence of flavonoids; the antioxidant properties have been associated with their phenolic composition and particularly with the high content in anthocyanins and flavonoids. Genova *et al.*, (2016), mentioned that an appropriate management of fruit harvesting date, postharvest and processing may lead to an improvement in nutraceutical quality of juices or another product. The phytochemical quantity retained in fruits and vegetables, after the processing, depends on the stability of these compounds during the different food preparations. Molecular modifications induced by processing and the transformations that occur before the consumption are mainly related to the sensibility of the compounds to oxidation and/or isomerization (Leong & Oey,

2012). These researchers corroborating our results phytochemical, total flavonoids were maintained in fruit samples, handmade blackberry jam and liqueur From Atecaxil, Ver. Mex. Generally, it has been reported that blackberry (red fruits) are primary sources of flavonoids, and they can be associated with antioxidant activity (Bunea *et al.*, 2011; Geleijnse & Hollman, 2008; Lillo *et al.*, 2016; Martínez-Cruz *et al.*, 2011). The antioxidant content of blackberries and in particular their phenolic content ought to be considered as an important trait for breeding programmes (Clark *et al.*, 2011; Milošević *et al.*, 2012), as well as rural or urban areas. Minatel *et al.*, (2017) reported that even though there are innumerable studies comparing the biological actions and *in vitro* antioxidant activity of phenolics, and the function of its content in vegetables and consequently in human, there is no consensus about the best way of preparing/consuming fruits and vegetables intending preservation or to increase their antioxidant activity.

Total Carbohydrates, Lipids and Protein Quantification

Total carbohydrates concentration in homemade liqueur of blackberry was of 0.84 ± 0.5 mg/mL and in blackberry jelly was of 0.74 ± 0.5 mg/mL, studies carried out in raspberry wine (*Autumn bliss var*), have found a concentration of carbohydrates of 1.8 ± 0.3 mg/mL and, in red fruit wine, 2.2 ± 0.47 mg/mL (Sánchez Trujillo, 2013). Total lipids concentration in blackberry liqueur and jelly were of 0.0009 ± 0.2 µg/mL (9 mg/mL) and 0.0013 ± 0.15 µg/mL (1.3mg/mL), respectively. This variation in quantities can be due to two important factors, the amount of fruit used or the extraction only of the fruit juice during the manufacturing of blackberry liqueur, because, in the jelly was used all fruit. For instance, during the elaboration of blackberry jelly, producers used all drupe of the fruit, including seeds, meanwhile in blackberry liqueur, it was used only juice of fruit, therefore, it is reflected a higher amount of total lipids in jelly than in juice. Preceding studies such as, Cerón *et al.*, (2012) and Pantoja-Chamorro *et al.*, (2017) reported that content of fatty acids presents in the fruit of castle blackberry (*Rubus glaucus*), they have bigger numbers of unsaturated fatty acids within blackberry pips, such as, linoleic acid (61.6%) and linolenic acid (25%), attributing beneficial properties to human being. However, Zafra Rojas, (2019) reported low presence of lipids in subproducts of *Rubus fruticosus*. For example, in Zarzamora sauces (*Rubus fruticosus*), a low amount of fat was found for each sample of 100 gr (Ceballos Luna *et al.*, 2018). Lastly, the amount of proteins present in blackberry liqueur was 0.001 ± 0.047 mg/mL and in blackberry jelly, 0.004 ± 0.031 mg/mL of proteins were found. The seeds, fruits and leaves are important sources for both protein and fat. Fruits generally have lower content of protein, fat and minerals, but these components are still present. Studies done in red wine, found 0.001 mg/mL of proteins, while in blackberry jelly and strawberry jelly from well-known brands report in the label 0.002 mg/mL and 0.003 mg/mL of proteins, respectively (De Rosso *et al.*, 2009; Kassara *et al.*, 2022). In blackberry sauces, proteins totals ranged from 7 to 9% for each sample of 100 gr (Ceballos Luna *et al.*, 2018).

In blackberry liqueur had an energetic value of 18.9 kcal/15 mL, having in total 33 portions each container, meanwhile, in blackberry jelly, it was found an energetic value of 27.1 kcal/10 g, having around 34 portions by container (Table 3). Information on the nutrient composition of food is essential to estimate adequate nutrient intake both at individual and group levels (Joyanes & Lema, 2006). Vergara *et al.*, (2016) described that blackberry plays an important role in human nutrition, due to the elevated content of certain bioactive compounds including ascorbate, anthocyanins, phenolic acids, carbohydrates and proteins. In this present research, we corroborating that the handmade products could be highly competitive in the market. Likewise, there is not a significant difference when we comparing the two handmade products in the three years (data not relevant), while we can explain the color and unique flavor of the products. In addition, we provide the consumer, the amount of macronutrients ingested in each serving of both handmade products from Atecaxil, Ver., Mex, important knowledge for your health.

Table 3. Total macronutrients in handmade products of blackberry (*Rubus fruticosus*) from Atecoxil, Veracruz, Mexico in years 2019.

Blackberry Liqueur	Blackberry jelly
33 servings per-container/652.6 kcal	34 servings per-container/894.3 kcal
Serving Size 1 cup (15 mL)	Serving Size 1 tablespoon (10 g)
Energetic value 82.48kJ/19.7 kcal per 15 mL	Energetic value 110.11kJ/26.3 kcal per 10 g
Total Carbohydrate 3.5 ± 0.48 g	Total Carbohydrate 6 ± 0.51g
Lipids 0.1 ± 0.2 g	Lipids 0.1 ± 0.15 g
Protein 0.1 ± 0.05 g	Protein 0.1 ± 0.039g

CONCLUSIONS

In handmade blackberry products, there are presence qualitative of flavonoids and alkaloids; and minor presence of saponins, terpenes and steroids. In both products, is possible to observe pigments of purple color or light purple or blue and brown tones to light brick red. This color is plant pigments, and the anthocyanins are biologically active, water soluble and are responsible for blue, purple, and red colors, especially in fruits and blooms. Therefore, handmade blackberry products of Atecoxil, Ixhuacan de los Reyes, Veracruz., continued preserving the flavonoids and anthocyanins after of its manufacture, there was no difference in the flavonoid and anthocyanin contains between years, but there was difference in type products. These products could have antioxidant potential, as has been reported in blackberry fruit by other authors. Furthermore, we provide to consumer relevant information about metabolites source, flavonoids and total anthocyanins, which are important in the food field for human beings. Total macronutrients in handmade Blackberry Liqueur and jelly found, are relevant to new sources of information about total carbohydrate, lipids and protein for the Consumers.

ACKNOWLEDGMENT

We thank the student Álvaro Rafael Ruiz Rodríguez for being part of the work team and for having contributed part of the experiments of this work during his professional training and studies. To the family that produces liquor and handmade blackberry jelly from Atecoxil, Ixhuacan de los Reyes, Ver, Mex., for their hospitality and acquisition of the handmade products. SIVU Project, Faculty of Biology, UV. Xalapa, Ver., Mex.

LITERATURE CITED

- Agatonovic-Kustrin, S., Kustrin, E., Gegechkori, V., & Morton, D. (2019). High-Performance Thin-Layer Chromatography Hyphenated with Microchemical and Biochemical Derivatizations in Bioactivity Profiling of Marine Species. *Marine Drugs*, 17(3), 148. <https://doi.org/10.3390/md17030148>
- Aguilera-Otíz, M., Reza-Vargas, M. del C., Chew-Madinaveita, R. G., & Meza-Velázquez, J. A. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *BIOtecnia*, 13(2), 16–22. <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>
- Amidžić Klarić, D., Klarić, I., Mornar, A., Velić, N., & Velić, D. (2020). Assessment of Bioactive Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Blackberry Wines. *Foods*, 9(11), 1623. <https://doi.org/10.3390/foods9111623>

- Baby, B., Antony, P., & Vijayan, R. (2018). Antioxidant and anticancer properties of berries. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(15), 2491–2507. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1329198>
- Bernal Roa, L. J. (2012). Evaluación de las Propiedades Bioactivas de Mora (*Rubus glaucus*) y Agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*), en Fresco y Durante Procesos de Transformación [Trabajo de grado - Maestría, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/11023>
- Borrego Corchado, C. (2018). Evolución de compuestos de interés biológico en moras a lo largo de la maduración del fruto [Máster en Agroalimentación, Universidad de Cádiz]. [file:///C:/Users/torre/Downloads/TFM%20Definitivo%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/torre/Downloads/TFM%20Definitivo%20(1).pdf)
- Brownmiller, C., Howard, L. R., & Prior, R. L. (2009). Processing and storage effects on blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) polyphenolics. *Acta Horticulturae*, 841, 347–354. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.841.43>
- Bunea, A., Rugina, O. D., Pintea, A. M., Sconta, Z., Bunea, C. I., & Socaciu, C. (2011). Comparative Polyphenolic Content and Antioxidant Activities of Some Wild and Cultivated Blueberries from Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 39(2), 70–76. <https://doi.org/10.15835/nbha3926265>
- Carmona-Hernández, Ó., Fernández, M. del S., Palmeros-Sánchez, B., & Lozada-García, J. A. (2014). Actividad insecticida de extractos etanólicos foliares de nueve piperáceas (*Piper* spp.) EN *Drosophila melanogaster*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30, 67–73. <https://www.redalyc.org/pdf/370/37033725008.pdf>
- Ceballos Luna, O., Morales Sotelo, R., López Márquez, A. A., Grapain López, O., García Gutiérrez, E., Sedeño Mota, J. C., Álvarez Campos, E., & Lozada García, J. A. (2018). Salsa a base de zarzamora (*Rubus fruticosus*) como potencial alimento funcional. *Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan*, 6(2.Especial), 72–77. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v6i2.Especial.259>
- Cerón, A. F., Osorio, M. O., & Hurtado B, A. (2012). Identificación de ácidos grasos contenidos en los aceites extraídos a partir de semillas de tres diferentes especies de frutas. *Acta Agronómica*, 61(2), 126–132. <https://www.redalyc.org/pdf/1699/169925874008.pdf>
- Clark, D. J., Jørgensen, F., & Mathisen, T. A. (2011). Relationships between fares, trip length and market competition. *Transportation Research Part A: Policy and Practice*, 45(7), 611–624. <https://doi.org/10.1016/j.tra.2011.03.012>
- Coutiño, R., Fernández, S., & Palmeros, B. (2015). *Manual de la experiencia educativa Biología Celular* (1st ed., Vol. 1). Universidad Veracruzana. <https://doi.org/10.25009/uv.2018.37>
- Craft, B. D., Kerrihard, A. L., Amarowicz, R., & Pegg, R. B. (2012). Phenol-based antioxidants and the in vitro methods used for their assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 148–173. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00173.x>
- De Rosso, M., Panighel, A., Dalla Vedova, A., Stella, L., & Flamini, R. (2009). Changes in Chemical Composition of a Red Wine Aged in Acacia, Cherry, Chestnut, Mulberry, and Oak Wood Barrels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5), 1915–1920. <https://doi.org/10.1021/jf803161r>
- Di Stefano, R., & Flamini, R. (2008). High Performance Liquid Chromatography Analysis of Grape and Wine Polyphenols. In Flamini Riccardo (Ed.), *Hyphenated Techniques in Grape and Wine Chemistry* (John Wiley & Sons, Vol. 1, pp. 33–79). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470754320.ch2>
- Domínguez, X. A. (1979). *Métodos de investigación fitoquímica* (1st ed.).
- Elez Garofulić, I., Kovačević Ganić, K., Galić, I., Dragović-Uzelac, V., & Savić, Z. (2012). The influence of processing on physico-chemical parameters, phenolics, antioxidant capacity and sensory attributes of elderberry (*Sambucus nigra* L.) fruit wine. *Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition*, 7, 9–13. <https://hrcak.srce.hr/file/123081>

- Fia, G., Gori, C., Bucalossi, G., Borghini, F., & Zanoni, B. (2018). A Naturally Occurring Antioxidant Complex from Unripe Grapes: The Case of Sangiovese (v. *Vitis vinifera*). *Antioxidants*, 7(2), 27. <https://doi.org/10.3390/antiox7020027>
- Gardener, S. L., Rainey-Smith, S. R., Weinborn, M., Bondonno, C. P., & Martins, R. N. (2021). Intake of Products Containing Anthocyanins, Flavanols, and Flavanones, and Cognitive Function: A Narrative Review. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 13, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.640381>
- Garzón Gloria Astrid. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27–36. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2008000300002&lng=en&tlng=es.
- Geleijnse, J. M., & Hollman, P. C. (2008). Flavonoids and cardiovascular health: which compounds, what mechanisms? *The American Journal of Clinical Nutrition*, 88(1), 12–13. <https://doi.org/10.1093/ajcn/88.1.12>
- Genova, G., Tosetti, R., & Tonutti, P. (2016). Berry ripening, pre-processing and thermal treatments affect the phenolic composition and antioxidant capacity of grape (*Vitis vinifera* L.) juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(2), 664–671. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7138>
- Huang, X., Wu, Y., Zhang, S., Yang, H., Wu, W., Lyu, L., & Li, W. (2022). Variation in Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Rubus Fruits at Different Developmental Stages. *Foods*, 11(8), 1169. <https://doi.org/10.3390/foods11081169>
- Ivanova, V., Stefova, M., & Chinnici, F. (2010). Determination of the polyphenol contents in Macedonian grapes and wines by standardized spectrophotometric methods. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(1), 45–59. <https://doi.org/10.2298/JSC1001045I>
- Jiménez-Monreal, A.M., García-Diz, L., Martínez-Tomé, M., Mariscal, M., & Murcia, M.A. (2009). Influence of Cooking Methods on Antioxidant Activity of Vegetables. *Journal of Food Science*, 74(3), H97–H103. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01091.x>
- Johnson, J., Collins, T., Walsh, K., & Naiker, M. (2020). Solvent extractions and spectrophotometric protocols for measuring the total anthocyanin, phenols and antioxidant content in plums. *Chemical Papers*, 74(12), 4481–4492. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01261-8>
- Johnson, M. H., & Gonzalez de Mejia, E. (2012). Comparison of Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Commercially Available Blueberry and Blackberry Wines in Illinois. *Journal of Food Science*, 77(1), C141–C148. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02505.x>
- Joyanes, M., & Lema, L. (2006). Criteria for Optimizing Food Composition Tables in Relation to Studies of Habitual Food Intakes. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(4), 329–336. <https://doi.org/10.1080/10408390600688156>
- Kalt, W., Cassidy, A., Howard, L. R., Krikorian, R., Stull, A. J., Tremblay, F., & Zamora-Ros, R. (2020). Recent Research on the Health Benefits of Blueberries and Their Anthocyanins. *Advances in Nutrition*, 11(2), 224–236. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz065>
- Kassara, S., Norton, E. L., Mierczynska-Vasilev, A., Lavi Sacks, G., & Bindon, K. A. (2022). Quantification of protein by acid hydrolysis reveals higher than expected concentrations in red wines: Implications for wine tannin concentration and colloidal stability. *Food Chemistry*, 385, 132658. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132658>
- Lee, J., Dossett, M., & Finn, C. E. (2012). Rubus fruit phenolic research: The good, the bad, and the confusing. *Food Chemistry*, 130(4), 785–796. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.022>
- Leong, S. Y., & Oey, I. (2012). Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 133(4), 1577–1587. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.052>
- Li, J., Shi, C., Shen, D., Han, T., Wu, W., Lyu, L., & Li, W. (2022). Composition and Antioxidant Activity of Anthocyanins and Non-Anthocyanin Flavonoids in Blackberry

- from Different Growth Stages. *Foods*, 11(18), 2902. <https://doi.org/10.3390/foods11182902>
- Li, W.-L., Wu, W.-L., Zhang, C.-H., Lyu, L.-F., Wang, X.-M., & Shu, H.-R. (2012). He status of industry development and scientific research of blackberry (*Rubus* spp.) in the world, with a prospect in China. *Journal of Plant Resources and Environment*, 21(3), 105–115. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20123334658>
- Lillo, A., Carvajal-Caiconte, F., Núñez, D., Balboa, N., & Alvear Zamora, M. (2016). Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 42(2), 168–174. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1669-23142016000200009
- López-Legarda, X., Taramuel-Gallardo, A., Arboleda-Echavarría, C., Segura-Sánchez, F., & Restrepo-Betancur, L.F. (2017). Comparison of methods using sulfuric acid for determination of total sugars. *Revista Cubana De Química*, 29(2), 180–198. <http://scielo.sld.cu/pdf/ind/v29n2/ind02217.pdf>
- Lykke, A.M., & Padonou, E.A. (2019). Carbohydrates, proteins, fats and other essential components of food from native trees in West Africa. *Heliyon*, 5(5), e01744. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01744>
- Maragò, E., Michelozzi, M., Calamai, L., Camangi, F., & Sebastiani, L. (2016). Antioxidant properties, sensory characteristics and volatile compounds profile of apple juices from ancient Tuscany (Italy) apple varieties. *European Journal of Horticultural Science*, 81(5), 255–263. <https://doi.org/10.17660/eJHS.2016/81.5.4>
- Martínez-Cruz, N. del S., Arévalo-Niño, K., Verde-Star, M. J., Rivas-Morales, C., Oranday-Cárdenas, A., Núñez-González, Ma. A., & Morales-Rubio, Ma. Eufemia. (2011). Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schltdl (zarzamora). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 42(4), 66–71.
- Milošević, T., Milošević, N., Glišić, I., & Mladenović, J. (2012). Fruit quality attributes of blackberry grown under limited environmental conditions. *Plant, Soil and Environment*, 58(7), 322–327. <https://doi.org/10.17221/33/2012-PSE>
- Minatel, I. O., Borges, C. V., Ferreira, M. I., Gomez, H. A. G., Chen, C.-Y. O., & Lima, G. P. P. (2017). Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability. In M. P.-T. and M. del R. G.-M. Marcos Soto-Hernandez (Ed.), *Phenolic Compounds - Biological Activity* (pp. 1–25). InTech. <https://doi.org/10.5772/66368>
- Morata, A., López, C., Tesfaye, W., González, C., & Escott, C. (2019). Anthocyanins as Natural Pigments in Beverages. In Alexandru Mihai Grumezescu and Alina Maria Holban (Ed.), *Value-Added Ingredients and Enrichments of Beverages* (Vol. 14, pp. 383–428). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816687-1.00012-6>
- Mudnic, I., Modun, D., Rastija, V., Vukovic, J., Brizic, I., Katalinic, V., Kozina, B., Medic-Saric, M., & Boban, M. (2010). Antioxidative and vasodilatory effects of phenolic acids in wine. *Food Chemistry*, 119(3), 1205–1210. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.038>
- Mulero, J., Zafrilla, P., Cayuela, J.M., Martínez-Cachá, A., & Pardo, F. (2011). Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Organic Red Wine Using Different Winemaking Techniques. *Journal of Food Science*, 76(3), C436–C440. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2011.02104.x>
- Murador, D. C., Mercadante, A. Z., & de Rosso, V. V. (2016). Cooking techniques improve the levels of bioactive compounds and antioxidant activity in kale and red cabbage. *Food Chemistry*, 196, 1101–1107. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.037>
- Mustafa, A. M., Angeloni, S., Abouelenein, D., Acquaticci, L., Xiao, J., Sagratini, G., Maggi, F., Vittori, S., & Caprioli, G. (2022). A new HPLC-MS/MS method for the simultaneous determination of 36 polyphenols in blueberry, strawberry and their commercial products and determination of antioxidant activity. *Food Chemistry*, 367, 130743. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130743>

- Pantoja-Chamorro, A. L., Hurtado-Benavides, A. M., & Martínez-Correa, H. A. (2017). Evaluación del Rendimiento, Composición y Actividad Antioxidante de Aceite de Semillas de Mora (*Rubus glaucus*) Extraído con CO2 Supercrítico. *Información Tecnológica*, 28(1), 35–46. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100005>
- Parmenter, B. H., Croft, K. D., Hodgson, J. M., Dalgaard, F., Bondonno, C. P., Lewis, J. R., Cassidy, A., Scalbert, A., & Bondonno, N. P. (2020). An overview and update on the epidemiology of flavonoid intake and cardiovascular disease risk. *Food & Function*, 11(8), 6777–6806. <https://doi.org/10.1039/D0FO01118E>
- Pellegrini, N., Miglio, C., Del Rio, D., Salvatore, S., Serafini, M., & Brighenti, F. (2009). Effect of domestic cooking methods on the total antioxidant capacity of vegetables. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(sup2), 12–22. <https://doi.org/10.1080/09637480802175212>
- Pérez Grana, R. (2013). Exactitud de las tablas de composición de alimentos en la determinación de nutrientes. *Sanidad Militar*, 69(2), 102–111. <https://doi.org/10.4321/S1887-85712013000200008>
- Robinson, J. A., Bierwirth, J. E., Greenspan, P., & Pegg, R.B. (2020). Blackberry polyphenols: Composition, quantity, and health impacts from in vitro and in vivo studies. *Journal of Food Bioactives*, 9. <https://doi.org/10.31665/JFB.2020.9217>
- Rodríguez-Pérez, M.A., Hernández Rojas, L. A., Madrigal Ambriz, L.V., García, D.E., Vázquez Galindo, J., & Velasco Villalpando, S. (2010). *Evaluación de antocianinas de la zarzamora (Rubus eubatus) en fruta y en conserva*. (UANL. Universidad de Guanajuato, Ed.; pp. FH131–FH139). XII Congreso Nacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos. <https://docplayer.es/18363273-Xii-congreso-nacional-de-ciencia-y-tecnologia-de-alimentos-jueves-27-y-viernes-28-de-mayo-de-2010-guanajuato-go.html>
- Salvador Badui Dergal. (2006). *Química de los Alimentos*. (Quintanar Duarte Enrique, Ed.; Cuarta edición, Vol. 1). Addison Wesley. <https://fcen.uncuyo.edu.ar/upload/libro-badui200626571.pdf>
- Sánchez Trujillo, A. F. (2013). *Fermentación de Autumn Bliss para la elaboración de Vino de Frambuesa*. [Tesis Químico en Alimentos, Universidad Autónoma del Estado de México]. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/14125>
- Santacruz Cifuentes, L. A. (2011). *Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos*. [Maestría en Ciencias - Química, Universidad Nacional de Colombia]. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/8678>
- Schulz, M., Seraglio, S. K. T., Della Betta, F., Nehring, P., Valesse, A. C., Daguer, H., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2019). Blackberry (*Rubus ulmifolius* Schott): Chemical composition, phenolic compounds and antioxidant capacity in two edible stages. *Food Research International*, 122, 627–634. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.034>
- Skrede, G., Wrolstad, R. E., & Durst, R. W. (2000). Changes in Anthocyanins and Polyphenolics During Juice Processing of Highbush Blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of Food Science*, 65(2), 357–364. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16007.x>
- Tomas, M., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Hall, R., Beekwilder, J., & Capanoglu, E. (2015). The effects of juice processing on black mulberry antioxidants. *Food Chemistry*, 186, 277–284. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.151>
- Tomas, M., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Hall, R. D., Beekwilder, J., & Capanoglu, E. (2017). Processing black mulberry into jam: effects on antioxidant potential and in vitro bioaccessibility. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(10), 3106–3113. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8152>
- Vergara, M. F., Vargas, J., & Acuña, J. F. (2016). Physicochemical characteristics of blackberry (*Rubus glaucus* Benth.) fruits from four production zones of Cundinamarca, Colombia. *Agronomía Colombiana*, 34(3), 336–345. <https://doi.org/10.15446/agron.colomb.v34n3.62755>

Recibido:
30/octubre/2022

Aceptado:
1/junio/2023

- Wagner, H., & Bladt, S. (1996). *Plant Drug Analysis* (Second Edition, Vol. 1). Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-00574-9>
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2006). Concentrations of Anthocyanins in Common Foods in the United States and Estimation of Normal Consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(11), 4069–4075. <https://doi.org/10.1021/jf0603001>
- Yousef, G. G., Brown, A. F., Funakoshi, Y., Mbeunkui, F., Grace, M. H., Ballington, J. R., Loraine, A., & Lila, M. A. (2013). Efficient Quantification of the Health-Relevant Anthocyanin and Phenolic Acid Profiles in Commercial Cultivars and Breeding Selections of Blueberries (*Vaccinium* spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(20), 4806–4815. <https://doi.org/10.1021/jf400823s>
- Zafra Rojas, Q. Y. (2019). *Valorización de los subproductos del procesamiento de la zarzamora (Rubus fruticosus), por su contenido en antioxidantes y fibra dietética*. [Tesis de Doctorado, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo]. <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/handle/231104/2675>
- Zannou, O., & Koca, I. (2022). Greener extraction of anthocyanins and antioxidant activity from blackberry (*Rubus* spp) using natural deep eutectic solvents. *LWT*, *158*, 113184. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113184>
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, *64*(4), 555–559. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00102-2](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00102-2)

5

**COMPOSICIÓN QUÍMICA, ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE, ANTIINFLAMATORIA Y
ANTIPROLIFERATIVA DEL EXTRACTO
DE CALLOS DERIVADO DE *Acalypha
californica* Bentham**

**CHEMICAL COMPOSITION,
ANTIOXIDANT, ANTIINFLAMMATORY
AND ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY
OF CALLUS EXTRACT DERIVED FROM
Acalypha californica Bentham**

Hechavarría-Pérez, Lesyanny; Luisa Alondra Rascón-Valenzuela; Armando Tejeda-Mansir; José Alberto Pérez-Burgos y Gloria Irma Ayala-Astorga

COMPOSICIÓN QUÍMICA, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE,
ANTIINFLAMATORIA Y ANTIPROLIFERATIVA DEL EXTRACTO DE CALLOS
DERIVADO DE *Acalypha californica* Bentham

CHEMICAL COMPOSITION, ANTIOXIDANT, ANTIINFLAMMATORY AND
ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF CALLUS EXTRACT DERIVED FROM
Acalypha californica Bentham



Composición química, actividad antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa del extracto de callos derivado de *Acalypha californica* Benth

Chemical composition, antioxidant, antiinflammatory and antiproliferative activity of callus extract derived from *Acalypha californica* Benth

Hechavarría-Pérez, Lesyanny;
Luisa Alondra Rascón-Valenzuela;
Armando Tejeda-Mansir;
José Alberto Pérez-Burgos
y Gloria Irma Ayala-Astorga

COMPOSICIÓN QUÍMICA,
ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE,
ANTIINFLAMATORIA Y
ANTIPROLIFERATIVA
DEL EXTRACTO DE
CALLOS DERIVADO DE
Acalypha californica
Benth

CHEMICAL
COMPOSITION,
ANTIOXIDANT,
ANTIINFLAMMATORY
AND ANTIPROLIFERATIVE
ACTIVITY OF CALLUS
EXTRACT DERIVED
FROM *Acalypha californica*
Benth

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 203-223. Julio 2023

DOI:
10.18387/polibotanica.56.11

Lesyanny Hechavarría-Pérez / a216230100@unison.mx
<https://orcid.org/0000-0003-1559-182X>

Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, Blvd. Luis Donaldo Colosio s/n, Entre Reforma y Sahuaripa, Edificio 7G, Col. Centro, Hermosillo, Sonora C.P. 83000, México,

Luisa Alondra Rascón-Valenzuela / luisa.rascon@unison.mx
<https://orcid.org/0000-0002-6564-4283>

Laboratorio de Investigación en Productos Naturales. Departamento de Ciencias Químico Biológicas, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad de Sonora, Encinas y Rosales Hermosillo, Sonora, México

Armando Tejeda-Mansir / armando.tejeda@unison.mx
<https://orcid.org/0000-0003-2225-467X>

Laboratorio de Biotecnología de Bioprocesos. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, Blvd. Luis Donaldo Colosio s/n, Entre Reforma y Sahuaripa, Edificio 7G, Col. Centro, Hermosillo, Sonora C.P. 83000, México

José Alberto Pérez-Burgos / alberto.perez@unison.mx
<https://orcid.org/0009-0009-5043-0782>

Laboratorio de Investigación en Productos Naturales. Departamento de Ciencias Químico Biológicas, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad de Sonora, Encinas y Rosales Hermosillo, Sonora, México

Gloria Irma Ayala-Astorga / gloria.ayala@unison.mx
<https://orcid.org/0000-0002-8135-8535>

Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales. Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora, Blvd. Luis Donaldo Colosio s/n, Entre Reforma y Sahuaripa, Edificio 7G, Col. Centro, Hermosillo, Sonora C.P. 83000, México,

RESUMEN: *Acalypha californica* Benth es una planta utilizada por los grupos étnicos de Sonora para tratar el cáncer; sin embargo, es una planta que no es cultivada, de manera tal que la especie crece en hábitats expuestos a las actividades antropogénicas y la colecta indiscriminada, resultando en la disminución significativa de las poblaciones silvestres. Aunado a lo anterior las actividades biológicas relacionadas con los procesos antiproliferativos (antioxidante y antiinflamatoria) atribuidos a la especie no han sido evaluadas. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue establecer las condiciones adecuadas para el crecimiento de callos de *A. californica*, así como caracterizar química y biológicamente el extracto etanólico de los callos generados. Primeramente, para producción de callos se utilizaron explantes a partir de hojas, pecíolos, yemas y segmentos nodales de *A. californica* los que fueron inoculados en Woody Plant Medium (WPM), suplementado con ácido indol butírico (AIB), bencil amino purina (BAP) o cinetina (CIN) en un intervalo de 0.5-2.0 mg/L. El extracto de los callos liofilizados fue generado por maceración con etanol al 70% y la

actividad antiproliferativa del mismo se midió mediante el ensayo MTT en las líneas celulares cancerosas humanas A549, HeLa y MCF-7. La actividad antioxidante se evaluó empleando los ensayos DPPH, FRAP y midiendo el contenido de fenoles y flavonoides totales (TPC y TFC). La actividad antiinflamatoria fue estimada a través de la capacidad inhibitoria del óxido nítrico en macrófagos RAW264.7 estimulados con LPS. Finalmente se generó un perfil químico de los compuestos presentes en el extracto etanólico de los callos utilizando espectrometría de masas. Resultando que las yemas fueron el explante más callogénico, con un 55.60 % de inducción en la concentración de 1.5 mg/L de AIB. En tanto que el extracto etanólico de callos de *A. californica* no mostró una actividad significativa sobre las líneas celulares probadas; sin embargo, presentó un gran contenido de TPC y TFC con valores de 2.6 ± 0.25 mmol GAE/g de extracto y 1.56 ± 0.25 mmol QE/g de extracto; así como una actividad antioxidante significativamente alta por el método de estabilización del radical DPPH (EC_{50} 44.85 ± 1.22 $\mu\text{g/mL}$) y FRAP (1.58 ± 0.15 mmol de Fe^{2+} /g de extracto). El extracto etanólico de los callos de *A. californica* inhibió en un 24% la producción de óxido nítrico con respecto a las células control. En el perfil químico del extracto etanólico de los callos se encontraron estructuras pertenecientes a los ácidos fenólicos y flavonoides principalmente. De esta manera se concluyó que para desarrollar callos efectivos de *A. californica* las yemas de la planta deben ser cultivadas en WPM+1.5 mg/L de AIB. Adicionalmente se concluye que los compuestos fenólicos son los responsables de la alta actividad antioxidante y antiinflamatoria presentada por el extracto etanólico de los callos obtenidos.

Palabras clave: *Acalypha californica*, cáncer, compuestos fenólicos, cultivo de callos.

ABSTRACT: *Acalypha californica* Bentham is a plant used by the ethnic groups of Sonora to treat cancer; however, it is a plant that is not cultivated, in such a way that the species grows in habitats exposed to anthropogenic activities and indiscriminate collection, resulting in a significant decrease in wild populations. In addition to the above, the biological activities related to the antiproliferative processes (antioxidant and anti-inflammatory) attributed to the species have not been evaluated. Therefore, the objective of the present work was to establish the adequate conditions for the growth of *A. californica* calluses, as well as to characterize chemically and biologically the ethanolic extract of the generated calluses. First, for callus production, explants were used from leaves, petioles, buds, and nodal segments of *A. californica*, which were inoculated in Woody Plant Medium (WPM), supplemented with indole butyric acid (AIB), benzyl amino purine (BAP) or kinetin (CIN) in a range of 0.5-2.0 mg/L. The lyophilized callus extract was generated by maceration with 70% ethanol and its antiproliferative activity was measured by the MTT assay in the human cancer cell lines A549, HeLa and MCF-7. The antioxidant activity was evaluated using the DPPH and FRAP assays and by measuring the content of total phenols and flavonoids (TPC and TFC). The anti-inflammatory activity was estimated through the inhibitory capacity of nitric oxide in RAW264.7 macrophages stimulated with LPS. Finally, a chemical profile of the compounds presents in the ethanolic extract of the callus was generated using mass spectrometry. Resulting that the buds were the most callogenic explant, with a 55.60% induction in the concentration of 1.5 mg/L of AIB. While the ethanolic extract of *A. californica* calluses did not show significant activity on the cell lines tested; however, it presented a high content of TPC and TFC with values of 2.6 ± 0.25 mmol GAE/g of extract and 1.56 ± 0.25 mmol QE/g of extract; as well as a significantly high antioxidant activity by the DPPH radical stabilization method (EC_{50} 44.85 ± 1.22 $\mu\text{g/mL}$) and FRAP (1.58 ± 0.15 mmol of Fe^{2+} /g of extract). The ethanolic extract from *A. californica* calluses inhibited nitric oxide production by 24% compared to control cells. In the chemical profile of the ethanolic extract of the calluses, structures belonging to phenolic acids and flavonoids were found mainly. In this way, it was concluded that to develop effective calluses of *A. californica*, the buds of the plant must be cultivated in WPM+1.5 mg/L of AIB. Additionally, it is concluded that phenolic compounds are responsible for the high antioxidant and anti-inflammatory activity presented by the ethanolic extract of the calluses obtained.

Key words: *Acalypha californica*, cancer, phenolic compounds, callus culture.

INTRODUCCIÓN

El término cáncer comprende un conjunto de enfermedades que presentan un crecimiento celular descontrolado, así como la diseminación de células anormales hacia diversos tejidos del cuerpo (Siegel *et al.*, 2022; Thummadi *et al.*, 2022). Actualmente es un importante problema de salud pública, ya que se ha convertido en la segunda causa de muerte en el mundo (Kargozar *et al.*, 2022; Siegel *et al.*, 2022).

En 2021 los tumores malignos representaron el 8% de las defunciones en México y se ha registrado un aumento constante en la tasa de defunciones de 6.09 por cada 10 mil personas en 2010 a 7.06 en 2021 (INEGI, 2021). Respecto a la incidencia, el cáncer de mama y el cérvico uterino fueron los de mayor morbilidad en mujeres, en tanto que el cáncer de próstata, colon y pulmón afectaron principalmente a los hombres (GLOBOCAN, 2020).

Aunado a lo anterior el cáncer presenta una gran mortalidad, esto debido a que es un proceso multifactorial que obedece tanto a agentes exógenos como endógenos (Thummadi *et al.*, 2022). Dentro de los elementos más comúnmente asociados con el desarrollo de un proceso carcinogénico se encuentran el estrés oxidativo y el proceso inflamatorio crónico (Nitin Singh *et al.*, 2019).

El estrés oxidativo se refiere al desequilibrio entre la producción de agentes oxidantes, por medio del metabolismo celular, y su eliminación mediante antioxidantes (Crespo *et al.*, 2020). Este desequilibrio conlleva al daño de biomoléculas y células del organismo, ocasionando inestabilidad cromosómica, mutación genética y/o modulación de vías de señalización (Aggarwal *et al.*, 2019). Los principales agentes oxidantes son las especies reactivas de oxígeno (EROs); sin embargo, el organismo también produce óxido nítrico (NO), el cual a su vez produce especies reactivas de nitrógeno (ERNs), mismas que poseen la capacidad de aumentar el riesgo de mutagénesis (Korde Choudhari *et al.*, 2013). Un ambiente constante de estrés causa que las especies reactivas se produzcan durante un gran periodo de tiempo y que, a su vez, se genere un daño fisiológico en las células y tejido circundante que estimule un proceso de inflamación prolongado, el cual promueve el crecimiento, proliferación, supervivencia y metástasis de las células cancerosas (Todoric & Karin, 2019). De manera que para prevenir y resolver un proceso canceroso se requieren de terapias que no solo tengan actividad anticancerígena, sino que también exhiban propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.

A causa de que las terapias convencionales contra el cáncer no son suficientes, suelen provocar toxicidad y numerosos efectos secundarios, se lleva a cabo una búsqueda continua de agentes quimioterapéuticos. Y en este esfuerzo han sido las plantas las que más han despertado el interés como fuente potencial de moléculas o fitofármacos bioactivos usando como principal herramienta de bioprospección la información de la etnofarmacopea (Kargozar *et al.*, 2022; Ochatt *et al.*, 2022; Purwianingsih *et al.*, 2016).

En los estados de Baja California y Sonora se distribuye *Acalypha californica* Benth. Esta planta es un arbusto semileñoso y perenne, utilizado ampliamente por los grupos étnicos para tratar el cáncer, por lo que se conoce comúnmente como "hierba del cáncer". En un estudio previo se demostró que el extracto metanólico de *A. californica* y sus fracciones de solventes poseían actividad antiproliferativa media en las líneas celulares murinas M12.A^k.C3.F6, RAW 264.7 y L929, así como en la línea celular cancerosa humana HeLa y que dicho efecto era debido a la activación de la apoptosis; adicionalmente se realizó un perfil químico de las sustancias contenidas en las fracciones con mayor actividad encontrando principalmente proantocianidinas y algunos ácidos fenólicos. Aunque dicho estudio fue el primero en brindar información sobre las actividades biológicas y la composición química de la planta, con excepción de la línea HeLa, no fue evaluada la actividad en otras líneas celulares cancerosas humanas (Rascón-Valenzuela *et al.*, 2015).

Debido a la recolección aleatoria por parte del herbolario local y a la destrucción de su hábitat por la actividad antropogénica, es necesario tomar medidas encaminadas a la permanencia de *A. californica*, entre las que se propone la búsqueda de métodos de propagación y técnicas de cultivo comercial para esta planta medicinal (Khan *et al.*, 2021; Pimentel *et al.*, 2010; Sampayo-Maldonado, 2018).

El cultivo *in vitro* es una técnica que explota la totipotencialidad de las células para inducir la división celular, morfogénesis y desarrollo de la planta a partir de un cultivo aséptico de diferentes tipos de explantes en un medio de cultivo, esto con la finalidad de obtener callos. El callo es una masa de células indiferenciadas, que se desarrolla en respuesta a agentes químicos o lesiones físicas (Babich *et al.*, 2021). Para obtenerlos se debe optimizar el medio de cultivo, realizando variaciones en la concentración de nutrientes, minerales, sustancias orgánicas y reguladores de crecimiento de las plantas (Alcántara *et al.*, 2019). Los reguladores de crecimiento son sustancias que inducen respuestas fisiológicas tales como el desarrollo de raíces, la inducción de callos o el brotamiento. Entre los reguladores de crecimiento más utilizados en el cultivo *in vitro* de plantas se encuentran la auxina ácido indolbutírico (AIB), hormona que regula el crecimiento de la planta, la citocinina 6-bencilaminopurina (BAP) que promueve la división y la diferenciación y la cinetina (CIN) que promueve la división celular. Dichos reguladores de crecimiento pueden actuar diferencialmente dependiendo de la especie de planta, las dosis usadas y las combinaciones de estas (De-Souza *et al.*, 2022; Ríos-Ramírez *et al.*, 2017).

Tomando en cuenta que *A. californica* es una planta utilizada ampliamente por las personas para el tratamiento empírico del cáncer lo cual la hace blanco de la recolección desregulada de biomasa silvestre, que no han sido probadas las actividades biológicas relacionadas con la carcinogénesis tales como la actividad antioxidante y antiinflamatoria, y que existe información limitada sobre su composición, el objetivo del presente estudio fue encontrar las condiciones de formación de callos para el cultivo *in vitro* de *A. californica*; así como también medir las actividades antioxidante, antiinflamatoria y antiproliferativa en líneas celulares cancerosas humanas y determinar su perfil químico. Todo lo anterior como un primer esfuerzo para caracterizar química y biológicamente las etapas del desarrollo de la planta *in vitro* y encontrar las condiciones en las cuales se produzcan las sustancias bioactivas que validen su uso etnofarmacológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Las partes aéreas de *A. californica* fueron recoletadas en septiembre del 2018 en el Cerro del Bachoco, en la ciudad de Hermosillo, Sonora, México (29°8'51.3'' N, 110°57'0''O, matorral semidesértico, temperatura promedio 32°C, humedad relativa media 56%). La planta fue identificada en el herbario de la Universidad de Sonora y se le asignó el número de registro 026567.

Inducción de callos

Para la inducción de los callos fueron elegidos tallos juveniles de *A. californica* obtenidos en la colecta, los cuales fueron lavados con agua corriente durante veinte minutos, luego con detergente mediante agitación manual por tres minutos. Para la asepsia las muestras fueron colocadas en alcohol al 70% (v/v) durante 60 segundos, seguido de un lavado en solución de hipoclorito de sodio al 12% con una gota de Tween 20 durante 15 minutos. Finalmente, los tallos fueron enjuagados con agua destilada estéril en tres ocasiones. Los explantes seleccionados para el estudio fueron hojas, pecíolos, yemas y segmentos nodales, mismos que fueron cortados en trozos de 0.5 – 1.0 cm con un bisturí estéril.

Para realizar el cultivo *in vitro* fue utilizado el medio para plantas leñosas Woody Plant Medium (WPM) suplementado con diversas concentraciones (0,0.5,1.0,1.5,2.0 mg/L) de ácido indolbutírico (AIB), 6-bencilaminopurina (BAP) o cinetina (CIN), siguiendo la metodología empleada por (Majumder & Rahman, 2016). El pH del medio de cultivo se ajustó a 5.7 antes de adicionar el agar y la sacarosa, después se vertieron 25 mL de medio en frascos de vidrio, todo en condiciones de esterilidad.

Posteriormente, el medio que se encontraba en los frascos fue inoculado con los diversos explantes y se mantuvieron con un fotoperíodo de 16 horas luz a 27 ± 1 °C de temperatura. El subcultivo se realizó en un medio de igual composición al que permitió la callogénesis. El medio sin reguladores de crecimiento vegetal fue utilizado como control.

Porcentaje de inducción de callos y morfología

Los datos sobre la inducción de callos (%) se registraron con la ayuda de la siguiente fórmula: Porcentaje de inducción de callos = $(N^{\circ}$ de explantes que produjeron callos/ N° de explantes) $\times 100$. En la inducción completa del callo para cada tratamiento se examinaron visualmente la textura y el color.

Preparación del extracto etanólico de callos de *A. californica*

El extracto etanólico fue obtenido mediante maceración de los callos liofilizados (6 semanas de crecimiento, crecidos en WPM+1.5 mg/L de AIB) con etanol al 70% en proporción 1:10 durante diez días con agitación intermitente a temperatura ambiente. El solvente fue removido mediante evaporación bajo presión reducida a 40 °C en un evaporador rotatorio (IKA, RV 10 digital, Wilmington, NC, USA). El extracto concentrado fue guardado a 4 °C, protegido de la luz, para su uso en ensayos posteriores.

Cultivo celular

Para los ensayos de actividad antiproliferativa se utilizaron como modelos las líneas celulares cancerígenas humanas A549 (carcinoma pulmonar) (ATCC CRM-CCL-185), HeLa (adenocarcinoma cervicouterino) (ATCC: CCL-2), MCF-7 (adenocarcinoma mamario) (ATCC: HTB-22) y ARPE-19 (no cancerosa, epitelio pigmentado de la retina) (ATCC: CRL2302). En tanto que para el ensayo de actividad antiinflamatoria mediante la medición de óxido nítrico se utilizó como modelo la línea murina RAW 264.7 (macrófagos transformados por el virus de la leucemia de Abelson) (ATCC: TIB-71). Todas las líneas celulares fueron adquiridas de la American Type Culture Collection (ATCC, Rockville, MD, EUA). Cada línea se mantuvo en el medio de cultivo DMEM alto en glucosa suplementado con 1% (v/v) de solución de penicilina-estreptomicina (10000 unidades de penicilina y 10 mg de estreptomicina/mL), 0.75% (v/v) de solución de L-glutamina 200 mM, 1% (v/v) de solución de piruvato de sodio 100 mM y 5% de suero fetal bovino. Las células fueron cultivadas en frascos de cultivo celular de 25 cm² y fueron mantenidas a 37 °C en una incubadora con una atmósfera humidificada y con 5% de CO₂. Las células se utilizaron para los ensayos una vez que se obtuvo el 80% de confluencia. Para despegar las células del fondo del frasco se utilizó una solución de tripsina-EDTA (Rascón Valenzuela, 2015).

Actividad antiproliferativa

La actividad antiproliferativa se evaluó mediante el ensayo de reducción de MTT [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio] Mossman, 1983, con algunas modificaciones. Las células (1×10^4 por pozo, 50 μ L) fueron colocadas en cada pozo de una placa de 96 pozos y se incubaron durante 24 h a 37 °C en una atmósfera del 5% de CO₂. Después se añadieron alícuotas de 50 μ L de medio (DMEM 5% FBS) con un intervalo 6.25 a 200 μ g/mL del extracto disuelto previamente en DMSO (concentración máxima de DMSO 0.5%) y las células estimuladas fueron incubadas durante 48 h. En las últimas 4 horas del período de incubación, el medio de cada pozo fue retirado y se realizó un enjuague con PBS 1X, posteriormente 100 μ L de medio fresco fueron añadidos a cada pocillo, así como 10 μ L de solución de MTT (5 mg/mL). El fármaco de amplio espectro doxorubicina fue utilizado como control y con fines

de comparación. La viabilidad celular se evaluó por la capacidad de las células metabólicamente activas para reducir la sal de tetrazolio a cristales de formazán, mismos que fueron disueltos con 100 μL de alcohol isopropílico ácido. La absorbancia de las muestras se midió con un lector de microplacas (Thermo Fisher Scientific Inc. Multiskan GO, Waltham, MA, USA), utilizando una longitud de onda de prueba de 570 nm y una longitud de onda de referencia de 630 nm. La absorbancia de las células tratadas únicamente con DMSO fue considerada como el 100% de proliferación. La actividad antiproliferativa del extracto fue reportada como valores de IC_{50} o en % de proliferación cuando no se haya podido inhibir el crecimiento del 50% de las células.

Actividad antioxidante

Contenido de fenoles totales (TPC)

El contenido fenólico total del extracto etanólico de los callos de *A. californica* se determinó utilizando el método de Folin-Ciocalteu adaptado a microplaca de 96 pozos (Sánchez-Rangel *et al.*, 2013). Brevemente, se pesaron 10 mg del extracto seco y se disolvieron en 1 mL de metanol. Posteriormente 30 μL de la solución de extracto se mezclaron con 30 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu al 10%. Las mezclas fueron incubadas por dos minutos a 40 °C. Seguidamente fueron adicionados a cada pozo 240 μL de Na_2CO_3 7% (p/v) y las mezclas fueron incubadas por 20 minutos a 40 °C. La absorbancia de cada pozo fue medida a una longitud de onda de 760 nm utilizando un espectrofotómetro de microplacas (Thermo Fisher Scientific Inc. Multiskan GO, Waltham, MA, USA). El contenido fenólico total de las muestras se calculó a partir de la curva de calibración de ácido gálico (0-58 mM). Los resultados fueron expresados como mmoles de equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de extracto.

Contenido de flavonoides totales (TFC)

Para determinar el contenido total de flavonoides se evaluó la formación de complejos con aluminio (Shraim *et al.*, 2021). En una microplaca de 96 pozos se colocaron 100 μL de agua desionizada, 10 μL de NaNO_2 5 % (p/v) y 25 μL de extracto etanólico de *A. californica* previamente disuelto en metanol (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$). La microplaca con las soluciones se incubó a temperatura ambiente, en oscuridad durante cinco minutos. Posteriormente, fueron añadidos 15 μL de solución de AlCl_3 al 10% (p/v) a cada uno de los pozos y seguidamente se incubaron a temperatura ambiente durante seis minutos; finalmente fueron adicionados 50 μL de solución de NaOH 1 M y 50 μL de agua desionizada. La absorbancia de las muestras fue medida a 510 nm en un espectrofotómetro UV-Visible para microplacas (Thermo Fisher Scientific Inc. Multiskan GO, Waltham, MA, USA). El contenido total de flavonoides de las muestras se calculó a partir de la curva de calibración de quercetina (0-3.3 mM). Los resultados se expresan como mmoles de equivalentes de quercetina (QE) por gramo de extracto.

Estabilización del radical DPPH

La actividad antioxidante por estabilización del radical DPPH (1,1- difenil- 2- picrilhidrazilo, 2,2- difenil- 1- (2,4,6- trinitrofenil) hidrazilo) se determinó según Molyneux 2004 con algunas modificaciones. Primero fueron disueltos 2.5 mg del radical en 100 mL de metanol, ajustándose la absorbancia a 0.700 ± 0.01 . En una microplaca de 96 pocillos se añadieron 200 μL del radical, y alícuotas de 20 μL de diferentes concentraciones del extracto (concentración final de 50-1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Finalmente, las mezclas fueron incubadas por 30 minutos protegidas de la luz. La absorbancia fue medida en un espectrofotómetro UV-Visible para microplacas (Thermo Fisher Scientific Inc. Multiskan GO, Waltham, MA, USA) empleando una longitud de onda de 515 nm. Se empleó un blanco reactivo y el flavonol quercetina como control positivo. Los porcentajes de inhibición fueron determinados mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = \left(\frac{\text{Abs del blanco} - \text{Abs de la muestra}}{\text{Abs del blanco}} \right) * 100$$

Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP)

Para evaluar la actividad antioxidante mediante el ensayo FRAP, inicialmente se prepararon varias soluciones: buffer de acetatos 300 mM (pH 3.6), ácido clorhídrico 40 mM, solución TPTZ (2,4,6-Tris (2-piridil)-S-triazina) 10 mM (en HCl 40 mM) y una solución de cloruro férrico 20 mM. La solución FRAP se obtuvo mediante la adición de buffer de acetatos, solución TPTZ y solución de cloruro férrico con una relación 10:1:1, respectivamente. Posteriormente se colocaron 270 μ L del reactivo FRAP en una microplaca de 96 pocillos y se le añadieron alícuotas de 20 μ L con diferentes concentraciones del extracto (100, 500 y 1000 μ g/mL). A continuación, se incubó la microplaca protegida de la luz durante 30 minutos. La absorbancia fue medida a una longitud de onda de 593 nm en un espectrofotómetro UV-Vis para microplacas (Thermo Fisher Scientific Inc. Multiskan GO, Waltham, MA, USA). Los resultados se expresaron como mmoles de Fe^{2+} /g de muestra mismos que fueron obtenidos mediante una curva de calibración de Fe_2SO_4 con un intervalo de concentraciones de 7.82 a 250 μ moles de Fe^{2+} .

Actividad antiinflamatoria

La medición de la actividad antiinflamatoria se llevó a cabo según (Schmölz *et al.*, 2017). Los macrófagos RAW 264.7 se cultivaron a una densidad de 500×10^3 células/mL de medio en una placa de 24 pozos, en una atmósfera con 5% CO_2 y 37 °C. Pasadas 24 horas, los cultivos fueron estimulados con concentraciones de 25-200 μ g/mL del extracto por dos horas (valores cercanos a la IC_{10}), luego se agregó 1 μ g/mL de LPS a cada pozo, y las células estimuladas fueron incubadas por 24 horas. Posteriormente 50 μ L de cada sobrenadante de los pozos fueron colocados en otra placa de 96 pozos y a cada uno se le adicionaron 50 μ L de reactivo de Griess, la mezcla se dejó reaccionar por 10 minutos y la absorbancia fue medida a 540 nm, utilizando un espectrómetro UV-Vis para microplacas (Thermo Fisher Scientific Inc. Multiskan GO, Waltham, MA, USA). Como control de activación se tomó la absorbancia de las células estimuladas con LPS (100% de producción de óxido nítrico) y como control de no activación la absorbancia de aquellas que no se estimularon con LPS (línea base de producción de óxido nítrico). El fármaco de amplio espectro dexametasona fue utilizado como control negativo y con fines de comparación.

Identificación de Compuestos Fenólicos por ESI-IT-MS-MS

La identificación de compuestos fenólicos presentes en el extracto etanólico de callos de *A. californica* se realizó introduciendo los extractos (10 μ g/mL p/v) mediante inyección directa a un espectrómetro de masas Varian 500-MS (Walnut Creek, CA, EE. UU.) equipado con una fuente de ionización por electrospray y un analizador de masas de trampa de iones, que fueron controlados por MS WorkStation software v.16 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EE. UU.). El espectrómetro de masas fue operado en modo negativo. Se utilizó nitrógeno como gas nebulizador y helio como gas de colisión para medición de masa precisa a un flujo de 1 mL/min. El equipo se operó a un voltaje -17 KV, y temperatura capilar de 350 °C. Los espectros de masas se adquirieron en modo de escaneo completo en el rango de 100–2000 *m/z*. La manipulación del extracto se llevó a cabo con protección de la luz. La identificación de los metabolitos se realizó por fragmentación de segundo orden (MS/MS). La confirmación se realizó comparando los iones fragmentados con los reportados en la literatura utilizando y bases de datos como el Mass Spectrometry Data Center (<https://chemdata.nist.gov/>) y el MassBank (<https://massbank.eu/MassBank/>).

Análisis estadístico

Para el cálculo de los valores de IC_{50} o EC_{50} se analizaron los porcentajes de proliferación o de inhibición de al menos tres experimentos, por triplicado, y fueron sometidos a un análisis de regresión lineal o no lineal dependiendo del comportamiento de los datos. Para el cálculo de la regresión no lineal los datos fueron log transformados, normalizados y analizados para generar una curva dosis-respuesta y calcular los valores correspondientes (IC_{50} o EC_{50}).

En todos los ensayos biológicos los resultados se presentan como la media de triplicados de tres experimentos paralelos \pm desviación estándar. Las diferencias significativas entre medias se evaluaron por análisis de varianza de una vía (ANOVA), después de comprobar que los datos eran normales (prueba de Shapiro-Wilk) y homocedásticos, seguido por una prueba de Tukey. Las diferencias se consideraron significativas cuando $p < 0.05$. Los resultados se analizaron por medio del programa estadístico JMP, versión para Windows 11.0.0 y Graphpad prism versión 8.0.

RESULTADOS

Inducción de callos

Para establecer el cultivo *in vitro* de una planta la inducción de callos es un paso vital, esto se puede realizar a partir de un explante con un grado de diferenciación variable de sus tejidos, debido a un proceso de desdiferenciación y división celular, modulado por el tipo de explante, medio de cultivo, tipo y concentración de regulador de crecimiento entre otros factores (Prakasha & Umesha, 2018).

Con la finalidad de encontrar las mejores condiciones y el mejor explante para el cultivo de los callos de *A. californica*, pecíolos, yemas, hojas y segmentos nodales fueron inoculados en el medio Woody Plant Medium (WPM) especial para plantas leñosas, así como diferentes concentraciones de los reguladores de crecimiento vegetal 6-bencilaminopurina (BAP), cinetina (CIN) o ácido indol butírico (AIB) (Tabla 1).

Tabla 1. Efecto de diferentes concentraciones (mg/L) de AIB, BAP o CIN en el porcentaje de inducción de callo y el crecimiento promedio (cm) en hojas, pecíolos, yemas y segmentos nodales que produjeron callos, durante seis semanas de incubación*.

Tratamientos	Hojas		Pecíolos		Yemas		Segmentos nodales	
	% I	CP (cm)	% I	CP (cm)	% I	CP (cm)	% I	CP (cm)
Control	0	0	0	0	0	0	0	0
AIB								
0.5	22.20 bc	0.55 \pm 0.10 b	33.30 ab	0.56 \pm 0.30 b	16.30 c	0.50 \pm 0.01 b	15.60 c	0.56 \pm 0.10 b
1.0	9.00 c	0.58 \pm 0.20 b	34.10 ab	0.50 \pm 0.30 b	29.10 bc	0.53 \pm 0.10 b	14.90 c	0.55 \pm 0.10 b
1.5	33.30 a	1.90 \pm 0.15 a	51.90 a	2.96 \pm 0.20 a	55.60 a	0.56 \pm 0.10 b	39.00 a	1.85 \pm 0.40 a
2.0	12.30 c	0.58 \pm 0.20 b	18.50 bc	0.60 \pm 0.10 a	37.00 b	0.90 \pm 0.45 b	14.90 c	0.58 \pm 0.20 b
BAP								
0.5	10.30 c	0.50 \pm 0.23 b	8.30 c	0.50 \pm 0.16 b	33.30 b	0.51 \pm 0.10 b	23.30 b	0.65 \pm 0.10 b
1.0	29.60 a	3.20 \pm 0.41 a	44.60 a	0.86 \pm 0.20 b	49.90 a	2.00 \pm 0.20 a	44.30 a	0.80 \pm 0.30 b
1.5	13.30 c	0.60 \pm 0.27 b	15.30 bc	0.64 \pm 0.10 b	20.70 c	0.80 \pm 0.10 b	12.90 c	0.57 \pm 0.10 b
2.0	14.90 c	0.56 \pm 0.10 b	16.90 bc	0.59 \pm 0.20 b	18.50 c	0.50 \pm 0.01 b	10.00 c	0.50 \pm 0.16 b
CIN								
0.5	11.10 c	0.55 \pm 0.30 b	7.00 c	0.50 \pm 0.13 b	5.00c	0.57 \pm 0.10 b	6.00 c	0.80 \pm 0.13 b
1.0	8.60 c	0.60 \pm 0.13 b	9.00 c	0.56 \pm 0.20 b	7.30 c	0.50 \pm 0.05 b	11.30 c	0.50 \pm 0.12 b
1.5	10.30 c	0.53 \pm 0.20 b	5.60 c	0.51 \pm 0.10 b	10.00 a	0.56 \pm 0.10 b	8.00 c	0.73 \pm 0.20 b
2.0	14.90 c	0.48 \pm 0.10 b	7.30 c	0.54 \pm 0.30 b	6.00 c	0.52 \pm 0.20 b	10.30 c	0.51 \pm 0.04 b

*Los valores corresponden a la media de tres réplicas con tres explantes por réplica. %I=Porcentaje de inducción, CP=Crecimiento promedio. ^{a-c} Medias de grupos con letras iguales no difieren significativamente entre sí de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Como se muestra en la tabla 1 los mayores porcentajes de inducción de callos se obtuvieron empleando 1.0 mg/L de BAP y 1.5 mg/L de AIB. Adicionalmente se puede observar que el explante más callogénico fue la yema a la concentración de 1.5 mg/L de AIB con un 55.60 % de inducción. Por otro lado, el mayor crecimiento promedio de callos se observó en hojas con un valor promedio de 3.20 cm en la concentración de 1.0 mg/L de BAP (Fig. 1).



Fig. 1. Desarrollo de callo de *A. californica* a partir de un explante de hoja después de cuatro semanas de incubación en medio WPM+1 mg/L de BAP.

El tratamiento control que consistía solo en medio WPM sin suplementación de los reguladores de crecimiento no presentó desarrollo de callo, lo que indica que es necesaria la aplicación de fitoreguladores en el cultivo de tejidos de *A. californica*, resultados similares reportaron Sagharyan *et al.*, (2020). Sin embargo, resalta el hecho de que CIN no mostró un buen desempeño en la calogénesis, ya que a la concentración más alta (2 mg/L), tan solo se obtuvo un 14% en la inducción de callos a partir de hojas.

Con la finalidad de evaluar si los callos obtenidos podían generar organogénesis indirecta una parte de los callos provenientes de los diferentes explantes y suplementados en un inicio con AIB (1.5 mg/L) o BAP (1 mg/L) fueron subcultivados utilizando WPM+1.5 mg/L de AIB y su diferenciación fue monitorizada durante seis semanas. En la figura 2 se puede observar que los callos de todos los explantes fueron capaces de generar brotes; sin embargo, aquellos provenientes del medio inicial suplementado con AIB a 1.5 mg/L tuvieron un mayor crecimiento, destacando por su tamaño los obtenidos de pecíolos; adicionalmente pudo evidenciarse que únicamente los callos obtenidos de los pecíolos mostraron rizogénesis.

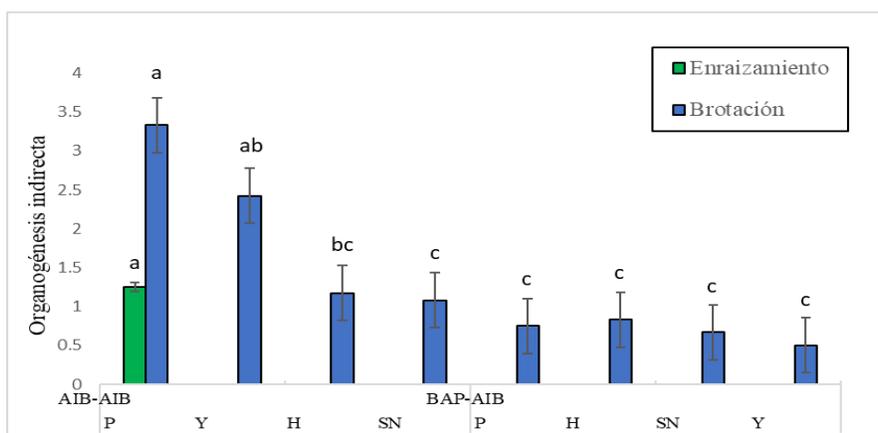


Fig. 2. Organogénesis indirecta tras subcultivo en medio WPM suplementado con 1.5 mg/L de AIB: P: pecíolo, Y: yemas, H: hojas, SN: segmentos nodales. ^{a-c} Medias de grupos con letras iguales no difieren significativamente entre sí de acuerdo a la prueba de Tukey ($p < 0.05$).

Evaluación de la proliferación celular

Una vez que se determinó que la mejor condición de calogénesis era el cultivo de los explantes en WPM+1.5 mg/L de AIB, los callos con seis semanas de crecimiento fueron liofilizados. Con la finalidad de caracterizar las actividades biológicas relacionadas con el efecto anticancerígeno que le atribuyen las etnias a *A. californica*, se generó un extracto hidroalcohólico por medio de maceración, tomando en cuenta que en un estudio previo las sustancias polares del extracto fueron las responsables de sus propiedades bioactivas (Rascón *et al.*, 2015).

La primera de las actividades biológicas evaluadas fue la antiproliferativa, la cual se midió mediante el ensayo de reducción del MTT utilizando un intervalo de concentraciones de 6.25 – 200 µg/mL del extracto etanólico de los callos de *A. californica* como tratamiento en las líneas celulares cancerosas humanas A549, HeLa y MCF-7 (Tabla 2).

Como se observa en la tabla 2 los valores de IC₅₀ del extracto etanólico de los callos de *A. californica* no pudieron ser determinados para ninguna de las líneas celulares, debido a que a la concentración más alta empleada en el presente estudio el extracto no posee la capacidad de inhibir el 50% del crecimiento de las células con respecto a aquellas tratadas únicamente con DMSO (100% de proliferación).

Tabla 2. Actividad antiproliferativa del extracto etanólico de los callos de *A. californica* en líneas celulares humanas.

Tratamiento	Líneas celulares (IC ₅₀ *)		
	A549	HeLa	MCF-7
Extracto etanólico de callos de <i>A. californica</i>	ND	ND	ND
Doxorrubicina	0.977±0.009 ^a	0.788±0.007 ^b	0.870±0.010 ^a

Valores de IC₅₀ (µg/mL; media ± desviación estándar, n>3). Los valores en las filas con superíndice distinto (a-c) son significativamente diferentes (*p*<0.05). * Concentración inhibitoria del 50%. ND: No determinado, IC₅₀ > 200 µg/mL

La línea celular A549 resultó ser la más susceptible al efecto del extracto con una proliferación del 66.05% a la concentración de 200 µg/mL, en tanto que la línea MCF-7 mostró ser la más resistente. Los efectos del extracto etanólico de los callos de *A. californica* exhibieron un efecto dosis dependiente en las concentraciones de 50-200 µg/mL, en tanto que en las concentraciones de 6.25-25 µg/mL el crecimiento de las células tratadas fue similar a la del control por lo que estas últimas no se mostraron en la Tabla 3.

Actividad antioxidante

Con la finalidad de determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de los callos de *A. californica* se emplearon cuatro metodologías complementarias, la medición del contenido de fenoles totales (TCP), la concentración de flavonoides totales (TFC), la estabilización del radical DPPH (DPPH) y el poder de reducción del hierro férrico a ferroso (FRAP).

Tabla 3. Porcentaje de proliferación celular posterior a la aplicación de extracto etanólico de los callos *A. californica* a 200 ($\mu\text{g/mL}$).

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)*	A549	HeLa	MCF-7
200	66.05 \pm 10.34 ^a	89.21 \pm 5.57 ^c	94.26 \pm 2.04 ^c
100	78.42 \pm 5.48 ^b	99.46 \pm 3.81 ^c	102.24 \pm 2.75 ^c
50	91.10 \pm 6.15 ^c	101.65 \pm 1.17 ^c	99.56 \pm 7.4 ^c
25	99.45 \pm 4.38 ^c	100.49 \pm 3.74 ^c	101.16 \pm 2.39 ^c

*Las concentraciones incluidas en los ensayos comprendieron el intervalo de 6.25 a 200 $\mu\text{g/mL}$; sin embargo, a partir de 25 $\mu\text{g/mL}$ no se encontraron diferencias con las células sin tratamiento. Los valores en las filas con superíndice distinto (a-c) son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

El contenido total de flavonoides y contenido de fenoles totales se ve relacionado con la actividad antioxidante de los extractos debido a que los grupos hidróxilos y los anillos aromáticos que forman parte de la estructura de los mencionados compuestos facilitan la estabilización de los radicales libres y reducción de especies oxidantes. Los compuestos fenólicos y flavonoides presentan estructuras complejas y variadas de manera tal que se debe de establecer una metodología que permita comparar los efectos de los diversos compuestos con uno de referencia, así que para el TPC se utilizó el estándar de ácido gálico y para TFC se empleó el estándar de quercetina. Un valor más alto obtenido en estos ensayos representa una mayor abundancia de compuestos con capacidad antioxidante.

En la tabla 4 se observa como el extracto etanólico de los callos de *A. californica* posee un alto contenido de fenoles totales con un valor de 2.6 \pm 0.25 μmol de GAE/g de extracto seco, esto de acuerdo con la clasificación propuesta por (Subedi *et al.*, 2014) quienes establecen que un valor igual o superior a 0.6 mmol GAE/g de extracto representa una alta concentración de compuestos fenólicos. Por otra parte, el contenido de flavonoides totales determinado para el extracto también puede ser considerado muy alto ya que presentó 1.56 \pm 0.25 mmol QE/g de extracto, cuando el valor de corte para extractos con alto contenido se encuentra en 0.33 mmol QE/g de extracto (Subedi *et al.*, 2014).

Para evaluar el potencial antirradicalario del extracto se empleó el ensayo de estabilización de radical DPPH. Una mayor cantidad de antioxidantes en un extracto es responsable de la disminución de la absorbancia de la solución de DPPH, para comparar la actividad de eliminación de radicales por los extractos etanólicos se utilizaron los valores de EC₅₀ (Concentración Eficaz media), y cuanto menor sea su valor, mayor es la capacidad de estabilizar los radicales libres. Un estándar del flavonol, quercetina, se utilizó como control positivo con un valor de EC₅₀ de 1.71 \pm 0.40 $\mu\text{g/mL}$. Para determinar si los valores de EC₅₀ obtenidos son significativos, se tomó como base la clasificación propuesta por (Bi *et al.*, 2016), quien propone los siguientes valores de corte: Actividad antioxidante fuerte con EC₅₀ < 100 $\mu\text{g/mL}$, intermedia EC₅₀ 100-500 $\mu\text{g/mL}$ y débil EC₅₀ > 500 $\mu\text{g/mL}$. De manera tal que el extracto etanólico de los callos de *A. californica* exhibió una actividad antirradicalaria muy fuerte con un valor de EC₅₀ de 44.85 \pm 1.22 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 4).

Debido a que existen diversos mecanismos oxidativos, el ensayo FRAP fue incluido con la finalidad de evaluar la capacidad del extracto de callos de *A. californica* para reducir el ion férrico a ferroso. Mediante un cribado de más de 20 extractos de plantas con actividad antioxidante Gohari *et al.* (2011) determinaron que valores de 0.16 mmol de Fe²⁺/g de extracto

representan una fuerte actividad reductora en el ensayo FRAP por lo que el poder reductor del hierro férrico para el extracto etanólico de los callos de *A. californica* puede ser considerado fuerte ya en los experimentos realizados en el presente estudio se obtuvo un valor de 1.58 ± 0.15 mmol de Fe^{2+} /g de extracto (tabla 4).

Tabla 4. Contenido de fenoles y flavonoides totales en el extracto etanólico de callos de *A. californica*.

Muestra	TPC ^a	TFC ^b	DPPH ^c	FRAP ^d
Extracto etanólico de callos de <i>A. californica</i>	2.6 ± 0.25	1.56 ± 0.25	44.85 ± 1.22	1.58 ± 0.15
Quercetina			1.71 ± 0.14	33.27 ± 0.82

^ammol de equivalentes de ácido gálico, representado como la media \pm SE; ^bmmol de equivalentes de quercetina, representado como la media \pm SE; ^cEC₅₀, representado como la media \pm SE en $\mu\text{g}/\text{mL}$, ^dmmol de Fe^{2+} , representado como la media \pm SE

Actividad antiinflamatoria

En general, se reconoce que el efecto inhibitor de la producción de óxido nítrico (NO) es un índice importante para evaluar la eficacia de los agentes antiinflamatorios. Así que con la finalidad de determinar dicha actividad del extracto etanólico de los callos de *A. californica* se utilizó un sistema basado en células RAW 264.7 activadas con LPS para la producción del NO. Los macrófagos activados fueron tratados con un intervalo de concentraciones del extracto etanólico de los callos de *A. californica* de 25-200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, el cual no disminuye la proliferación de las células RAW264.7. En la figura 3 se muestra como todas las concentraciones probadas causaron disminuciones estadísticamente significativas en la producción de NO, siendo la concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ la que mostró una mayor efectividad reduciendo aproximadamente un 23% del NO producido con respecto al control de células sin tratamiento.

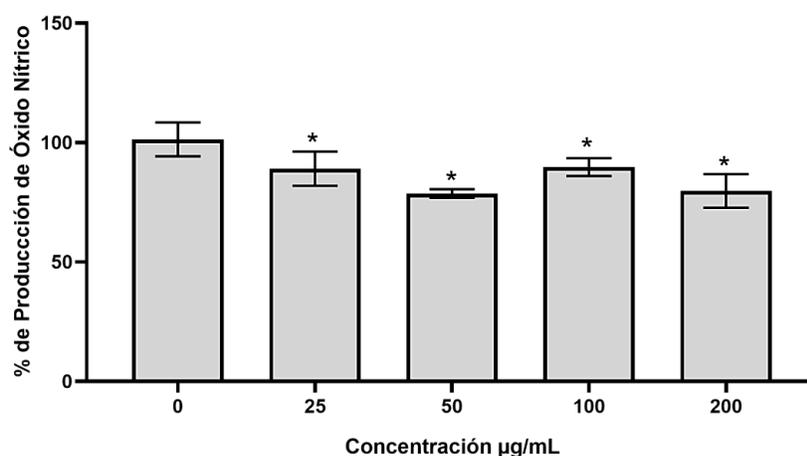


Fig. 3. Efecto en la producción de NO: Efectos del extracto etanólico de callos de *A. californica* sobre la producción de óxido nítrico (NO) en células RAW 264.7 estimuladas con LPS 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, en un intervalo de concentraciones de 25 a 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, *Significancia estadística en comparación con las células control (DMSO), $p < 0.05$ (Prueba de Tukey).

Identificación de Compuestos Fenólicos por ESI-IT-MS-MS

Con la finalidad de elucidar los compuestos presentes en el extracto etanólico de los callos de *A. californica* se utilizó espectrometría de masas en modo de ionización negativo, el cual es el método más pertinente para la identificación de compuestos fenólicos. De esta manera el análisis de los espectros de masas denotó la presencia de 15 compuestos fenólicos, de los cuales 10 son pertenecientes a los ácidos fenólicos y cinco son flavonoides (Tabla 4). Dentro del grupo de los flavonoides se identificó una isoflavona, la genisteína; un flavonol, el kaempferol; un flavano, la [epi]catequina; un flavanonol, la taxifolina; y una flavona, la miricetina-3-*O*-pentósido.

Tabla 5. Identificación de compuestos presentes en el extracto etanólico de callos de *A. californica* mediante FIA-ESI-IT-MS.

Sustancia	Ion precursor [M-H] (<i>m/z</i>)	Iones productos ESI-MS ⁿ (<i>m/z</i>)
Aldehído protocatéquico	137	109 (100)
Ácido protocatéquico	153	109 (100), 137 (29)
Ácido cumárico	163	109 (24), 135 (100)
Ácido gálico	169	125 (100)
Ácido cafeico	179	135 (73), 161 (62)
Ácido quínico	191	83 (18), 93 (63), 109 (33), 111 (26), 127 (100), 137 (14), 171 (67)
Genisteína	269	183 (72), 243 (32)
Kaempferol	285	113 (36), 159 (39), 227 (41), 266 (100)
[Epi]catequina	289	205 (13), 227 (91), 245 (81), 271 (100)
Ácido carboxílico de la brevifolina	291	203 (34), 247 (69)
Ácido elágico	301	185 (22), 229 (35), 257 (41)
Taxifolina	303	153 (12), 234 (92), 275 (58)
Ácido metil-elágico	315	185 (30), 273 (15), 300 (90)
Ácido elágico-pentosa	433	300 (100), 301 (86)
Miricetina 3- <i>O</i> -pentosa	449	279 (100), 317 (72)

DISCUSIÓN

Las plantas han sido por miles de años una fuente valiosa de compuestos bioactivos, tanto es así que el 80% de la población utiliza algún tipo de planta medicinal para el cuidado de su salud (Ávila, 2017). Al respecto *Acalypha californica* es una de las hierbas más utilizadas empíricamente para el tratamiento del cáncer en el Noroeste de México; sin embargo, es una planta que no es cultivada, de manera tal que la especie crece en hábitats expuestos a las actividades antropogénicas y la colecta indiscriminada, resultando en la disminución significativa de las poblaciones silvestres. Bajo esta premisa el presente estudio tuvo como primer objetivo encontrar las mejores condiciones de cultivo *in vitro* para generar callos de *A. californica* con la finalidad de disminuir la presión de las poblaciones silvestres y dar un primer paso en el desarrollo de fuentes de compuestos bioactivos para la obtención de materias primas utilizadas en la elaboración de fitofármacos.

Las principales variables estudiadas en la generación de los callos fueron los diferentes explantes, los cuales podían provenir de hojas, pecíolos, yemas y segmentos nodales; así como la concentración (0.5-2 mg/L) y tipos de reguladores de crecimiento (AIB, BAP y CIN). Resultando que el explante más callogénico fueron las yemas y las concentraciones más efectivas fueron 1.0 mg/L (49.9% de inducción) de BAP y 1.5 mg/L de AIB (55% de inducción); en cambio la suplementación con CIN produjo una pobre callogénesis (14% el valor más alto).

El hecho de que las yemas en combinación con los reguladores utilizados hayan sido el explante más callógeno se debe a las características genéticas propias de *A. californica* y el mecanismo de acción de los fitorreguladores. Algunos autores atribuyen las diferencias en la respuesta de distintos explantes a las características anatómicas y las variaciones en el contenido hormonal endógeno de los mismos pues es justo a nivel de factores de transcripción que actúan las auxinas y citocininas, de manera que en algunas plantas las hojas y los segmentos nodales pueden resultar más callogénicos (Espinosa *et al.*, 2012).

Como se mostró en la tabla 1 la concentración de auxinas y citocininas no siempre tienen un efecto dosis dependiente, ya que podemos observar los mejores porcentajes de inducción de callos de *A. californica* son obtenidos por concentraciones intermedias de AIB o BAP. Al respecto, ha sido evidenciado que una concentración intermedia de auxina y citocininas promueve la inducción de callos, en tanto que una alta concentración de los mismos es propicia para el desarrollo de raíces; sin embargo, el mecanismo molecular del proceso aún no se encuentra claro. Algunos autores plantean que, dependiendo de la planta y sus características genéticas, las auxinas y citocininas pueden causar cambios a nivel de factores de transcripción (vía ARF para las auxinas y vía ARR para las citocininas) que juegan un papel central en la reentrada de las células al ciclo celular (Ikeuchi *et al.*, 2013; Patel *et al.*, 2022).

Contrario a lo presentado en esta investigación CIN sirve para propiciar la callogénesis en especies tales como *Medicago sativa* (alfalfa) y *Azadirachta indica* (Neem) (Farjaminezhad & Garoosi, 2019; Wan *et al.*, 1988). Aunque, a diferencia del presente estudio, en dichas investigaciones CIN siempre fue combinada con una auxina, lo que puede explicar el hecho de que por sí sola no logró una inducción y crecimiento de los callos de *A. californica*. Lo anterior puede deberse a que la auxina AIB regula el crecimiento de la planta y desdiferenciación, la citocinina BAP promueve tanto la división, como diferenciación de las células; en tanto la cinetina CIN solo promueve la división celular. Estos resultados concuerdan con los de (Majumder & Rahman, 2016), quienes encontraron que el mayor porcentaje de inducción de callo en *A. indica* se obtenía en presencia de una combinación de auxinas y citocininas, siendo AIB el más efectivo.

Una vez obtenidos los callos y con la finalidad de continuar con la búsqueda de las mejores condiciones para callos eficientes de *A. californica*, una parte de los callos previamente cultivados en medio suplementado con 1.5 mg/L de AIB o 1.0 mg/L de BAP (los más callogénicos) fueron subcultivados en WPM +1.5 mg/L de AIB y su crecimiento y diferenciación se registró durante seis semanas de incubación. Como se puede apreciar en la figura 2 los callos obtenidos previamente en la concentración de 1.0 mg/L de BAP no desarrollaron raíces y sus brotes fueron de menor tamaño. Numerosas investigaciones en las cuales se estudió la diferenciación de plantas medicinales, como *Ugni molinae*, *Salvia officinalis* L, *Mentha piperita* L. han comprobado que AIB es un regulador de crecimiento que estimula la formación de raíces en plantas leñosas, por lo que el hecho de que no hayan sido generadas raíces y que se obtuvieron brotes más pequeños a partir de los callos inicialmente obtenidos por la suplementación con BAP nos permitió concluir que las mejores condiciones para el crecimiento de callos de *A. californica* es a partir de un explante de yemas inoculado en medio WPM suplementado con 1.5 mg/L de AIB. (Islam & Alam, 2018; Jafari *et al.*, 2017; Rodríguez Beraud *et al.*, 2014).

A. californica es una planta a la cual los grupos étnicos de Sonora y Baja California le atribuyen actividad anticancerígena, dicha propiedad fue evidenciada en un estudio realizado por Rascón *et al.* (2015) en donde la fracción polar del extracto metanólico de *A. californica* mostró actividad antiproliferativa moderada en las líneas celulares cancerosas murinas M12.A^k.C3.F6 (IC₅₀=59.90±1.05 µg/mL) y RAW 264.7 (IC₅₀=58.93±1.26 µg/mL), así como en la línea celular cancerosa humana HeLa (IC₅₀=50.11±1.13 µg/mL); adicionalmente el extracto exhibió actividad diferencial al afectar en menor medida a las células no cancerosas murinas L929 (IC₅₀=100.00±1.09 µg/mL), dicho efecto fue atribuido al contenido de proantocianidinas; sin

embargo el estudio mostró ciertas limitaciones ya que solo se evaluó una línea celular humana y actividades relacionadas con el proceso de carcinogénesis no fueron evaluadas. Así que como un primer esfuerzo para caracterizar tanto química como biológicamente las etapas de desarrollo de *A. californica* en cultivo *in vitro*, las actividades antiproliferativas en líneas cancerosas humanas, la actividad antioxidante *in vitro* y la actividad antiinflamatoria en células del extracto etanólico de los callos de *A. californica* fueron evaluadas; así mismo un perfil químico del mencionado extracto fue realizado utilizando espectrometría de masas.

Para evaluar la actividad antiproliferativa del extracto etanólico de los callos de *A. californica* fueron utilizadas las líneas celulares cancerosas humanas A549, HeLa y MCF-7 utilizando un intervalo de concentraciones de 6.25 a 200 $\mu\text{g/mL}$. Como se puede apreciar la mayor disminución para la proliferación celular (34%) fue obtenida para la línea A549 a una dosis de 200 $\mu\text{g/mL}$; sin embargo, dicho efecto no se considera activo ya que de acuerdo con el NCI para que un extracto sea considerado con propiedad antiproliferativa debe de tener un valor de IC_{50} menor que 30 $\mu\text{g/mL}$. Que el extracto etanólico de los callos no haya tenido un efecto significativo puede deberse a que los compuestos responsables de la actividad antiproliferativa son metabolitos secundarios específicamente proantocianidinas, los cuales poseen una función ecológica en el organismo, en cambio los callos son una masa de células no diferenciadas las cuales aún no producen este tipo de compuestos. La biosíntesis de metabolitos secundarios en el cultivo de tejidos vegetales suele ser baja en los estadios tempranos de desarrollo de la planta, por lo que generalmente la adición de moléculas precursoras al medio de cultivo aumenta la formación del compuesto de interés. Por este motivo, se recomienda realizar dos medios, uno que permita un buen crecimiento celular para permitir el desarrollo de la planta y otro que optimice la producción de metabolitos secundarios una vez formada (Efferth, 2019).

El cáncer es un proceso multifactorial el cual posee una asociación significativa con los procesos oxidantes e inflamatorios. Lo anterior debido a que las especies oxidantes generan mutaciones y daños a las células y tejidos, mismos que disparan un proceso de inflamación crónico que a su vez promueve la diferenciación de células iniciadas a células cancerosas (Moloney & Cotter, 2018). Por esta razón las terapias contra el cáncer deben de considerar múltiples aristas entre ellas la actividad antioxidante y antiinflamatoria de las mismas.

La actividad antioxidante del extracto etanólico de los callos de *A. californica* fue evaluada utilizando cuatro metodologías complementarias. Primeramente, el contenido de compuestos fenólicos totales y de flavonoides fue evaluado utilizando como sustancias de referencia el ácido gálico y el flavanol quercetina, respectivamente. El extracto etanólico de los callos de *A. californica* mostró un alto contenido de fenoles totales (2.6 ± 0.25 GAE/g de extracto) y también de flavonoides totales (1.56 ± 0.25 QE/g de extracto), de acuerdo con las escalas establecidas por (Subedi *et al.*, 2014) y (Bi *et al.*, 2016). Tomando en cuenta que los compuestos fenólicos y uno de sus grupos, los flavonoides, son considerados metabolitos secundarios, sorprenden los altos niveles obtenidos en los extractos de callos, incluso algunos autores sugieren que la formación de tejidos especializados es un requisito previo para la producción de metabolitos secundarios, especialmente compuestos fenólicos (de Queiroz Braga *et al.*, 2015). Sin embargo, la producción de compuestos fenólicos y flavonoides ya ha sido reportado. En un estudio donde se generaron callos de *Ageratina pichichensis* se demostró que estos poseían TCP y TFC muy parecidos a los de las plantas silvestres, esto debido a que a partir de los 20 días los callos empiezan a inducir estrés en el cultivo a causa del consumo de compuestos del sustrato, provocando una síntesis de metabolitos secundarios (Motolinia-Alcántara *et al.*, 2023).

El extracto de callos de *A. californica* presentó una actividad antioxidante especialmente fuerte mediante el ensayo DPPH, según Yuniarti *et al.*, 2020, logrando estabilizar la mitad de la concentración del radical DPPH con una concentración de 44.85 $\mu\text{g/mL}$. Dicha actividad antirradicalaria puede ser explicada debido al alto contenido de compuestos fenólicos y flavonoides del extracto de los callos, ya que la estructura química de estos compuestos los

capacitan para estabilizar y desactivar radicales libres antes de que ataquen a las biomoléculas de la célula. En sistemas vivos la actividad antirradicalaria se encuentra asociada a la prevención de múltiples desordenes crónicos tales como la diabetes, arteroesclerosis, envejecimiento y cáncer (Santamaría-Gómez *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2022).

Los procesos oxidativos no se encuentran asociados únicamente con la actividad de los radicales libres, sino que también se pueden ejercer efectos oxidantes por medio de la oxidación de moléculas por los metales de transición presentes en el cuerpo. Razón por la cual al evaluar la actividad antioxidante de los callos de *A. californica* resultó importante medirla por medio del método FRAP, el cual se fundamenta en la capacidad que tienen los extractos para reducir el hierro en estado férrico (Fe^{3+}) a su estado ferroso (Fe^{2+}); al respecto, de acuerdo con los valores establecidos en la literatura, el extracto de los callos mostró un fuerte poder reductor del hierro con 1.58 ± 0.15 mmol de Fe^{2+} /g de extracto. Dicha actividad se ve relacionada estrechamente con el contenido de compuestos fenólicos del extracto (Vega-Ruiz *et al.*, 2021).

En este contexto, vale la pena reconocer que las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo se tratan tradicionalmente con miembros del género *Acalypha* tales como *A. wilkesiana* var. *macafeana*, *A. indica* Linn. y *A. fruticosa* (Din *et al.*, 2013; Mullick *et al.*, 2013; Rajkumar *et al.*, 2010).

Como se muestra en la Figura 3, la producción de NO, disminuyó ligeramente en los macrófagos RAW 264.7 estimulados con LPS tratados con la concentración de 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de extracto etanólico de los callos (24%), en tanto que a concentraciones mayores el efecto inhibitorio fue menor. Este comportamiento puede deberse a la clase de compuestos fenólicos contenidos en los callos, ya que solo ciertos tipos de compuestos fenólicos tales como los flavonoides se ven asociados a la actividad antiinflamatoria; además ha sido documentado que, si bien los compuestos fenólicos pueden tener efectos antiinflamatorios en ciertas concentraciones, a concentraciones mayores pueden presentar un efecto pro-oxidante y pro-inflamatorio (Rahman *et al.*, 2022).

En el estudio biodirigido realizado por (Rascón-Valenzuela *et al.*, 2015) sobre la actividad antiproliferativa del extracto metanólico de *A. californica* se estudió la composición de la fracción residual de dicho extracto por espectrometría de masas, encontrando que la mayoría de los compuestos eran pertenecientes a la familia de las proantocianidinas. Contrariamente al generar el perfil químico del extracto etanólico de los callos de *A. californica* mediante espectrometría de masas fueron encontradas estructuras de ácidos fenólicos y flavonoides principalmente.

Lo anterior puede deberse a que si bien en los callos se genera estrés por los nutrientes propiciando las condiciones para la síntesis de compuestos fenólicos tales como los ácidos fenólicos y flavonoides, dicho estrés no provoca la síntesis de las proantocianidinas encontradas en los extractos de las plantas silvestres ya que estas se ven mayormente favorecidas por el enfrentamiento contra patógenos, la presencia de metales pesados y altas radiaciones UV, es decir, condiciones propias de un organismo en un ecosistema (Yu *et al.*, 2022).

En tanto los ácidos fenólicos y los flavonoides de los callos pueden obedecer mayormente a atender procesos de oxidación metabólica dentro de las células en crecimiento (Liu *et al.*, 2015). A su vez, la presencia de los ácidos fenólicos y los flavonoides en el extracto etanólico de los callos fundamenta la actividad antioxidante y antiinflamatoria encontrada en el presente estudio.

CONCLUSIONES

La realización de la presente investigación permitió establecer las mejores condiciones para la generación de callos de *A. californica*, siendo estas la utilización de yemas para los explantes y el medio WPM suplementado con 1.5 mg/L de AIB. Aunado a lo anterior se puede concluir que los callos generados son capaces de producir ácidos fenólicos y flavonoides los cuales son responsables de la alta actividad antioxidante y anti-inflamatoria exhibida por el extracto etanólico de los callos. En este nivel de desarrollo, los callos no poseen actividad antiproliferativa significativa en líneas celulares cancerosas; sin embargo, el hecho de que presente actividad antiinflamatoria y antioxidante puede ayudar a prevenir el desarrollo de los procesos cancerosos, ya que tanto la inflamación como la oxidación juegan un fuerte papel en la generación de estos. De manera que la información generada representa un primer paso en el desarrollo de cultivos *in vitro* de *A. californica*, así como un soporte científico a las propiedades atribuidas por las etnias.

LITERATURA CITADA

- Aggarwal, V., Tuli, H. S., Varol, A., Thakral, F., Yerer, M. B., Sak, K., Varol, M., Jain, A., Khan, M. A., & Sethi, G. (2019). Role of reactive oxygen species in cancer progression: Molecular mechanisms and recent advancements. In *Biomolecules* (Vol. 9, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/biom9110735>
- Ávila Martínez, C. J. (2017). La medicina tradicional en la pobreza. *Revista de Comunicación y Salud*. <http://revistadecomunicacionysalud.org/index.php/rcys/article/view/126>
- Avinash Prakasha & S Umesha. (2018). Effect of growth hormones in induction of callus, antioxidants, and antibacterial activity in *Nerium odorum*. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 21–25. <https://doi.org/10.7324/jabb.2018.60404>
- Babich, O., Sukhikh, S., Pungin, A., Astahova, L., Chupakhin, E., Belova, D., Prosekov, A., & Ivanova, S. (2021). Evaluation of the conditions for the cultivation of callus cultures of *hyssopus officinalis* regarding the yield of polyphenolic compounds. *Plants*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/plants10050915>
- Bi, W., He, C., Ma, Y., Shen, J., Zhang, L. H., Peng, Y., & Xiao, P. (2016). Investigation of free amino acid, total phenolics, antioxidant activity and purine alkaloids to assess the health properties of non-Camellia tea. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 6(2), 170–181. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.11.003>
- Crespo, G., Di Toro, L. A., Desiree, V., Perez Vicuña, J. L., Díaz, M. P., Souki, A., Cano, C., & Salazar, J. (2020). Oxidative stress and its role in cancer: a molecular perspective. *Ciencia e Innovación En Salud*. <https://doi.org/10.17081/innosa.97>
- de Queiroz Braga, K., Coimbra, M. C., Hortência, A., & Castro, F. (2015). In vitro germination, callus induction and phenolic compounds contents from *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers. *Acta Scientiarum. Biological Sciences Maringá*, 37(2), 151–158. <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v37i2>
- De-Souza, R., Adams, C. R., De-Melo, R. C., Guidolin, A. F., Michel, A., & Coimbra, J. L. M. (2022). Growth regulators and their reflection on different hop genotypes cultivated under *in vitro* conditions. *Brazilian Journal of Biology*, 82. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.242596>
- Din, W. M., Chu, J., Clarke, G., Jin, K. T., Bradshaw, T. D., Fry, J. R., & Wiart, C. (2013). Antioxidant and Cytoprotective Effects of an Ethanol Extract of *Acalypha wilkesiana* var. *macafeana* from Malaysia.
- Efferth, T. (2019). Biotechnology Applications of Plant Callus Cultures. In *Engineering* (Vol. 5, Issue 1, pp. 50–59). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.006>
- Espinosa, A., Silva, J., Sariego, S., Cholo Masapanta, L., & Delgado, H. (2012). Effect of explant type and concentration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on callus formation in *Morus alba* L (Vol. 35, Issue 4).

- INEGI. (2021). Comunicado de prensa núm. 600. estadísticas de defunciones registradas 2021.: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/614743/sem53.pdf>
- Islam, A. T. M. R., & Alam, M. F. (2018). *In vitro* callus induction and indirect organogenesis of *Mentha piperita* (L.) - an aromatic medicinal plant. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 049–060. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2018.4.3.0078>
- Jafari, S., Daneshvar, M. H., Salmi, M. S., & Jalal-Abadi, A. L. (2017). Indirect Organogenesis and Plant Regeneration in Common Sage (*Salvia officinalis* L.): An Important Medicinal Plant of Iran. *Modern Applied Science*, 11(5), 22. <https://doi.org/10.5539/mas.v11n5p22>
- Johan Steven Alcantara Cortes. (2019). Principales reguladores hormonales y sus interacciones en el crecimiento vegetal Main hormonal regulators and their interactions in plant growth. *NOVA*, 17(32), 109–129.
- Kargozar, S., Mollazadeh, S., Kermani, F., Webster, T. J., Nazarnezhad, S., Hamzehlou, S., & Baino, F. (2022). Hydroxyapatite Nanoparticles for Improved Cancer Theranostics. In *Journal of Functional Biomaterials* (Vol. 13, Issue 3). MDPI. <https://doi.org/10.3390/jfb13030100>
- Korde Choudhari, S., Chaudhary, M., Bagde, S., Gadail, A. R., & Joshi, V. (2013). Nitric oxide and cancer: A review. In *World Journal of Surgical Oncology* (Vol. 11). <https://doi.org/10.1186/1477-7819-11-118>
- Liu, J., Osbourn, A., & Ma, P. (2015). MYB transcription factors as regulators of phenylpropanoid metabolism in plants. In *Molecular Plant* (Vol. 8, Issue 5, pp. 689–708). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.03.012>
- Majumder, S., & Rahman, M. M. (2016). Development of A Successful Protocol for In vitro Callus Induction and Indirect Plant Regeneration of *Acalypha indica* L. *American International Journal of Research in Formal, Applied & Natural Sciences AIJRFANS*, 16–223. <http://www.iasir.net>
- Motolinia-Alcántara, E. A., Franco-Vásquez, A. M., Nieto-Camacho, A., Arreguín-Espinosa, R., Rodríguez-Monroy, M., Cruz-Sosa, F., & Román-Guerrero, A. (2023). Phenolic Compounds from Wild Plant and In Vitro Cultures of *Ageratina pichichensis* and Evaluation of Their Antioxidant Activity. *Plants*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/plants12051107>
- Mullick, A., Martin, J., & Sallnow, L. (2013). An introduction to advance care planning in practice. In *BMJ (Online)* (Vol. 347, Issue 7930). <https://doi.org/10.1136/bmj.f6064>
- Nitin Singh, Deepak Baby, Jagadish Prasad Rajguru, Pankaj B Patil, Savita S Thakkannavar, & Veena Bhojaraj Pujari. (2019). Inflammation and Cancer. *Ann Afr Med*, 18(3), 121–126. https://doi.org/10.4103/aam.aam_56_18
- Ochatt, S., Alan, A. R., Bhattacharya, A., Hano, C., Kiselev, K. v., Marconi, P. L., Otoni, W. C., Park, S. Y., Tang, K. X., & Weathers, P. J. (2022). Secondary metabolites: a boon from plants, the best chemist in nature: preface from the editors. In *Plant Cell, Tissue, and Organ Culture* (Vol. 149, Issues 1–2). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11240-022-02289-2>
- Patel, P., Patel, V., Modi, A., Kumar, S., & Shukla, Y. M. (2022). Phyto-factories of anti-cancer compounds: a tissue culture perspective. In *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences* (Vol. 11, Issue 1). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1186/s43088-022-00203-5>
- Pimentel Victório, C., Borges Henriques, A., Tavares, E. S., Esquibel, M. A., Luiz, C., & Lage, S. (2010). *Standardized production of Phyllanthus tenellus Roxb. by plant tissue culture 1 Produção padronizada de Phyllanthus tenellus Roxb. por cultura de tecidos vegetais*. 2, 272–278. www.ccarevista.ufc.br
- Purwianingsih, W., Febri, S., & Kusdianti, K. (2016). Formation flavonoid secondary metabolites in callus culture of *Chrysanthemum cinerariifolium* as alternative provision medicine. *AIP Conference Proceedings*, 1708. <https://doi.org/10.1063/1.4941150>

- Rajkumar, V., Guha, G., & Ashok Kumar, R. (2010). Therapeutic potential of *Acalypha fruticosa*. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1709–1713. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.03.050>
- Rascón Valenzuela, L. A. (2015). Caracterización química y biológica de los compuestos con actividad antiproliferativa del extracto metanólico de *Asclepias subulata* (Decne., 1844). Universidad de Sonora.
- Rascón-Valenzuela, L., Jiménez-Estrada, M., Velázquez-Contreras, C., Garibay-Escobar, A., Vilegas, W., Campaner, L., Coqueiro, A., & Robles-Zepeda, R. E. (2015). Chemical composition and antiproliferative activity of *Acalypha californica*. *Industrial Crops and Products*, 69, 48–54. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.004>
- Ríos-Ramírez, S. C., Enríquez-Del Valle, J. R., Rodríguez-Ortiz, G., & Ruíz-Luna, J. (2017). Concentración de bencilaminopurina y ácido indolacético en la proliferación in vitro de brotes adventicios de *agave angustifolia*. In *Ciencia e Investigacion Agraria* (Vol. 44, Issue 3, pp. 285–294). Pontificia Universidad Catolica de Chile, Facultad de Agronomia e Ingenieria Forestal. <https://doi.org/10.7764/rcia.v44i3.1810>
- Rodríguez Beraud, M. M., Iatsague Vidal, M. I., Chacón Fuentes, M. A., & Astorga Brevis, P. K. (2014). Inducción in vitro de callogénesis y organogénesis indirecta a partir de explantes de cotiledón, hipocótilo y hoja en *Ugni molinae*. *Bosque*, 35(1), 111–118. <https://doi.org/10.4067/S0717-92002014000100011>
- Sagharyan, M., Ganjeali, A., Cheniany, M., & Kouhi, S. M. M. (2020). Optimization of callus induction with enhancing production of phenolic compounds production and antioxidants activity in callus cultures of nepeta *binaloudensis jamzad* (Lamiaceae). *Iranian Journal of Biotechnology*, 18(4), 47–55. <https://doi.org/10.30498/IJB.2020.2621>
- Sánchez-Rangel, J. C., Benavides, J., Heredia, J. B., Cisneros-Zevallos, L., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2013). The Folin-Ciocalteu assay revisited: Improvement of its specificity for total phenolic content determination. *Analytical Methods*, 5(21), 5990–5999. <https://doi.org/10.1039/c3ay41125g>
- Santamaría-Gómez, J. M., Piloni-Martini, J., Quintero-Lira, A., Bernardino-Nicator, A., & Güemes-Vera, N. (2018). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante antes y después del proceso de extrusión. resumen (Vol. 3).
- Schmölz, L., Wallert, M., Rozzino, N., Cignarella, A., Galli, F., Gleis, M., Werz, O., Koeberle, A., Birringer, M., & Lorkowski, S. (2017). Structure–Function Relationship Studies In Vitro Reveal Distinct and Specific Effects of Long-Chain Metabolites of Vitamin E. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(12). <https://doi.org/10.1002/mnfr.201700562>
- Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*, 150. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111932>
- Siegel, R. L., Miller, K. D., Fuchs, H. E., & Jemal, A. (2022). Cancer statistics, 2022. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 72(1), 7–33. <https://doi.org/10.3322/caac.21708>
- Subedi, L., Timalseña, S., Duwadi, P., Thapa, R., Paudel, A., & Parajuli, K. (2014). Antioxidant activity and phenol and flavonoid contents of eight medicinal plants from Western Nepal. *J Tradit Chin Med*, 34(5), 584–590. <http://www.journaltcm.com>
- Thummadi, N. B., Mallikarjuna, T., Vindal, V., & Manimaran, P. (2022). Prioritizing the candidate genes related to cervical cancer using the moment of inertia tensor. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 90(2), 363–371. <https://doi.org/10.1002/prot.26226>
- Todoric, J., & Karin, M. (2019). The Fire within: Cell-Autonomous Mechanisms in Inflammation-Driven Cancer. In *Cancer Cell* (Vol. 35, Issue 5, pp. 714–720). Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.04.001>
- Vega-Ruiz, Y. C., Hayano-Kanashiro, C., Gámez-Meza, N., & Medina-Juárez, L. A. (2021). Determination of chemical constituents and antioxidant activities of leaves and stems from *Jatropha cinerea* (Ortega) Müll. Arg. and *Jatropha cordata* (Ortega) Müll. Arg. *Plants*, 10(2), 1–13. <https://doi.org/10.3390/plants10020212>

Recibido:
27/febrero/2023

Aceptado:
30/junio/2023

- Yu, K., Song, Y., Lin, J., & Dixon, R. A. (2022). The complexities of proanthocyanidin biosynthesis and its regulation in plants. In *Plant Communications*. Cell Press. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2022.100498>
- Yuniarti, R., Nadia, S., Alamanda, A., Zubir, M., Syahputra, R. A., & Nizam, M. (2020). Characterization, Phytochemical Screenings and Antioxidant Activity Test of Kratom Leaf Ethanol Extract (*Mitragyna speciosa* Korth) Using DPPH Method. *Journal of Physics: Conference Series*, 1462(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1462/1/012026>
- Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., & Zhang, Y. (2022). A Brief Review of Phenolic Compounds Identified from Plants: Their Extraction, Analysis, and Biological Activity. In *Natural Product Communications* (Vol. 17, Issue 1). SAGE Publications Inc. <https://doi.org/10.1177/1934578X211069721>

**DINÁMICA DE LA ETNOBOTÁNICA MÉDICA
DE LOS POBLADORES DE CÓRDOBA,
ARGENTINA. APORTES DE LA ENCUESTA
NACIONAL DE FOLKLORE (1921) A LA
COMPRENSIÓN DE LOS CAMBIOS EN EL USO
Y PERCEPCIÓN DE PLANTAS MEDICINALES**

**DYNAMICS OF THE MEDICAL
ETHNOBOTANY OF THE INHABITANTS OF
CÓRDOBA, ARGENTINA. CONTRIBUTIONS
OF THE NATIONAL SURVEY OF FOLKLORE
(1921) TO UNDERSTANDING CHANGES IN
THE USE AND PERCEPTION OF MEDICINAL
PLANTS**

Trillo, Cecilia y Bárbara Arias Toledo

DINÁMICA DE LA ETNOBOTÁNICA MÉDICA DE LOS POBLADORES DE CÓRDOBA, ARGENTINA. APORTES DE LA ENCUESTA NACIONAL DE FOLKLORE (1921) A LA COMPRENSIÓN DE LOS CAMBIOS EN EL USO Y PERCEPCIÓN DE PLANTAS MEDICINALES

DYNAMICS OF THE MEDICAL ETHNOBOTANY OF THE INHABITANTS OF CÓRDOBA, ARGENTINA. CONTRIBUTIONS OF THE NATIONAL SURVEY OF FOLKLORE (1921) TO UNDERSTANDING CHANGES IN THE USE AND PERCEPTION OF MEDICINAL PLANTS



**Dinámica de la etnobotánica médica de los pobladores de Córdoba, Argentina.
Aportes de la Encuesta Nacional de Folklore (1921) a la comprensión de los cambios
en el uso y percepción de plantas medicinales**

**Dynamics of the medical ethnobotany of the inhabitants of Córdoba, Argentina.
Contributions of the national survey of Folklore (1921) to understanding changes in the use
and perception of medicinal plants**

Trillo, Cecilia y
Bárbara Arias Toledo

DINÁMICA DE LA
ETNOBOTÁNICA MÉDICA
DE LOS POBLADORES DE
CÓRDOBA, ARGENTINA.
APORTES DE LA ENCUESTA
NACIONAL DE FOLKLORE
(1921) A LA COMPRESIÓN
DE LOS CAMBIOS EN EL
USO Y PERCEPCIÓN DE
PLANTAS MEDICINALES

DYNAMICS OF THE
MEDICAL ETHNOBOTANY
OF THE INHABITANTS OF
CÓRDOBA, ARGENTINA.
CONTRIBUTIONS OF THE
NATIONAL SURVEY OF
FOLKLORE (1921) TO
UNDERSTANDING
CHANGES IN THE USE AND
PERCEPTION OF MEDICINAL
PLANTS

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 225-248. Julio 2023

DOI:

10.18387/polibotanica.56.12

Cecilia Trillo / ctrillo@exactas.unca.edu.ar
<https://orcid.org/0000-0002-3856-3912>

*Instituto Regional de Estudios Socioculturales (IRES, CONICET/UNCA).
Cátedra de Botánica aplicada, FACEN, Universidad Nacional de Catamarca.*

Bárbara Arias Toledo / <https://orcid.org/0000-0002-2758-569X>
Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV – CONICET/UNC)

RESUMEN: La Etnobotánica Médica es uno de los componentes claves que mantienen la salud de los pobladores, poseen sus raíces en las generaciones pasadas y fueron transmitidos de manera oral hasta la actualidad incorporando todos los cambios sociales, económicos y ambientales. A partir de la Encuesta Nacional de Folklore de 1921 generada por docentes de todo el territorio provincial se sistematizaron los datos conservados en microfilms y se compararon con los datos etnobotánicos actuales presentes en publicación especializadas. En la actualidad se registra la vigencia del 94% de las especies identificadas, además el abandono, transformaciones y resignificaciones en el uso y percepción de las 205 plantas medicinales mencionadas hace más de 100 años, dando cuenta de la vitalidad del patrimonio biocultural.

Palabras claves: Etnobotánica histórica; Córdoba; plantas medicinales; continuidad; cambios.

ABSTRACT: Medical Ethnobotany is one of the key components that maintain the health of the inhabitants, they have their roots in past generations and were transmitted orally to the present day, incorporating all social, economic and environmental changes. Based on the National Folklore Survey of 1921 generated by teachers from all over the province, the data preserved in microfilms were systematized and compared with current ethnobotanical data present in specialized publications. Currently the validity of 94% of the spp identified is registered, and the abandonment, transformations and resignifications in the use and perception of the 205 medicinal plants mentioned more than 100 years ago, accounting for the vitality of the ethnobotanical cultural heritage.

Key words: History Ethnobotany; Córdoba; medicinal plants; continuity; change.

INTRODUCCIÓN

El Sistema Etnomédico (SEM) presente en la provincia de Córdoba es un complejo entramado de componentes, que incluye la ampliamente conocida farmacopea, plantas con atributos simbólicos de curación, prácticas vinculadas a números y símbolos, rezos y oraciones arraigados en la religiosidad española y la intermediación de personas con poder de sanar, dentro y fuera del sistema oficial de salud. Este vasto sistema de conocimientos, usos y valoraciones, que se articulan y complementan como un todo, ha sido ampliamente estudiado desde una perspectiva etnobotánica en todo el territorio de la provincia, por diferentes autores (Arias Toledo *et al.*; 2007, 2009; Luján & Martínez, 2017, 2019; Martínez, 2010; Trillo, 2010; Trillo *et al.*; 2010, y Trillo & Audisio, 2018).

Uno de los componentes de este complejo entramado es el conjunto de plantas, sus usos y significados para los pobladores, designado como Etnobotánica Médica (EM). Los estudios etnobotánicos, al abordar las prácticas y los significados relacionadas al mundo vegetal, en un espacio y momento determinado, para una sociedad en particular, son reflejo de las características culturales, ecológicas, históricas y sociales de un grupo humano (Rosso & Scarpa, 2019). Es por ello que entendemos que el Sistema Etnomédico actual de la provincia de Córdoba hunde sus raíces en la historia social, económica y ambiental a la que se vio expuesto el territorio cordobés. En tal sentido, Córdoba constituye una porción más del espacio sudamericano que se definió a través de su constitución humana originaria, el devenir de la conquista hispana, las luchas por la independencia y la modernización del estado hasta nuestros días (Bischoff, 1977), (Dómina, 2003). Analizar un breve período de tiempo de nuestra rica historia nos ayudará a comprender mejor las transformaciones culturales que se sucedieron, las pérdidas y modificaciones detectadas y, a partir de allí nos permitirá especular sobre los posibles caminos a futuro. Para este análisis proponemos, entonces, una mirada desde la Etnobotánica Histórica, que analiza las fuentes históricas como principal recurso para comprender la relación que las sociedades establecieron con su entorno vegetal en un lugar y tiempo determinados (Rosso, 2015), y tiene como principal objetivo estudiar el conocimiento, a partir de fuentes históricas, como recurso para comprender las relaciones de las sociedades humanas en constante transformación económica y social, con condiciones ecológicas y culturales que sufrirán modificaciones a lo largo del tiempo (Medeiros, 2009).

En Argentina existen abordajes desde la Etnobotánica Histórica concentrados básicamente en el litoral noroeste del país tales como Rosso (2013) y Scarpa & Rosso (2018, 2019) para la provincia de Santa Fe, siendo estas publicaciones referentes en el tema porque constituyen los primeros trabajos que abordan aspectos etnobotánicos de la Encuesta Nacional del Folklore (ENF); (Scarpa & Anconatani, 2017) en Formosa; el estudio de los envíos nacionales a la Feria Internacional de París realizado también por (Scarpa, 2017); como así también los aportes de Stampella *et al.*; 2019; Arbello *et al.*; 2020) y (Scarpa & Anconatani, 2021) que abordan los aportes e influencia de los jesuitas misioneros del NE del país.

En Córdoba los estudios que incorporan una dimensión histórica son puntuales, pudiendo destacarse la primera aproximación de Trillo *et al.*; (2010), que busca determinar la persistencia en la memoria colectiva de las plantas medicinales a través del estudio de la obra de folkloristas, geógrafos y los primeros botánicos de nuestro país; y la de (Trillo & López, 2023) que se concentra en las plantas alimenticias, sumando múltiples herramientas de la arqueología y desde una perspectiva multidisciplinar. Ya específicamente utilizando a la ENF como fuente de datos, (Rosalía, 2019) describe el uso de 2 especies, el “cachiyuyo” (*Atriplex* sp.) y la “calauchina” (*Petiveria alliacea* L) - como protectoras ante acciones de brujería, desde una perspectiva antropológica; y, finalmente, aplicando la perspectiva etnohistórica para estudios etnozoológicos, encontramos las recientes publicaciones de (Arias Toledo & Trillo, 2023a) sobre los augurios como formas de transmutación zoosemiótica que reflejan la dualidad naturaleza-cultura y que poseen raíces nativas e hispánicas en la vida de los pobladores cordobeses y otra (Arias Toledo & Trillo, 2023b) acerca de los zooterápicos desde una perspectiva analítica y comparativa con la realidad actual.

Sin embargo, no se registran aún estudios de la ENF desde la comprensión integral del uso de las plantas medicinales con perspectiva histórica, así como el análisis de las continuidades y los abandonos o transformaciones que ocurrieron a lo largo de la historia del último siglo. Es por ello que, en esta oportunidad nos proponemos sistematizar el conocimiento de plantas medicinales, sus usos y percepciones registrados en la ENF del 1921, contrastándolo con publicaciones actuales sobre etnobotánica médica en la provincia de Córdoba, para identificar aquellas percepciones y usos transformados o resignificados y los abandonados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Contextualización de ENF

De acuerdo a lo explicitado en el tomo 1 del Catálogo de la Colección de Folklore (1925), en 1921 el Consejo Nacional de Educación solicitó a los maestros de las escuelas primarias a cargo del gobierno nacional creadas mediante la “Ley Láinez” (Ley N° 4.874), (Pineau, 2007) la recolección de los elementos folklóricos que encontrarán en sus jurisdicciones, con la intención de recabar aspectos de la cultura tradicional oral. La iniciativa provenía de una presentación realizada el 1 de marzo de 1921 ante el Consejo Nacional de Educación por su vocal, Dr. Juan P. Ramos, quien decía “creo que el Consejo podría recoger, por intermedio de sus escuelas de la ley Láinez, todo el material disperso del folklore, de poesía y de música, que está en vías de desaparecer de nuestro país por el avance del cosmopolitismo. Tal es el espíritu de la presente proposición, cuyo resultado debemos confiar a la inteligencia y actividad de sus inspectores nacionales y de los maestros de esas escuelas”.

Se les recomendaba explícitamente que la recolección no debía contener ningún elemento “exótico al suelo”, que podía aparecer como consecuencia de la gran oleada inmigratoria de principios del siglo XX, y que el material que se recoja sea “ante todo, antiguo, de nuestra misma lengua o también de lenguas indígenas”. Con lo recopilado en tales encuestas, se genera la Colección de Folklore, catalogada entre 1925 y 1928 por el Instituto de Literatura Argentina de la Facultad de Filosofía y Letras de la Universidad de Buenos Aires, bajo la dirección de Ricardo Rojas, y conservada por el Instituto Nacional de Antropología y Pensamiento Latinoamericano (INAPL) desde septiembre de 1951 (Espósito & Di Croce, 2013), constituyendo así la primera recopilación sistemática de la cultura popular de nuestro país (Arovich de Bogado, 2005).

(Espósito & Di Croce, 2013) caracterizaron esta obra, destacando que la tarea se realizó con éxito y los maestros devolvieron mayoritariamente legajos muy completos con el material recolectado. Estos autores especifican que sus pliegos constituyen un valiosísimo documento que rescata la memoria popular y conforman uno de los archivos folklóricos más ricos del continente. Pero, además de eso, proponen que la realización de la ENF es un episodio fundamental de la batalla cultural del nacionalismo y ofrece un enorme potencial para un abordaje desde una perspectiva vinculada con la historia social y cultural de nuestro país.

El material está separado por provincias y se halla preservado en la forma de rollos de microfilms, además desde el año 2020 también se encuentra disponible en la web del INAPL. Cada uno de los legajos referidos consiste en informes de los docentes redactados de forma manuscrita y, excepcionalmente, mecanografiado. Cada uno de ellos consta de una carátula en la que figura n° de legajo, n° de escuela, localidad y nombre del/la docente que lo redactó. Su extensión varía desde una página hasta varias decenas, incluso separadas entre sí en la forma de varios “envíos” numerados correlativamente. En ocasiones, algunas páginas hacen alusión a distintos “informantes” –no docentes; en ninguna oportunidad se explicita el mecanismo de selección de “informantes” ni de la metodología llevada adelante.

CLASIFICACIÓN

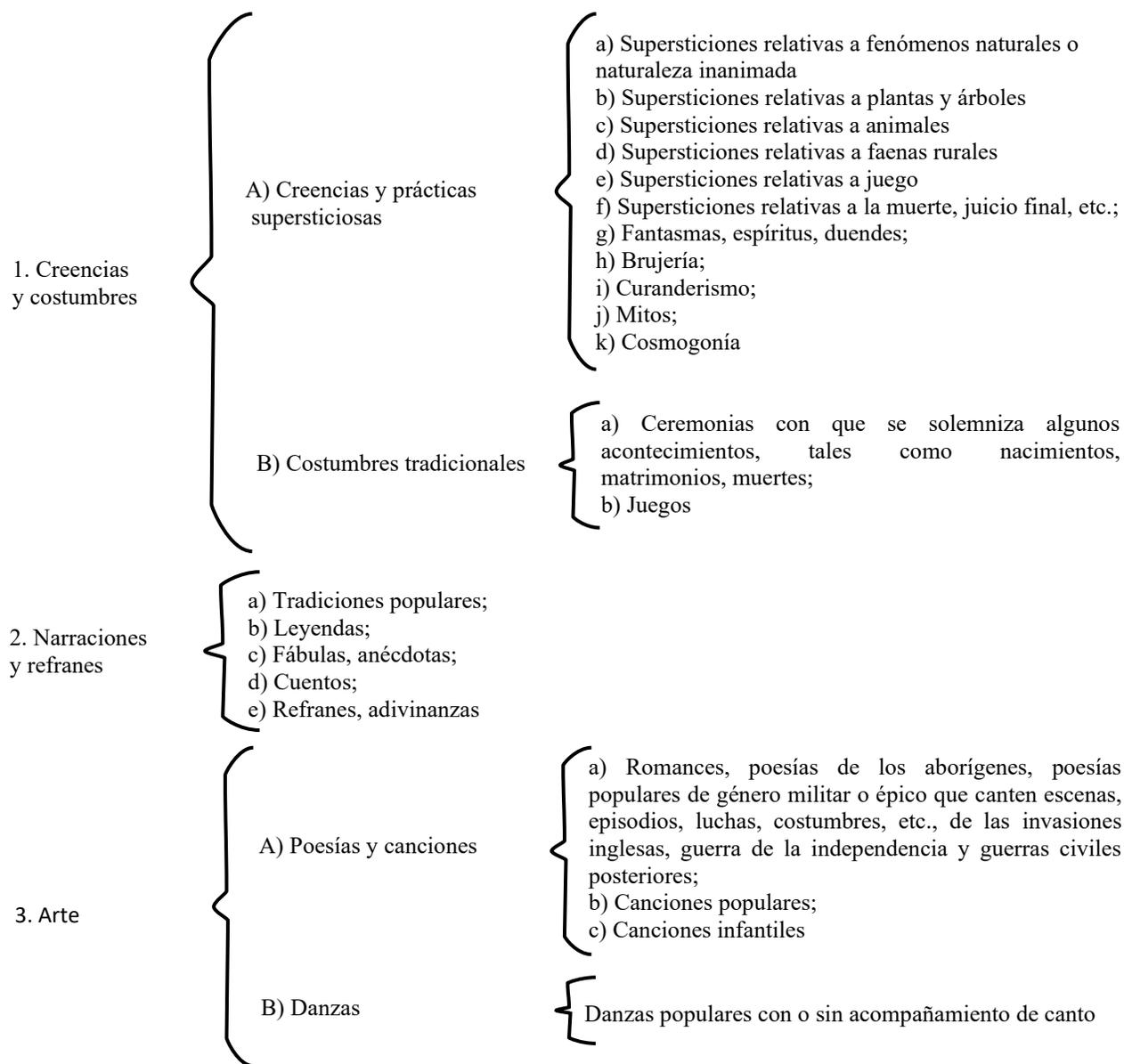


Fig. 1. Modelo establecido de la encuesta, esta estructura debía replicarse en todas las provincias para todos los colaboradores seleccionados.

Análisis de los datos

El abordaje metodológico se llevó adelante siguiendo los lineamientos de (Scarpa & Rosso, 2018) identificando el nombre científico cuando eso fuera posible. Se consideró como "dato etnobotánico" a aquella referencia presente en el texto que brindaba información de una especie botánica y el uso que se realizaba de ella como mínimo; en algunas oportunidades también se hacía referencia a los órganos o forma de aplicación. Con estos datos se generó un archivo Excel sistematizado luego en la Tabla 1 en la que se indican nombre común, nombre científico (cuando fue posible), origen (nativa o exótica), uso y presencia en la bibliografía actual. Por último, se clasificaron a las plantas según su uso sea medicinal o como augurio, entendiendo esta última concepción como "presagio o indicio de algo futuro" (Arias Toledo & Trillo, 2023a).

De entre la clasificación que ofrece el Catálogo de la Colección de Folklore, para el presente estudio se relevó todo lo registrado bajo los ítems 1) Creencias y costumbres; A) Creencias y prácticas supersticiosas; A. b) supersticiones relativas a plantas y árboles; A. i) curanderismo (Fig. 1).

Específicamente, para el análisis de la provincia de Córdoba se analizaron los microfilms pertenecientes al Tomo VI, rollos 10, 11, 12, 13, 14 y 15 que sintetiza los registros de 96 localidades pertenecientes a las 3 provincias fitogeográficas presentes en la provincia: Espinal, Bosque chaqueño y Llanura pampeana (Cabrera, 1976) (Fig. 2).

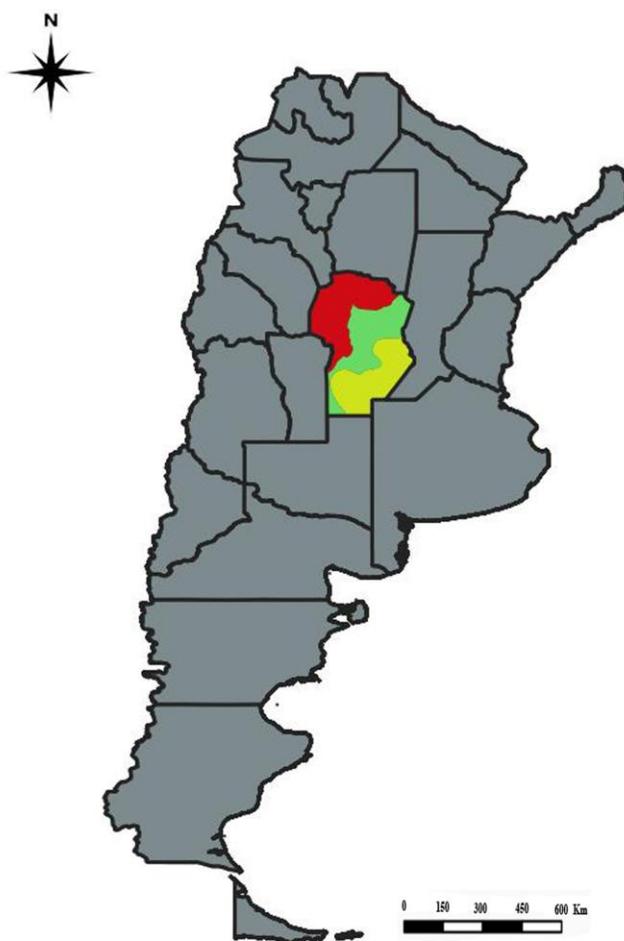


Fig. 2. Ecorregiones de la provincia de Córdoba, (amarillo) Llanura Pampeana, (verde) Espinal y (rojo) Bosques Chaqueños. Tomado de Brown & Pacheco (2005).

De acuerdo al trabajo histórico sobre mano de obra y condiciones laborales (Arcondo, 1972), la revisión histórica de los procesos de modernización de Ortiz Bergia *et al.* (2015) y los análisis biodemográficos (Kuffer, 2019), el contexto socioeconómico de la provincia produjo que los departamentos de reciente colonización del este y del sur de la provincia (Llanura pampeana) se convirtieron en zonas de intensa actividad económica y social, pues la fertilidad del suelo y la extensión del ferrocarril, permitieron su plena inserción en el modelo agroexportador a partir de la producción de cereales y carnes. En contraposición, los departamentos de antigua colonización del norte y el oeste (Bosques chaqueños y Espinal) quedaron rezagados,

manteniendo una agricultura tradicional y de subsistencia, con claros signos de estancamiento o, incluso, de atraso y marginalidad, sin integración al mercado internacional, industrialización ni urbanización creciente de la población.

Para identificar las especies y usos mencionadas en la ENF se utilizaron como referencia los trabajos folclóricos de (Di Lullo, 1946), los aportes de (Villafuerte, 1984); (Río & Achával, 1905) y (De la Peña & Pensiero, 1990).

Para analizar los usos asignados se utilizó la clasificación del sistema de órganos al que fue adjudicada, siguiendo la propuesta de Scarpa (2012), y con esta información se generó la Fig. 2.

A los fines de permitir el análisis del origen de las especies mencionadas se utilizó la propuesta de (Anton & Zuloaga, 2023), que permitió verificar si la especie es nativa, adventicia, naturalizada o introducida. Se consultó la base de datos (TROPICOS, 2023) del Missouri Botanical Garden, para la actual denominación científica de las especies exóticas. Se consideró especies cultivadas y disponibles en los comercios a aquellas que no aparecen en la citada base de datos nacional y que son mencionadas por los pobladores actuales como plantas disponibles en huertas, jardines y otras unidades de paisaje doméstico, en ferias, dietéticas y comercios.

Para referenciar el uso actual de las especies mencionadas en la ENF se realizaron contrastaciones con publicaciones actuales sobre Etnobotánica Médica de diversos grupos de trabajo. Específicamente, los trabajos contrastados son:

1. Barboza G.E, Cantero J.C., Nuñez C.O. y L. Ariza Espinar (2006). *Flora medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina) Pteridófitas y Antófitas silvestres o naturalizadas*. Museo Botánico. Córdoba, Argentina.
2. Trillo, C., Arias Toledo, B., Galetto, L., & Colantonio, S. (2010). Persistencia of the use of medicinal plants in rural communities of the Western Arid Chaco (Córdoba, Argentina). *Open Journal of Complementary Medicine* 2, 80-87.
3. Arias Toledo, B., Trillo, C., Grilli, M., Colantonio, S., & Galetto, L. (2014). Relationships between Land-Use Types and plants species used by traditional ethno-medicinal system. *European Journal of Medicinal Plants* 4(9), 998-1021.
4. Luján, M. C., & Martínez, G. J. (2017). Dinámica del conocimiento etnobotánico en poblaciones urbanas y rurales de Córdoba (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 16, 278-302.
5. Trillo, C., & Audisio, C. (2018). Las plantas medicinales de los huertos de pobadores de diferente tradición cultural en Bosuques Chaqueños de Córdoba, Argentina. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 104-119.
6. Luján, M. C., & Martínez, G. J. (2019). Etnobotánica médica urbana y periurbana de la ciudad de Córdoba, (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 18(2), 155-196.
7. Martínez, G. J. (2010). *Las plantas de la Medicina tradicional de las Sierras de Córdoba: un recorrido por la cultura campesina de Pafravachasca y Calamuchita*. Córdoba: El Copista.

Para la confección de la Figura 2 se utilizaron los datos de menciones de las especies con un mínimo de cinco, de esta manera se acumulaba más del 50 % de los datos y se podía ilustrar la dominancia de especies.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de diversidad interviniente en el Sistema Etnomédico mencionado en la Encuesta Nacional de Folklore

Se determinaron 641 menciones de plantas medicinales, referidas a 205 plantas medicinales pertenecientes a 77 familias botánicas. Entre ellas, 193 se pudieron identificar hasta el nivel taxonómico de especie y 31 hasta el nivel de género, 12 plantas mencionadas por los pobladores no se pudieron identificar bajo ninguna categoría taxonómica. De las 193 identificadas, 92 son nativas y 101 especies cultivadas, adventicias, introducidas, naturalizadas o comercializadas. Esta información es presentada en la Tabla 1.

Tabla 1. Listado de especies medicinales citadas en la Encuesta Nacional de Folklore. Familia botánica, nombre científico, nombre vulgar, estatus, uso. * Especie citada en la ENF y que no se encuentra en las publicaciones etnobotánicas científicas actuales. Registro Actual. Estatus: N: nativa, Ad: adventicia, Co: comercio, Cu: cultivada, I: introducida, Nat: naturalizada. M: uso medicinal, A: anuncios.

Familia botánica Nombre científico	Nombre común	R A	Es	Uso	M	A
AGAVACEAE						
* <i>Agave americana</i> L.	pita		Cu	El uso de un collar con 7 nudos evita el dolor de muelas, 17 nudos evitan "ora" (parálisis facial).		3
<i>Yucca</i> L.	yuca	6	Cu	Su presencia atrae la desgracia y la ruina.		2
ALLIACEAE						
<i>Allium sativum</i> L.	ajo	2 3 7	Cu	Contra callosidades, emplasto contra gastralgias, odontalgias, tenífugo, antitusivo.	5	3
* <i>Allium cepa</i> L.	cebolla	7	Cu	Los sahúmos evitan odontalgias y otitis, diurético. Las cáscaras atraen la desgracia, cura los síntomas de picadura de víbora.	5	2
* <i>Nothoscordum</i> Kunth.	lágrima de la virgen		N	Su presencia atrae la ruina.		1
AMARANTHACEAE						
<i>Iresine diffusa</i> Humb. & Bonpl. ex Willd.	peludilla	1	N	Depurativo sanguíneo, cicatrizante de heridas, protector hepático.	2	
<i>Alternanthera pungens</i> Kunth.	yerba del pollo	1 2 3 5 6 7	N	Cura el empacho (trastorno digestivo) y purgante.	11	
ANACARDIACEAE						
<i>Schinus areira</i> L.	gualaguay, terebinto, molle	1 2 3 6 7	N	Su infusión es digestiva, odontalgias, para disminuir los síntomas de resfríos, emoliente, anticolérica, antireumatismo. Su presencia atrae la desgracia.	10	1
<i>Schinus</i> L.	incienso	3 5	N	Analgésico de los dolores de cabeza y golpes traumáticos en los miembros. Sahumado en el hogar aleja las palomas.	2	1
<i>Lithraea molleoides</i> (Vell.) Engl.	molle	1 2 3 5 6 7	N	Produce erupciones en la piel, la infusión disminuye la embriaguez.	2	
<i>Schinopsis marginata</i> Engl.	quebracho colorado	2 3	N	En fricciones disminuye dolores por golpes internos.	1	
APIACEAE						
<i>Petroselinum crispum</i> (Mill.) Fuss	perejil	3 7	Cu	Acelera el parto, en infusión disminuye los dolores menstruales.	2	

<i>Pimpinella anisum</i> L.	anís	6	Ad Co	Fumado para disminuir los gases intestinales, disminuye: el “pasma”, la fiebre, dolores asociados a apendicitis y odontalgias.	3	
<i>Apium graveolens</i> L.	apio	6	Ad Cu Co	Disminuye los dolores menstruales.	1	
* <i>Coriandrum sativum</i> L.	cilantro		Ad	Evita mareos.	1	
* <i>Comium cyminum</i> L.	comino		Cu Co	Evita los gases intestinales.	1	
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill.	hinojos	1 3 6	Ad	Disminuye: las “nubes en los ojos” (cataratas), la fiebre y los gases intestinales.	3	
<i>Ammi majus</i> L.	viznaga	1	Ad	Depurativo sanguíneo.	1	
<i>Anethum graveolens</i> L.	eneldo	6	Ad	Evita la indigestión.	2	
APOCYNACEAE						
* <i>Asclepias</i> L.	asclepias		Cu	Transmite el cáncer.		1
<i>Aspidosperma quebracho-blanco</i> Schltr.	quebracho blanco	1 2 3 5	N	Desinflamante de las mucosas nasales y disminuye la fiebre.	1	
* <i>Nerium oleander</i> L.	rosa de oliva		Cu	Venenosa, si se huele se “corta la nariz”.		1
<i>Araujia brachystephana</i> (Griseb.) Fontella & Goyder	tasi	1 2 3 5	N	La savia que libera permite la extracción de espinas, galactógeno y protege de enfermedades de los dientes.	2	1
AQUIFOLIACEAE						
* <i>Ilex paraguariensis</i> A.St.-Hil.	yerba mate	7	Co	Disminuye el dolor de cabeza y en gargarismos disminuye el dolor de garganta.	2	
ARALIACEAE						
* <i>Hedera</i> L.	hiedra		Cu	Atrae la ruina.		1
ARECACEAE						
* <i>Phoenix dactylifera</i> L.	datilera		Co	Atrae la desgracia.		1
ARISTOLOCHIACEAE						
<i>Aristolochia argentina</i> Griseb.	charruga	1 2 3 5 6 7	N	Cura el “pasma”, el “aire” (resfríos) y dolor de cabeza, depurativo sanguíneo.	2	
ASCLEPIADACEAE						
<i>Asclepias mellodora</i> A. St.-Hil.	yerba de la víbora	1	N	Cura la picadura de víbora.	1	
ASTERACEAE						
<i>Xanthium cavanillesii</i> L.	abrojo	1 2 3 7	N	Se higienizan los ojos.	1	
<i>Artemisia absinthium</i> L.	ajenjo	2 3 5 6 7	Ad Cu Co	Desinflamante de mucosas nasales en gripes y resfríos, digestivo estomacal.	2	
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	altamisa	5 7	N	Digestivo estomacal, colabora en la curación de picadura de araña o víbora, madurativo de granos de la piel y cura dolencias del corazón.	3	1
<i>Bidens pilosa</i> L.	amor seco	1 3 2 5	N	Desinfectante de heridas de la piel.	1	
<i>Arnica</i> L.	árnica	6	Cu Co	Cicatrizante de heridas de la piel.	1	

<i>Ambrosia tenuifolia</i> Spreng.	artemisa	1 2 3	N	Energizante.	1	
<i>Xanthium spinosum</i> L.	cepacaballos	1 2 3 5 6 7	N	Protege del “patico” (parálisis de miembros de niños), depurativo sanguíneo. Digestivo hepático y diurético. Antitusivo. Desinfectante para heridas y testes de la piel. Antivenérea.	6	
<i>Flaveria bidentis</i> (L.) Kuntze	contrayerba	1 3 7	N	Digestivo estomacal.	2	
* <i>Tagetes</i> L.	coqueta		Cu	Su presencia evita el casamiento de las niñas.		1
<i>Artemisia douglasiana</i> Besser	fernet	1 2 3 5 6 7	Ad Cu	Antigripal.	1	
* <i>Laennecia sophiifolia</i> (Kunth) G.L. Nesom	hierba de la araña		N	Cura la picadura de araña.	1	
<i>Lactuca sativa</i> L.	lechuga	1 3 5 7	Ad Cu Co	Colabora con el control del insomnio.	1	
<i>Matricaria chamomilla</i> L.	manzanilla	1 2 3 6 7	Ad Cu Co	Digestivo estomacal, antifebril y antigripal.	7	
<i>Schkuhria pinnata</i> (Lam.) Kuntze ex Thell.	matapulga	1 2 3 5 6 7	N	Desinfectante y cicatrizante de la piel.	1	
<i>Baccharis aliena</i> (Spreng.) Joch.Müll.	romerillo	1 6 7	N	Los baños disminuyen los dolores de las piernas.	1	
<i>Verbesina encelioides</i> (Cav.) Benth. & Hook. f. ex A. Gray	Santa María, mirasol	2 3 5 7	N	La decocción cura los orzuelos y el “mal de ojos” (deseos negativos que realiza una persona con poder) Cura odontalgias y para desinfectante de heridas de la piel.	3	
<i>Tagetes minuta</i> L.	suico	1 2 3 5 6 7	N	Digestivo.	1	
<i>Thelesperma megapotamicum</i> (Spreng.) Kuntze.	te pampa	1	N	Antigripal.	1	
<i>Gaillardia megapotamica</i> (Spreng.) Baker	topasaire	1 2 3 5 6 7	N	Descongestivos de las vías respiratorias.	1	
<i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC.	vira vira	1 2 3 5 6 7	N	Antifebril, antitusivo, depurativo sanguíneo	2	
<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	yerba de la oveja	1 7	N	Antigripal.	1	
* <i>Chrysanthellum indicum</i> DC.	yerba de San Roque		N	Digestivo estomacal.	1	
<i>Porophyllum obscurum</i> (Spreng.) DC.	yerba del venado	1 3 5 7	N	Digestivo de acción intestinal.	1	
<i>Jungia polita</i> Griseb.	zarzaparrilla	2 3 5 6 7	N	Depurativo sanguíneo.	1	
BIGNONIACEAE						
<i>Tabebuia nodosa</i> (Griseb.) Griseb.	árbol de la cruz	1 6	N	Su presencia evita la caída de rayos en las tormentas.		1
BORAGINACEAE						
<i>Borago officinalis</i> L.	borraja	2 3 5 6 7	Ad	Cura la viruela y el sarampión. Antitusivo. Disminuye el estreñimiento.	2	
BRASSICACEAE						
<i>Nasturtium officinale</i> W.T. Aiton	berro	1 6	Ad Cu Co	Diurético y digestivo estomacal.	1	

<i>Brassica</i> L.	mostaza	1 3 6	Cu	Antigripal y analgésico para dolores de cabeza.	2	
<i>Lepidium didymum</i> L.	quimpe	1 3 6 7	Ad	Digestivo y diurético. Antitusivo. Evita el “daño” (malas intenciones) y es anticanceroso, depurativo sanguíneo. Los baños son analgésicos de dolores musculares y heridas de enfermedades venéreas.	6	1
* <i>Brassica oleracea</i> L.	repollo		Ad Cu Co	Digestivo y para afecciones pulmonares.	2	
BROMELIACEAE						
<i>Tillandsia xiphioides</i> Ker Gawl	clavel blanco	1	N	Cardiotónico.	1	
BUDDLEJACEAE						
<i>Buddleja cordobensis</i> Griseb.	salvialora	1 2 3 6 7	N	Para “aire” (resfriós) y digestivo.	2	
CACTACEAE						
<i>Opuntia ficus indica</i> L.(Mill.)	penca, tuna, palma de cochinilla	2 3 5	Ad Cu Co	La fricción del cladodio es analgésico de dolores de apendicitis, de ciático y dolores reumáticos; cura la pulmonía. Insecticida para las plagas de cultivos de maíz y trigo.	2	1
<i>Opuntia quimilo</i> K. Schum.	quimilo	1	N	Madurativo de granos.	1	
CANNABACEAE						
<i>Celtis tala</i> Gillies ex Planch.	tala	1 2 3 5 7	N	Analgésico para el dolor de cabeza, digestivo, anticolérico y antiespasmódico, antigripal, protege del “mal de ojos” (malas intenciones), madurativo de grano. Su presencia evita la caída de rayos en los espacios domésticos. Con efectos veterinarios expulsa la placenta de pequeños mamíferos.	12	1
CAPPARACEAE						
<i>Atamisquea emarginata</i> Miers ex Hook. & Arn.	atamisqui	1 2 3 6	N	Antigripal y anticolérico. En baños externos cura las discapacidades motrices de los niños.	2	
CAPRIFOLIACEAE						
<i>Sambucus australis</i> Cham. & Schltdl.	sauco	1 7	N	Cura la viruela y la constipación.	4	4
CARYOPHYLLACEAE						
* <i>Dianthus caryophyllus</i> L.	clavel		Cu	Su presencia evita el casamiento de las mujeres solteras.		1
CHENOPODIACEAE						
<i>Atriplex</i> L.	cachiyuyo	1 2 3 6 7	N	Reliquia contra la acción de la brujería.		3
<i>Chenopodium album</i> L. Bosc ex Moq.	flor de ceniza	1 2 3 7	Ad Cu Co	Digestivo y cura la viruela.	3	
<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.)	paico macho	1 2 3 5 6 7	N	Digestivo, antifebril y para la apoplejía.	6	
CONVOLVULACEAE						
* <i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	batatas		Cu	Disminuye la inflamación de pequeños vasos sanguíneos por el frío (sabañones).	1	

<i>Ipomoea hieronymi</i> (Kuntze) O'Donell.	michoacán	1	N	Cura las picaduras de víbora.		1
<i>Dichondra sericea</i> Swartz	oreja de gato	1	N	Desinflamatorio de la mucosa de la garganta.	1	
CUCURBITACEAE						
* <i>Cucurbita ficifolia</i> Bouché.	cidra		Ad Cu	Hidrata a las mujeres gestantes.	1	
* <i>Citrullus lanatus</i> (Thunb.) Matsum. y Nakai	sandía, semillas		Cu	Cura la viruela y el sarampión. Digestivo y protector hepático.	2	1
<i>Cucurbita pepo</i> L. <i>C. maxima</i>	zapallo criollo o de angola	1	Cu	Antiabortivo, vermífugo, cura los testes dérmicos, disminuye los efectos de la exposición prolongada al sol, y disminuye las cataratas.	6	
DRYOPTERIDACEAE						
<i>Elaphoglossum gayanum</i> (Fée) T. Moore	calaguala	2 3 6 7	N	Depurativo sanguíneo.	1	
EPHEDRACEAE						
<i>Ephedra triandra</i> Tul.	tramontana	2 3 5 6 7	N	Antigripal.	1	
EQUISETACEA						
<i>Equisetum giganteum</i> L.	cola de caballo	2 3 5 6 7	N	Anticolérico renal y diurético.	1	
ERYTHROXYLACEA						
<i>Erythroxylum coca</i> Lam.	coca	6	Co	Antifebril y evita calambres musculares.	2	
EUPHORBIACEAE						
<i>Ricinus communis</i> L.	castor	3 5 7	Ad	Analgésico odontálgico y antiséptico de forúnculos.	2	
<i>Euphorbia</i> L.	leche de golondrina	3 6 7		Para el tratamiento de las verrugas y orzuelos. Odontológico.	1	
FABACEAE						
<i>Medicago sativa</i> L.	alfalfa	1 6	Ad Cu Co	Odontalgias, digestivo y colabora para la expulsión de la placenta.	2	1
<i>Hoffmannseggia glauca</i> (Ortega) Eifert.	algarrobilla	1	N	Los emplastos colaboran con la unión de huesos quebrados.	1	
<i>Neltuma alba</i> Griseb.	algarrobo blanco	3	N	Diurético, purgante y para higienizar los ojos.	3	
<i>Neltuma</i> L.	algarrobo, carbón rama verde		N	Analgésico para el dolor de cabeza. Insecticida de las moscas que generan miasis (infestación causada por larvas de moscas) Su presencia atrae los rayos de tormentas.	1	2
<i>Anadenanthera colubrina</i> (Vell.) Brenan.	cebil	1	N	Reliquia para evitar la brujería.		1
<i>Geoffroea decorticans</i> (Gillies ex Hook. & Arn) Burkart.	chañar	2 3 5 6 7	N	Antitusivo, antiasmático. Digestivo, cura las hernias y permite suponer donde se encuentran los animales.	3	1
* <i>Cochlianthus caracalla</i> (L.) Trew	enredadera de corcho		N	Su presencia atrae la mala suerte y la muerte al dueño de la vivienda.		2
<i>Wisteria sinensis</i> (Sims) DC.	Glicina	6	Cu	Su presencia anuncia la ruina del dueño.		1

<i>Erythrostemon gilliesii</i> (Wall. ex Hook.) Klotzsch	lagaña de perro	1 2 3 6 7	N	Insecticida	1	
<i>Strombocarpa strombulifera</i> (Lam.) A. Gray.	mastuerzo	6 7	N	Digestivo.	1	
* <i>Ceiba speciosa</i> (A.St.-Hil.) Ravenna.	palo borracho		N	Su presencia atrae la mala suerte del dueño.		1
<i>Bauhinia forficata</i> Link.	pezuña de vaca	1 2 3 5 6 7	N	Digestivo.	1	
<i>Senna aphylla</i> (Cav.) H.S.Irwin & Barneby.	pichanilla	2 6	N	Analgésico para el dolor de cabeza.	1	
<i>Phaseolus</i> L.	porotos mitades			Antifebril, analgésico. Cura las mordeduras de perro y para evitar el “mal de ojos” (malas intenciones)	9	
<i>Neltuma nigra</i> Griseb.	algarrobo negro	1	N	Cura las infecciones oculares.	1	
<i>Senna corymbosa</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby.	sen	1 3 6 7	N	Purgante.	1	
<i>Vachellia aroma</i> (Gillies ex Hook. & Arn.) Seigler & Ebinger.	tusca	1 2 3 5 6 7	N	Desinfectante de heridas de la piel.	1	
GENTIANACEAE						
<i>Gentianella multicaulis</i> (Gillies ex Griseb.) Fabris	Nencia	2 3 6	N	Tónico para el estómago.	1	
GERANIACEAE						
* <i>Pelargonium x hortorum</i> L.H. Bailey	Geranios		Cu	Analgésico para el dolor de cabeza.	1	
HYDRANGEACEAE						
* <i>Hydrangea</i> L.	Hortensia		Cu	Su presencia anuncia la soltería y la mala suerte.		6
IRIDACEAE						
<i>Iris</i> L.	raíces de lirio	1	Ad	Facilita el crecimiento normal de los dientes. Emplastos evitar callos.	1	1
JUGLANDACEAE						
<i>Juglans elegans</i> L.	Nuez	6 7	Cu	Galactógeno.	1	
OLEACEAE						
<i>Olea europaea</i> L.	Olivo	6 7	Cu	Su presencia atrae la suerte. Analgésico para el dolor de oídos.	1	1
LAMIACEAE						
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Albahaca	2 3 7	Cu	Cura las cataratas, antifebril, analgésico para el dolor de oídos y cardiotónico.	3	1
<i>Lavandula</i> L.	Lavanda	2 3 6 7	Cu	Analgésico para el dolor de oídos, antifebril y antigripal.	3	
<i>Origanum vulgare</i> L.	Orégano	2 3 6 7	Cu	Digestivo, antiemético, cicatrizante de sangrado de lesiones por enfermedades venéreas, oftálmico y odontálgico,	4	
<i>Minthostachys verticillata</i> (Griseb.) Epling	Peperina	1 2 3 5 6 7	N	Digestivo, antiemético, antigripal y antifebril.	2	
<i>Salvia rosmarinus</i> Spenn.	Romero	2 3 5 6 7	Cu	Antifebril, analgésico de dolores de oído, cura el sarampión y evita la brujería.	4	1
<i>Hedeoma multiflora</i> Benth.	Tomillo	1 2 3 6 7	N	Digestivo y antiemético.	1	
<i>Melissa officinalis</i> L.	Toronjil	2 3 5 6 7	Cu	Cardiotónico.	1	

<i>Mentha L.</i>	yerba buena, menta	1 2 3 5 6 7	Ad	Digestivo, antiemético, antiparásito, antigripal y analgésico para dolores de cabeza.	2	
<i>Marrubium vulgare L.</i>	yerba del sapo	1 2 3 5 6 7	Ad	Analgésico para dolores de cabeza, digestivo, depurativo de la sangre y cura las infecciones de folículos pilosos (diviesos).	6	
<i>Mentha spicata L.</i>	yerba mota	1 2 7	Ad	Sedante, antigripal, depurativo de la sangre, molestias del estómago.	3	
LAURACEAE						
<i>Cinnamomum verum J. Presl</i>	Canela	6 7	Co	Anemia, mareos, fiebre y pasmo. Dolores de vejiga.		1
<i>Laurus nobilis L.</i>	Laurel	2 3 6 7	Cu	Pronostica casamiento		1
LINACEAE						
<i>Linum usitatissimum L.</i>	Lino	6	Ad Cu Co	Empacho.	1	
LYCOPODIACEAE						
<i>Phlegmariurus saururus (Lam.) B. Øllg.</i>	cola de quirquincho	2 3 5 6 7	N	Abortivo, excitante y para la mordedura de animales venenosos.	2	
LYTHRACEAE						
<i>Heimia salicifolia (Kunth) Link</i>	quiebraarado raíz	2 3 5 7	N	Empacho.	1	
MAGNOLIACEAE						
* <i>Magnolia L.</i>	Magnolia		Cu	Produce cáncer.	1	
MALVACEAE						
* <i>Gossypium sp. L.</i>	algodón semillas		Cu Co	Disminuye el dolor de oído.		1
<i>Malva L.</i>	Malva	1 2 3 5 6 7	Ad	Antiinflamatorio para dolor de miembros inferiores, purgante y digestivo.	2	
<i>Modiola caroliniana (L.) G. Don</i>	sanalotodo, malvavisco	1	N	Madurativo de heridas, sabañones, antiparalítico y desinflamatorio. Evita el "mal de ojos"(malas intenciones).	4	
* <i>Hibiscus syriacus L.</i>	Suspiro		Cu	Protege a los animales de picaduras venenosas.	1	
MARTYNIACEAE						
<i>Ibicella lutea (Lindl.) Van Eselt.</i>	cuernos del diablo, semillas	1 7	N	Oftálmico.	2	
MELIACEAE						
<i>Melia azedarach L.</i>	Paraíso	1 3 5 7	Cu	Anuncios de ruina, muerte temprana y desgracias. Odontalgias.	1	11
MORACEAE						
<i>Ficus carica L.</i>	Higuera	2 3 5 6 7	Cu	Anuncia enfermedades (ceguera, sordera y locura) ruina y muerte. Odontológico. Cura hernias y picadura de arañas. Digestivo.	3	2
<i>Morus L.</i>	Mora	1 6 7	Ad	Analgésico	1	1
MYRISTICACEAE						
<i>Myristica fragrans Houtt.</i>	nuez moscada	2 3 6	Co	Se utiliza en los partos.		1

MYRTACEAE						
<i>Psidium salutare</i> O. Berg.	alpamato, arazá	1 7	N	Indigestión.	1	
<i>Syzygium aromaticum</i> (L.) Merr. & L.M. Perry	clavo de olor	6	Co	Antifebril y odontálgias. Disminuye la anemia	2	
<i>Eucalyptus</i> L.	Eucaliptus	2 3 5 6 7	Cu	Antibacteriano de cuero cabelludo y descongectivo.	2	
NYCTAGINACEAE						
<i>Mirabilis jalapa</i> L.	buenas noches	1	Ad	Purgante	1	
* <i>Bougainvillea</i> Comm. ex Juss.	Santa Rita		Cu	Atraen la ruina		1
ONAGRACEAE						
* <i>Oenothera curtiflora</i> W.L. Wagner & Hoch.	mata yuyo		I	Desinfectante.	1	
PAPAVERACEAE						
<i>Argemone subfusiformis</i> L.	Cardosanto	1 2 3 6 7	N	Purgante	1	
PASSIFLORACEAE						
<i>Passiflora caerulea</i> L.	Granadilla	1 2 3 5 6 7	N	Desinfectante y evitar "pasma" (resfrío, enfriamiento corporal).	2	
PHYTOLACCACEAE						
<i>Petiveria alliacea</i> L.	Calanchina	5	N	Protectora, evita "daño" (malas intenciones).		
<i>Phytolacca dioica</i> L.	Ombú	3	N	Anuncia la ruina.		1
PINACEAE						
* <i>Pinus</i> L.	Pino		Cu	Evita entumecimiento de los miembros inferiores.	1	
PIPERACEAE						
<i>Piper</i> L.	Pimienta	3 6	Co	Analgésico y produce la locura para enamorados.	2	1
PLANTAGINACEAE						
<i>Plantago</i> L.	Llantén	1 2 3 5 6 7	Ad	Analgésico.	1	
POACEAE						
* <i>Saccharum officinalis</i> L.	Azúcar		Cu	Analgésico y evita el "pasma" (resfrío, enfriamiento)	2	
<i>Zea mays</i> L.	barba de chocho, maíz	3 6 7	N	Diurético, analgésico, cura los testes y la viruela	2	
<i>Arundo donax</i> L.	Caña	1	Ad	Cura de los orzuelos (infecciones virósicas dérmicas), protege de las picaduras de víboras y ayuda a sacar espinas.		3
* <i>Hordeum vulgare</i> L.	Cebada		Ad Cu	Cura la viruela, disminuye las afecciones dérmicas y depurativo de la sangre.	3	
* <i>Cenchrus ciliaris</i> L.	cola de zorro		I	Cura la picadura de animales ponzoñosos.	1	
POLYGONACEAE						
<i>Rumex</i> L.	Romaza	1 2 3 6 7	Ad	Madurar de granos.	1	
<i>Polygonum aviculare</i> L.	Sanguinaria	1 2 3 6	Ad	Disminuye la obesidad	1	

PORTULACACEAE						
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Verdolaga	1 7	Ad	Evitar noctámbulos, analgésico, desinflamatorio de hemorroides, digestivo y depurativo de la sangre.	2	1
PUNICACEAE						
<i>Punica granatum</i> L.	Granado	2 3 5 6 7	Cu	Anuncia soltería para las niñas de la familia. Detiene la diarrea.	1	1
RANUNCULACEAE						
<i>Clematis montevidensis</i> Spreng.	cabellos de ángel, loconte	1 3 7	N	Cura la lepra y la sarna. Odontálgico, pero muy peligroso (caústico).	1	
RHAMNACEAE						
<i>Condalia</i> Cav.	Piquillín	1 2 3	N	Colabora en la expulsión de la placenta humana.	1	
<i>Sarcomphalus mistol</i> (Griseb.) Hauenschild.	Mistol	1 2 3 6	N	Antitusivo.	1	
ROSACEAE						
<i>Prunus dulcis</i> (Mill.) D.A. Webb	Almendras	6	Cu	Galactógeno, digestivo, antifebril y analgésico. Cicatrizante.	4	
<i>Acaena myriophylla</i> Lind.	barba de la vizcacha, cadillo	1	N	Madurativo de granos y cura las picaduras de ciempiés.	1	
<i>Prunus persica</i> (L.) Stokes.	Durazno	2 3 5	Cu	Madurativo de granos, purgante y digestivo.	2	
<i>Cydonia oblonga</i> Mill.	membrillo rosado	2 3 7	Cu	Madurativo de granos.	1	
<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Níspero	2 3 5 6	Cu	Antitusivo.	1	
<i>Margyricarpus pinnatus</i> (Lam.) Kuntze	perlilla, yerba de la perdíz	1 6 7	N	Emenagogo y diurético.	1	
* <i>Rosa</i> L.	Rosas	7	Cu	Odontálgico, antitusivo, analgésico, cura la viruela y oftalmológico. Anuncia soltería de las hijas.	4	1
<i>Rubus ulmifolius</i> Schott	Zarzamora	1	Ad	Analgésico para cefaleas.	1	
RUTACEAE						
<i>Zanthoxylum coco</i> Gillies ex Hook. f. & Arn.	coco, semilla	1 7	N	Antitusivo y sudorífico.	2	
<i>Citrus limón</i> L.	Limón	2 3 5 7	Cu	Antitusivo y cicatrizante.	2	
<i>Citrus × aurantium</i> L.	naranja, azahar	2 3 5 6 7	Cu	Digestivo, cardiotónico, analgésico, evita los síntomas del resfrío.	3	
<i>Ruta chalepensis</i> L.	Ruda	2 3 5 6 7	Ad	Diurético, emenagogo, digestivo, oftálmico y recuperar las parálisis. Reliquia protege del mal.	4	1
SALICACEAE						
<i>Salix purpurea</i> L.	sauce colorado mimbre		Cu	Analgésico para cefaleas.		1
<i>Salix babylonica</i> L.	sauce llorón	7	Cu	Anuncia la desgracia. Oftálmico.	1	1
SANTALACEAE						
<i>Jodina rhombifolia</i> (Hook. & Arn.) Reissek	Peje	1 2 3 5 7	N	Atrae y protege de los rayos. Cicatrizante, purgante y cura el "pasma" (enfriamiento, resfrío).	3	2

SCHIZAEACEAE						
<i>Anemia tomentosa</i> (Savigny) Sw.	Doradilla	1 2 3 5 6 7	N	Antitusivo, resfríos, emenagogo, hepatoprotector, cura el sarampión y depurativo sanguíneo.	3	
SOLANACEAE						
<i>Capsicum chacoensis</i> Hunz.	Aji	1 6	N	Analgésico y evita las flatulencias.	3	
<i>Datura ferox</i> L.	Chamico	1 7	N	Analgésico y antiasmático (uso externo).	2	
<i>Cestrum parqui</i> L'Hér.	duraznillo verde	1 2 3 5 7	N	Insecticida de larvas y diurético (en baños).	2	1
<i>Nicotiana glauca</i> Graham.	palán palán	12 3 5 7	N	Desinfectante y madurativo de granos.	1	
<i>Solanum glaucophyllum</i> Desf.	duraznillo blanco	1	N	Insolación		
<i>Solanum tuberosum</i> L.	Papa	2 3 7	N	Analgésico, cicatrizante de quemaduras.	3	1
* <i>Solanum dulcamara</i> L.	Solanum dulzamara		I	Curar la sarna.	1	
<i>Nicotiana tabacum</i> L.	Tabaco	2 7	Cu	Antiflatulencias (fumado con anís), antigripal, antifebril, analgésico y cura las picaduras de víboras.	4	
* <i>Solanum lycopersicum</i> L.	Tomate		Cu	Desinflamatorio dérmico.	3	
* <i>Lycium boerhaviaefolium</i> L.	Tulisquin		N	Cicatrizante y cura el "pático" (parálisis infantil)	1	1
<i>Lycium cestroides</i> Schltld.	Tumiñico	1	N	Antidiarreico.	1	
THEACEAE						
<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze	té de té	6 7	Co	Oftálmico, cura conjuntivitis bacterianas.	1	
TYPHACEAE						
<i>Typha</i> L.	Totora	1	N	Desinflamatorio dérmico.	1	
URTICACEAE						
<i>Urtica</i> L.	ortiga, raíz	1 2 3 5 6 7	Nat	Diurético, desinflamatorio de la piel y desinfectante dérmico.	2	
USNEACEAE						
<i>Usnea</i> Dill. ex. Adans.	barba de piedra	2 3 5 6 7	N	Depurativo sanguíneo y analgésico.	3	
VERBENACEAE						
<i>Aloysia gratissima</i> (Gill. et Hook) Tronc.	palo amarillo	12 3 6 7	N	Digestivo, cardiotónico y antigripal.	2	
<i>Aloysia citriodora</i> Palau	cedrón del cerro	2 3 5 6 7	N	Digestivo, cardiotónico y para las afecciones nerviosas.	3	
<i>Verbena</i> L.	Verbena	1 7		Emenagogo.		
<i>Lippia turbinata</i> Gris.	Poleo	1 2 3 5 6 7	N	Antigripal, digestivo, cura enfermedades transmisión sexual. En baños corrige dolores y malformaciones de miembros inferiores.	4	
VIOLACEAE						
<i>Viola</i> L.	Violeta	1		Antitusivo y cura la viruela.	1	
VITACEAE						
* <i>Vitis vinifera</i> L.	vid hojas y pasas		Cu	Digestivo, antidiarreico, analgésico y oftálmico.	2	

ZYGOPHYLLACEAE						
<i>Larrea divaricata</i> Cav.	jarilla	1 2 3 6 7	N	Antifebril, antirreumático, astringente y desinflamatorio. evita malos partos.	3	2
	chilca amarilla			Digestivo.	1	
	flor de sumaria			Antigripal.	1	
	hierba amarga			Analgésico.	1	
	niho			Analgésico de uso externo.	1	
	ñunzú			Digestivo.	1	
	paja brava			Evita picadura de víbora en animales ponzoñosos.		2
	palma bendita			Evita tormentas y malos partos.		3
	presidenta			Anuncia mala suerte.		1
	semillas de helecho			Relicario, protege de todos los males.		1
	yesca yuyo			Cicatrizante.	1	
	mimosa			Antigripal.	1	

En la Fig. 2 se observan las especies con mayor consenso de uso; es interesante señalar que la especie más citada es la “ruda” con el doble de menciones que cualquier otra, y si se analizan las primeras 20 spp. de mayor consenso diez son nativas y diez exóticas. Esta dispersión de dominancia estaría dando cuenta que los pobladores usaban un amplio espectro de recursos, eran conocedores de una gran diversidad vegetal y hacían un uso intensivo de la diversidad de especies a las que tenían acceso, ya sean silvestres, cultivadas y/o comercializadas.

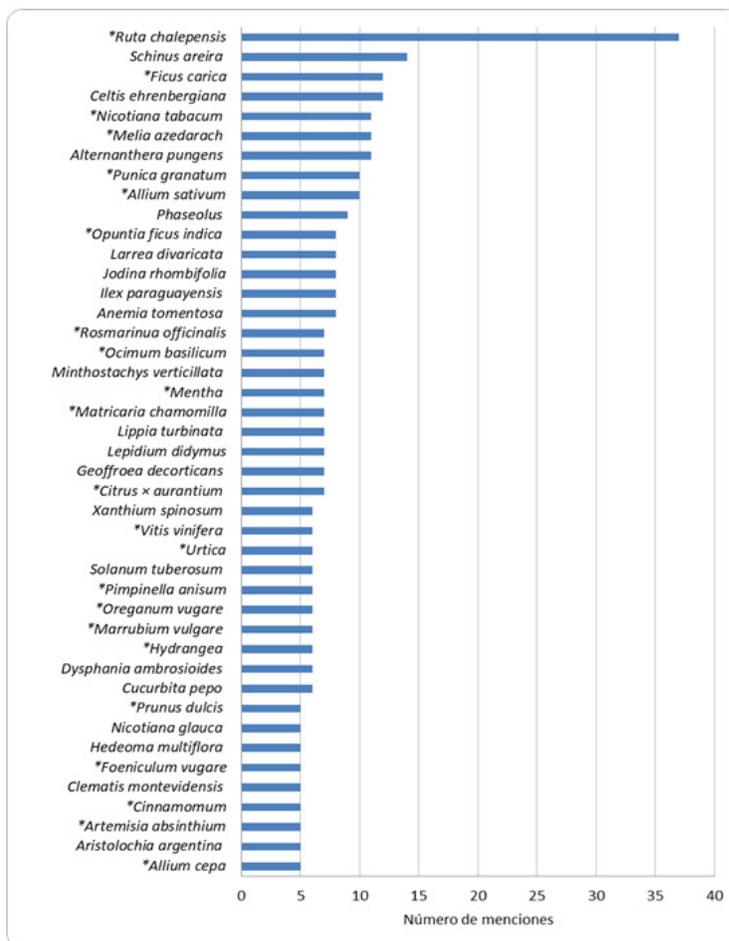


Fig. 2. Histograma de frecuencias de las especies medicinales citadas en la ENF con mayor número de menciones. * especie exótica, adventicia, naturalizada o cultivada.

Del conjunto de las especies nativas es interesante analizar la mención de plantas que no se desarrollan espontáneamente en el territorio cordobés, como el cebil o el arazá, y que tampoco se obtienen por comercio o cultivo local. Estas menciones estarían indicando intercambio realizados por pobladores y sus familiares producto de las migraciones internas, traslados laborales o familiares circunstanciales desde provincias limítrofes (el cebil desde Catamarca) o más alejadas (de Corrientes o Entre Ríos, el arazá).

Del total de especies, 142 son mencionadas exclusivamente como plantas medicinales, 29 son exclusivamente mencionadas como augurios o plantas mágicas y 31 comparten ambas percepciones y valoraciones (Tabla 1).

Dominan las curaciones para el sistema digestivo, respiratorio, piel, dolencias urinarias y para combatir el dolor (Fig. 3). Llama la atención la cantidad de plantas mencionadas para disminuir el dolor de múltiples órganos, dato que refleja la escasez del acceso a analgésicos industriales.

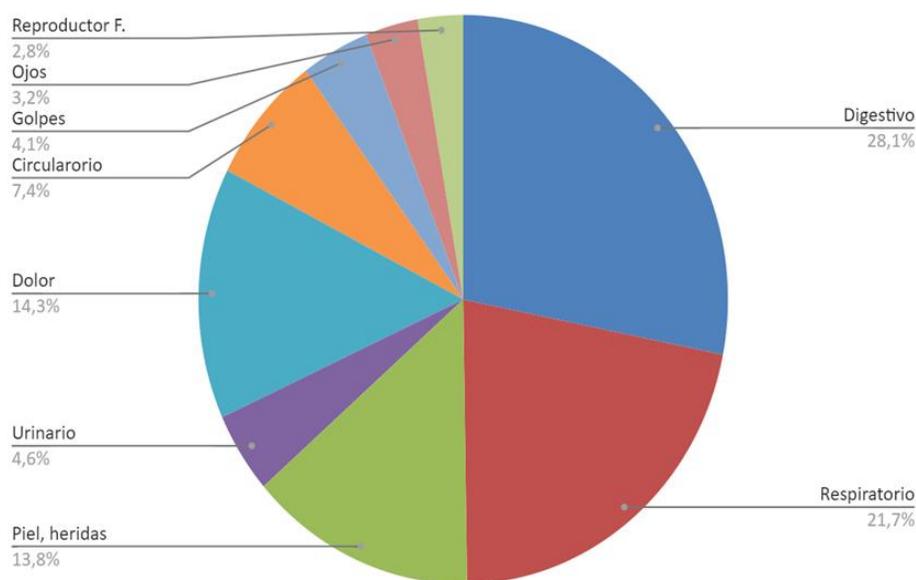


Fig. 3. Proporción de las plantas medicinales para cada dolencia mencionada en la ENF según sistemas de órganos del cuerpo.

Además de los recursos vegetales, los pobladores mencionan diferentes sustancias orgánicas e inorgánicas: miel, miel rosa, aceite común y de oliva, vinagre, levadura, harina, almidón, chocolate, leche de mujer, fernet, vino, aguardiente, agua de colonia, cera, sal, azúcar, incienso, jabón, azul para dejar la ropa blanca, anillos de cobre y oro, llaves, azufre, coral marino, piedra azabache y piedra bezoar. También se hace referencia a 58 spp. de animales vinculadas a lo sagrado, anuncios, la religiosidad (la Virgen), los números (3, 7) y los símbolos (cruz, blanco-negro, derecha-izquierda), se menciona la intervención de personas en el proceso de curación y momentos específicos para la cosecha (Semana Santa).

Comparación con los estudios etnobotánicos contemporáneos

En la Tabla 1 se identifican las publicaciones científicas que sistematizan la vigencia del uso de las especies medicinales mencionadas en la ENF. En los últimos años, el esfuerzo etnobotánico desde instituciones académicas ha logrado registrar un amplio número de especies medicinales, reflejado en publicaciones científicas. El análisis de toda la farmacopea mencionada en las mismas excede los objetivos de este estudio, sólo referiremos que, de las 193 especies sistematizadas en la ENF, 32 no aparecen en ninguna publicación como mencionadas por los pobladores actuales. Proponemos entonces, por el momento, que estas especies ausentes en el discurso actual de los pobladores en su uso medicinal merecen un esfuerzo a futuro en entrevistas y búsquedas en bibliografía, hasta poder descartar fehacientemente su presencia en el memoria actual o, por el contrario, descubrir que sólo habían permanecido escondidas a nuestro relevamiento o al académico en general, pero seguían resguardadas en la memoria colectiva. También es posible considerar que la ausencia en el discurso actual es una consecuencia plausible de procesos de urbanización, de migración interna a otras provincias, de alejamiento de los ambientes naturales, entre otros.

En la actualidad se registraron 86 especies nativas de las 92 mencionadas en la ENF y 51 especies cultivadas de las 102 registradas en el pasado que permanecen activas en la memoria de los pobladores. Observamos el mantenimiento de conocimiento de las plantas nativas disponibles en los ambientes naturales y una disminución en la importancia de especies

cultivadas y exóticas, probablemente sean debido al abandono de prácticas de autoabastecimiento y la migración desde ambientes rurales a urbanos. Entendemos que la disminución de las prácticas asociadas al mantenimiento de huertas, jardines y chacras para autoabastecimiento se suma a la transformación de las motivaciones personales de hacer una huerta, que pasaron desde el autoconsumo hasta una actividad más lúdica que se encuentra asociada al bienestar, relax y alimentación saludable urbana (Audisio, 2016).

Resulta de particular interés el grupo de 31 plantas mencionadas en el pasado exclusivamente como anuncios o indicadores de mala suerte, futuras pérdidas de familiares o dinero, ruina económica y muerte. Todas estas especies, en la actualidad, se las puede identificar como plantas ornamentales (16), alimenticias (5) o han pasado a la categoría de plantas medicinales con usos claramente identificados según la etnomedicina y farmacobotánica modernas. Este mecanismo de resignificación de plantas que tenían un componente mágico nos sugiere un proceso de abandono de la marginalidad asociada a la brujería o “curanderismo” (es incluso este término el utilizado en la encuesta) como aspectos poco civilizados que deben ser actualizados, incluso escondidas detrás del discurso biomédico/científico. (Dahhur, 2019) en sus estudios sobre medicina popular y religiosidad propone una explicación de los componentes mágicos desde una perspectiva cultural. Así, en la década de 1920, los pobladores habrían descreído de la medicina oficial, que no tuvo grandes victorias hasta la década del cuarenta. Por ello mismo se acude a lo conocido y eficaz entre las personas de los ambientes rurales - y urbanos también-, recurriendo a explicaciones o búsquedas sobrenaturales allí donde el acceso al conocimiento científico era escaso. Según la misma autora, mientras que la magia y la religiosidad son componentes esenciales al hablar de curanderismo, particularmente en el tratamiento de ciertas enfermedades con un fuerte componente psíquico, la religión fue perdiendo lugar en un proceso de secularización de la sociedad que tuvo sus inicios en la Argentina en el último cuarto del siglo XIX. Al nuevo impulso del conocimiento científico se le sumaban los conocimientos de hierbas para la curación de diferentes patologías, dando lugar en consecuencia un sistema híbrido de prácticas basado en la empiria, conocimientos de prácticas adquiridos mediante la experiencia propia o de terceros, y la religiosidad con oraciones y rituales que aseguran el éxito del tratamiento.

Entonces proponemos para estas especies que abandonaron roles tradicionales asociados a la magia y en la actualidad se registran con usos medicinales, la resignificación de su valor en los términos que define (Hurrell, 2014), quien propone un pasaje de uso y percepción desde el contexto tradicional al no tradicional (un cambio de contexto siempre implica un cambio de significado), y de esta manera un nuevo tipo de conocimiento emerge por desplazamiento de significado y/o cesiones de nuevos usos.

La Etnobotánica Médica trasciende lo doméstico, conjugando estrategias de acceso, de gestión y de evaluación de los diversos recursos terapéuticos al alcance de cada uno. Explorar los saberes populares permite comprobar la extrema porosidad de las fronteras entre lo tradicional y lo moderno, lo antiguo y lo nuevo, lo endógeno y lo exógeno, lo natural y lo industrial, lo local y lo global. Los saberes conforman un proceso dinámico que involucra factores sociales, culturales, circunstanciales e individuales. Resultan de la incorporación selectiva, voluntaria e involuntaria de ideas y prácticas, a menudo procedentes de horizontes diversos (Sanchez, 2019).

La cultura de los criollos de Argentina es producto de diferentes síntesis dinámicas y prácticas europeas- tanto desde la época de la conquista y colonización como de los inmigrantes de los siglos XIX y XX- con algunos elementos indígenas fragmentados (Idoyaga Molina, 2001). En la actualidad, los pobladores de la Provincia de Córdoba recolectan, usan, conservan, eliminan, cultivan, compran e intercambian plantas medicinales con usos terapéuticos, avalados por estudios científicos o no. Esto es indicativo de la activa adaptación a los cambios a los que se vieron sometidos, que sólo ha podido registrar la academia desde hace aproximadamente 100 años pero que suponemos es la constante en la vida de los pueblos: conservar el conocimiento tradicional de un conjunto de plantas junto a las prácticas de uso y transmitirlo a los jóvenes, en

simultáneo tomar un conjunto nuevo de especies que llegan desde otros sistemas etnomédicos (europeos, asiáticos, etc.) y abandonar el uso de otras especies y prácticas. Tal como afirmamos previamente (Trillo *et al.*, 2010) la medicina tradicional o complementaria ofrece un enfoque holístico donde se tratan los trastornos de salud considerando simultáneamente varios niveles: físico, emocional, mental, espiritual y ambiental, con la misma visión de salud y enfermedad; a la vez el sistema medicinal científico-oficial posee algunas características, también apreciadas en estas comunidades, como prevención [p. ej. vacunación], diagnóstico y tratamiento. El estudio del uso de los recursos pasados y actuales, su dinámica, su valoración e implicancias sanitarias nos permiten reflexionar en las acciones futuras, en los esfuerzos que debemos hacer para “activar” los conocimientos que se mencionan pero no observamos su práctica (Ochoa & Ladio, 2011) para continuar con la tradición de enseñar a nuestros jóvenes el uso de nuestra rica farmacopea y para profundizar en la comprensión de lo que somos como sujetos culturales ante la enfermedad y la muerte, ante lo desconocido y lo misterioso, ante la magia y la ciencia.

CONCLUSIONES

La ENF es una base de datos muy rica en componentes de la Etnobotánica Médica de los pobladores de la provincia de Córdoba, que nos permite estudiar y analizar las raíces del pasado que nos conectan con el patrimonio etnobotánico medicinal de la actualidad, brindando información sobre especies, prácticas y valoraciones de un período de tiempo donde los registros académicos escasean.

En la actualidad el 94% las especies en la ENF se encuentran vigentes en la vida cotidiana de los pobladores cordobeses, sin embargo, también se registran abandonos y transformaciones en el uso y percepción de especies asociado a los cambios sociales, ambientales y económicos (como la urbanización y abandono de los espacios rurales, el avance de la frontera agrícola y el masivo acceso de las mujeres al mercado laboral) a los que se vieron expuestos en el siglo pasado, dando evidencias de la vitalidad de la cultura que con su flexibilidad adaptativa nos permite incorporar, descartar, reactivar y enriquecer el corpus etnomédico de las generaciones actuales.

Por último, entendemos que los estudios etnobotánicos que analizan las dinámicas temporales de los complejos sistemas de mantenimiento de la salud nos ayudan a visualizar las acciones futuras que debemos implementar para el mantenimiento, conservación y promoción de nuestra herencia del conocimiento de las plantas.

LITERATURA CITADA

- Anton, A., & Zuloaga, F. (2023). *Flora Argentina*. Buenos Aires: Instituto de Botánica Darwinion.
- Arbello, A., Basualdo, G., Cerriti, C., Valenzuela, F., Pageau, C., Gonzalez, H., y otros. (2020). Atlas Floresta Americana. Bonpland.1850: La identificación de las plantas de la Materia Médica Misionera de Pedro de Montenegro. *Bonplandia* 29(2), 221-251.
- Arcondo, A. (1972). Población y mano de obra agrícola, Córdoba, 1880-1914. *Serie de Investigaciones* (15), 35-48.
- Arias Toledo, B., & Galetto, L. y. (2007). Uso de las plantas medicinales y alimenticias según características socioculturales en Villa Los Aromos (Córdoba, Argentina). *Kurtzina* 33(1), 79-88
- Arias Toledo, B., & Trillo, C. (2023a). Augurios registrados en la Encuesta Nacional de Folklore de 1921: diálogos entre animales y poblaciones rurales de Córdoba que llegan hasta nuestros días. *Mundo de antes*, 199-213.
- Arias Toledo, B., & Trillo, C. (2023b). "Curanderismo": historical zootherapy among criollos inhabitants in rural areas of Córdoba (Argentina). *Ethnoscientia*.

- Arias Toledo, B., Grilli, M., & Trillo, C. (2009). Uso de plantas medicinales en relación al estado de conservación del bosque de Córdoba, Argentina. *Ecología Austral* 20(3), 235-246.
- Arias Toledo, B., Trillo, C., Grilli, M., Colantonio, S., & Galetto, L. (2014). Relationships between Land-Use Types and plants species used by traditional ethno-medicinal system. *European Journal of Medicinal Plants* 4(9), 998-1021.
- Arovich de Bogado, V. (2005). *Encuesta de Folklore de 1921. Textos enviados desde el Territorio Nacional del Chaco*. Resistencia, Chaco.: Universidad Nacional del Noroeste.
- Barboza, G., Cantero, J. J., Nuñez, C., & Luis, A. E. (2006). *Flora medicinal de la provincia de Córdoba (Argentina) Pteridófitas y Antófitas silvestres y naturalizadas*. Córdoba: Museo Botánico de Córdoba.
- Bischoff, E. (1977). *Historia de Córdoba*. Argentina: Plus Ultra.
- Brown, A., & Pacheco, S. (2005). Propuesta de actualización del mapa de ecorregiones de la Argentina. En *La situación ambiental Argentina* (pág. 28.31). BUenos Aires, Argentina: ACME.
- Cabrera, A. (1976). Regiones Fitogeográficas Argentinas. En *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería*. Buenos Aires, Argentina: ACME.
- De la Peña, M., & Pensiero, J. (1990). *Plantas argentinas. Catálogo de nombres comunes*. Buenos Aires: LOLA.
- Di Lullo, O. (1946). *Contribución al estudio de las voces santiagueñas*. Santiago del Estero, Argentina: Gobierno de la Provincia de Santiago del Estero.
- Dómina, E. (2003). *Historia Mínima de Córdoba*. Córdoba: Ediciones del Boulevard.
- Espósito, F., & Di Croce, E. V. (9 de Agosto de 2013). Un archivo del folklore nacional: La encuesta de Magisterio de 1921. La Plata, Buenos Aires, Argentina: Facultad de Humanidades y Ciencias de la Educación. UN de La Plata.
- Hurrell, J. (2014). Urban Ethobotany in Argentina: Theoretical advances and methodological strategies. *Ethnobotany and Conservation* 3, 1-11.
- Idoyaga Molina, A. (2001). Lo sagrado en las terapias de las medicinas tradicionales del NOA y Cuyo. *Scripta Ethnológica XXIII*, 9-75.
- Kuffer, C. (2019). Aportes biodemográficos sobre poblaciones y familias de la provincia de Córdoba (Argentina). *Andes* 30(2).
- Luján, M. C., & Martínez, G. J. (2017). Dinámica del conocimiento etnobotánico en poblaciones urbanas y rurales de Córdoba (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe d Plantas Medicinales y Aromáticas* 16, 278-302.
- Luján, M. C., & Martínez, G. J. (2019). Etnobotánica médica urbana y periurbana de la ciudad de Córdoba (Argentina). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 18(2), 155-196.
- Martínez, G. J. (2010). *Las plantas de la Medicina tradicional de las Sierras de Córdoba: un recorrido por la cultura campesina de Pafravachasca y Calamuchita*. Córdoba: El Copista.
- Medeiros, F. (2009). *Etnobotánica histórica: Principios y procedimientos*. Olinda, Pernambuco: NUPEA.
- Ochoa, J., & Ladio, A. (2011). Past and present use of the wild plants with edible underground storage organs in Patagonia. *Bonplandia* 20(2), 25-284.
- Ortiz Berrgia, M., Reyna, F., Portelli, M., & Moretti, D. (2015). Procesos amplios, miradas locales: una historia de Córdoba entre 1880-1955. *Centro de Estudios Históricos "Prof. Carlos S.A. Segreti"*.
- Pineau, P. (2007). *A cien años de la Ley Láinez*. Buenos Aires, Argentina: Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnología.
- Río, M., & Achával, L. (1905). *Geografía de la Provincia de Córdoba*. Buenos Aires: Compañía Sudamericana de Billetes de Banco.
- Rosalía, P. (2019). El cachiyuyo y la calauchina antes de la ruda: mágicas y poderosas del antiguo herbolario cordobés. Córdoba, Argentina: Asociación cultural Relatos del viento.
- Rosso, C. (2013). La Etnobotánica histórica: el caso mocoví en la reducción de San Javier en el siglo XVIII. *Etnobiología* 11(3).

Recibido:
29/noviembre/2022

Aceptado:
23/junio/2023

- Rosso, C. (2015). Las celebraciones indígenas desde una perspectiva etnobotánica histórica: el caso de los ocovíes de la reducción de San Javier durante el siglo XVIII. *Chúngara* 47(4), 645-657.
- Rosso, C., & Scarpa, G. (2019). Etnobotánica médica moqoit y su comparación con grupos criollos del Chaco argentino. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 54(4), 637-662.
- Sanchez, A. (2019). Diálogo, producción y sincretismo de saberes populares y tradicionales sobre la enfermedad en Guinea Ecuatorial. *Revista de Antropología Iberoamericana* 14(2), 31-252.
- Scarpa, G. (2017). Etnobotánica histórica de grupos criollos de Argentina: puesta en valor, adscripción cultural y análisis de los usos no medicinales presentados por el gobierno argentino en la Exposición Universal de París de 1889. *Bonplandia* 26(2), 77-102.
- Scarpa, G., & Anconatani, A. (2017). Etnobotánica histórica de las misiones franciscanas del este de Formosa II: Identificación y análisis de datos inéditos y reelaboración integral de fuentes ya publicadas a partir de hallazgos documentales. *Dominguezia* 33(2), 1-43.
- Scarpa, G., & Anconatani, L. (2021). la "Materia Médica Misionera" atribuida al jesuita Pedro de Montenegro en 1710 (II): identificación de las plantas y sus usos contra trastornos del aparato reproductor. *Bonplandia* 30(1), 67-89.
- Scarpa, G., & Rosso, C. (2018). Etnobotánica histórica de grupos criollos de Argentina III: identificaciones taxonómicas y análisis de datos no medicinales del Chaco Húmedo provenientes de la Encuesta Nacional de Folklore de 1921. *Bonplandia* 27(1), 31-58.
- Scarpa, G., & Rosso, C. (2019). Etnobotánica histórica de los grupos criollos de Argentina IV: identificaciones taxonómicas de las plantas y análisis de datos medicinales del Chaco Húmedo provenientes de la Encuesta Nacional de Folklore de 1921. *Bonplandia* 28(1), 5-42.
- Stampella, P., Espósito, E., & Keller, H. (2019). Los frutales del Nordeste argentino en la "Materia Médica Misionera" del jesuita Pedro Montenegro. *Bonplandia* 28(2), 99-116.
- Trillo, C. (2010). *Valoración y uso de las plantas silvestres por parte de los pobladores de las Sierras de Guasapampa, Noroeste de Córdoba, Argentina*. Córdoba: Facultad de Ciencias Exactas Físicas y Naturales, UNC.
- Trillo, C., & Audisio, C. (2018). Las plantas medicinales de los huertos de pobladores de diferente tradición cultural en Bosques Chaqueños de Córdoba, Argentina. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 104-119.
- Trillo, C., & López, M. L. (2023). Continuidad histórica y transformación del uso de plantas alimenticias tras el contacto español en el Norte de Córdoba. *Andes*.
- Trillo, C., Arias Toledo, B., Galetto, L., & Colantonio, S. (2010). Persistencia of the use of medicinal plants in rural communities of the Western Arid Chaco (Córdoba, Argentina). *Open Journal of Complementary Medicine* 2, 80-87.
- TROPICOS. (mayo de 2023). <https://tropicos.org/home>. Obtenido de Missouri Botanical Garden.
- Villafuerte, C. (1984). *Diccionario de árboles, arbustos y yuyos en el folklore argentino*. Buenos Aires: Plus Ultra.

ETHNOBOTANY OF MEDICINAL PLANTS USED IN THE CHOL ETHNIC GROUP FROM TILA, CHIAPAS, MEXICO

ETNOBOTÁNICA DE PLANTAS MEDICINALES USADAS EN EL GRUPO ÉTNICO CHOL DE TILA, CHIAPAS, MÉXICO

Rejón-Orantes, José del Carmen; Sabina Andrea Sánchez-Cartela, Wilbert Gutiérrez-Sarmiento; Oscar Farrera-Sarmiento y Miguel Pérez de la Mora

ETHNOBOTANY OF MEDICINAL PLANTS USED IN THE CHOL ETHNIC GROUP FROM TILA, CHIAPAS, MEXICO

ETNOBOTÁNICA DE PLANTAS MEDICINALES USADAS EN EL GRUPO ÉTNICO CHOL DE TILA, CHIAPAS, MÉXICO



Ethnobotany of medicinal plants used in the Chol ethnic group from Tila, Chiapas, Mexico**Etnobotánica de plantas medicinales usadas en el grupo étnico Chol de Tila, Chiapas, México**José del Carmen Rejón-Orantes / rejonjose@hotmail.com

Sabina Andrea Sánchez-Cartela

Wilbert Gutiérrez-Sarmiento

Chiapas Medicinal Plants Research Center, Pharmacobiology Experimental Laboratory, Autonomous University of Chiapas, Mexico

Oscar Farrera-Sarmiento

Faustino Miranda Botanical Garden Museum, Secretariat of the Environment and Natural History

Miguel Pérez de la Mora

*Division of Neurosciences. Cellular Physiology Institute. National Autonomous University of Mexico*Rejón-Orantes, José del
Carmen; Sabina Andrea
Sánchez-Cartela, Wilbert
Gutiérrez-Sarmiento; Oscar
Farrera-Sarmiento y Miguel
Pérez de la MoraETHNOBOTANY OF
MEDICINAL PLANTS USED
IN THE CHOL ETHNIC
GROUP FROM TILA,
CHIAPAS, MEXICO.ETNOBOTÁNICA DE
PLANTAS MEDICINALES
USADAS EN EL GRUPO
ÉTNICO CHOL DE TILA,
CHIAPAS, MÉXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 249-264. Julio 2023

DOI:

10.18387/polibotanica.56.13

ABSTRACT: Herbalism is one of the basic pillars of traditional medicine in Mexico. The use of medicinal plants by the Chol ethnic group of Mexico is scarcely documented. In this work, we analyzed the traditional medicine information provided by three Chol healers from Tila, Chiapas, Mexico. The research was carried out in Tila, Chiapas, Mexico between April and June of the year 2018. Semi-structured interviews were applied to Chol healers about medicinal plants from in this region, collecting specimens of plants, classified and deposited in a recognised herbarium. The databases PubMed/Medline, Web of Science, Scopus, Wiley Online Library, ScienceDirect, and Google Scholar were the basis to explore the medicinal use of such plants.

We reported 35 plants with medicinal uses, 25 of them are considered endemic, while 10 are considered introduced. The Lamiaceae family is predominant with five specimens; most of the reported plants act on the gastrointestinal system or as an anti-inflammatory factor. The most common route of administration is oral. The knowledge of traditional Mexican herbalism has a fundamental role in the treatment of various diseases in the Chol communities. The dissemination and registration are essential for the protection and preservation of this knowledge culture.

Key words: Chol culture, ethnopharmacology, healer, herbalism, traditional medicine.

RESUMEN: La herbolaria es uno de los pilares básicos de la medicina tradicional en México. El uso de plantas medicinales por la etnia Chol en México está escasamente documentado. En este trabajo analizamos la información de medicina tradicional proporcionada por tres "curanderos" Chol de Tila, Chiapas, México. La investigación fue realizada en Tila, Chiapas, México entre Abril y Junio del año 2018. Se aplicaron entrevistas semiestructuradas a los curanderos Choles sobre plantas medicinales de la región, se recolectaron especímenes de plantas, se clasificaron y fueron depositadas en un herbario reconocido. Se usaron los siguientes buscadores para explorar el uso medicinal de dichas plantas: PubMed/Medline, Web of Science, Scopus, Wiley Online Library, ScienceDirect, and Google Académico. Se reportan 35 plantas con uso medicinal, 25 de ellas son consideradas como endémicas y 10 como introducidas. La familia Lamiaceae es la más predominante con 5 especies; la mayoría de las plantas reportadas actúan sobre el sistema gastrointestinal o como antiinflamatorio. La vía de administración más común es la oral. El conocimiento de la herbolaria tradicional mexicana tiene un papel fundamental en el tratamiento de diversas enfermedades en las comunidades choles. La difusión y el registro son fundamentales para la protección y preservación de esta cultura del conocimiento.

Palabras clave: Cultura Chol, etnofarmacología, chamanes, herbolaria, medicina tradicional.

INTRODUCTION

Mexico is the fifth place with the greatest wealth of plants and animals, and the seventh in endemism. This country has 68 indigenous languages and 364 spoken variants. Mesoamerica is one of the centers of origin and domestication, 30% of the population is indigenous, peasant, or Afro-Mestizo (Toledo & Barrera-Bassols, 2008).

Among the countries with the greatest cultural and biological diversity, Mexico holds the second position (INECOL, 2022). The biocultural relationship is based on the responsible use and care of the environment, parallel to the perpetuity of traditions and customs of the established culture in a certain region. The biocultural resources are species of plants, animals, and fungi that are part of the articulation between the use, management, and traditional knowledge of communities (Dunn, 2017).

The documentation of traditional knowledge in Mexico is important as many rural communities are losing their socioeconomic and cultural characteristics. According to the Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas (CDI), there are 23 ethnolinguistic groups categorized in "accelerated extinction", 15 in "slow extinction", and 14 are already in disappearance. Consequently, the documentation and preservation of native cultural knowledge are essential.

The term *traditional medicine* refers to all the knowledge, skills, and practices based on the theories, beliefs, and experiences indigenous to different cultures, whether explicable or not, used in the maintenance of health as well as in the prevention, diagnosis, improvement or treatment of physical and mental illness (WHO, 2013). Traditional medicine in Mexico is based mainly on herbalism, as it is the most accessible and effective medicine for both Mexican people in general as well as communities. More than 5,000 species represent 23% of the Mexican flora that has some traditional use; out of this total, 3,000 species are considered medicinal plants (SEMARNAT, 2021). Although the majority of principles that constitute the main ingredients of patented medicines are derived from plant species, only 5% of all these plants have been analysed pharmacologically (SEMARNAT, 2021). Based on relevance, Chiapas is considered the second state with the greatest biocultural wealth in Mexico (INECOL, 2022), with ethnic groups such as the Tojolabal, Mame, Mochó, Tzeltal, Lacandona, Zoque, Tzotzil, Chol, etc. The majority are descendants of the Mayan culture. In addition to this, Chiapas owns one of the highest levels of vascular plants in the world's biodiversity (Barthlott *et al.*, 1996).

The Chol ethnic group represents 12.5% of the population with an indigenous language that habit in the northeast of Chiapas, between the municipalities of Palenque, Salto de Agua, Tumbalá, Tila, and Sabanilla which form an area of approximately 4,000 km, located in the Northern Chiapas Mountains and the transition zone to the Gulf plain (IIS-UNAM, 2012). The main vegetation found in these regions is typical of a rainforest. Few ethnobotanical studies have been carried out in Mexico with quantitative tools that allow corroborating ancestral knowledge for the treatment of diseases.

This is the first report about the medicinal plant knowledge in the Chol region of the state of Chiapas, Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Study site. The municipality of Tila is located in the north of Chiapas under coordinates: latitude 17°09'56.52"N and longitude 92°39'33.48"W (Fig. 1 A-B). Tila belongs to the

rainforest area, so it has representative vegetation from the region, and it has 133 localities with a total of 83,505 inhabitants. The territorial extension is 798.57 km², which represents 0.93% of the state surface. The altitude is 840 m above sea level, and its climate varies according to the altitude: warm humid with rain throughout the year, and semi-warm humid above 1,000 m. (Fig. 1C) (INEGI, 2010).

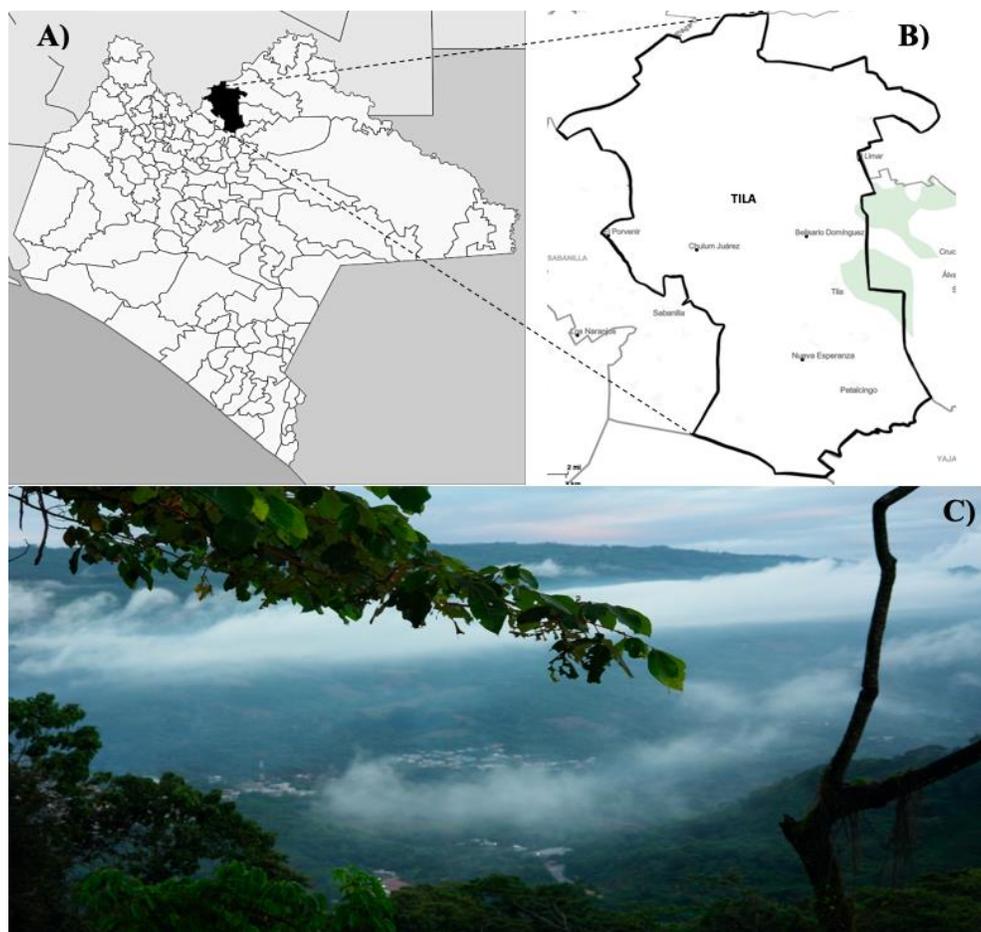


Fig. 1. A) State of Chiapas indicating the location of Tila B) Map of Tila municipality. C) The town of Tila taken from nearby mountains and fog

Data collection. The research began in April 2018 and concluded in June of the same year. It was carried out in the community of Tila, Chiapas, Mexico. The ethnobotanical information was obtained through face-to-face semi-structured interviews with three healers (informants) from the region; two men (aged between 60-70 years old) and a female (62 years old). They shared the medicinal uses they give to plants and allowed us to keep a specimen of each species. Each specimen that was recognized as useful in the traditional Chol medicine was photographed and collected by recording data such as common name(s) in Spanish and Chol language, the use descriptions, categories of use and used parts of plants. All the specimens were temporarily placed in containers with water and soil until the investigation was finished; later brown paper bags were used for their transport in which they were carefully wrapped.

Data analysis. All the specimens obtained in Tila were carried to the botanical garden Faustino Miranda, which serves as the Secretariat of the Environment and Natural History in Tuxtla Gutierrez, Chiapas, Mexico. The curator Oscar Farrera Sarmiento (expert botanist) analyzed and classified the plants based on the International Plant Names Index guideline (IPNI). Finally, exhaustive research of each of the classified plants was carried out 1) to find out records of the plants as well as the medicinal uses attributed to them and 2) to contrast and/or add relevant information to the knowledge provided by Chol healers.

RESULTS

In this research, 49 medicinal plants of the Chol culture were documented. Among them, 14 plants were not classified, while 35 different species were fully identified. They are distributed along 23 taxonomically botanical families. Table 1 shows the total of recollected, documented, and classified plants in the Chol culture for the treatments of different symptoms and ailments. Vouchers list is found in Appendix 1. A total of 25 plants were considered as endemic to either North, Central, and South America but currently grown in Mexico. On the other hand, 10 were considered “introduced plants” according to the botanic classification as their origins are not from the previously mentioned continents.

Table 1. The ethnobotanical information of Chol culture from Tila, Chiapas, Mexico.

Family	Scientific name	Common name (Chol name)	Life form	Part used	Application: Oral (O), Topic (T)	Native (N) or introduced (I)	Ailment/Symptoms	Folio	Match between healers
Adoxaceae	<i>Sambucus canadensis</i>	Sauco (Chijitye)	Shrub	Cortex	O	N	Diuretic	44549	3
Annonaceae	<i>Rollinia</i> sp	Cabeza de Mono	Tree	Fruit	O	I	Syncope	51468	3
Apiaceae	<i>Foeniculum vulgare</i> Mill	Hinojo	Herbs	Stem and leaves	O	I	Colic	31048	3
Asteraceae	<i>Calea urticifolia</i> (Mill.) DC.	Cruz Pimel	Shrub	Leaves	O	N	Anti-inflammatory	38625	2
Asteraceae	<i>Critonia morifolia</i>	(Koj m chimay)	Shrub	Leaves	T	N	Hits, local antiinflammatory	45319	2
Asteraceae	<i>Tagetes erecta</i> L	Cempoasuchil	Herb	Flowers	O	N	Colitis	53871	3
Begoniaceae	<i>Begonia glabra</i> Aubl	(Pozlon Pimel)	Herb	Flowers	T	N	Boils	45289	3
Begoniaceae	<i>Begonia heracleifolia</i> S.&C.	(Paj Tyok)	Herb	Leaves	O	N	Stomachache	41946	1
Begoniaceae	<i>Begonia thiemei</i> C. DC.	Monte agrío (Pajtyo Pimel)	Herb	Leaves	O	N	Stomachache	34209	1
Bignoniaceae	<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) Bertero ex A.DC.	Maculis Bertol	Tree	Leaves, cortex	O	N	Fever, parasites	47256	3
Commelinaceae	<i>Tradescantia zebrina</i>	Cucaracha (Chachak tsiwi)	Herb	Leaves	O	N	Colic, gastric ulcer	53872	3
Costaceae	<i>Costus ruber</i> C. Wrigth ex Griseb	Cañita agría	Herb	Stem	O	I	Kidneys, throat	35173	3
Crassulaceae	<i>Bryophyllum pinnatum</i>	Bella dona (Leslespimel)	Shrub	Leaves	T/O	I	Local anti-inflammatory, superficial wounds	39984	2
Crassulaceae	<i>Kalanchoe gastonis-bonniieri</i>	Malamadre	Herb	Leaves	O,T	I	Headache, burns, superficial wounds	10193	2
Equisetaceae	<i>Equisetum myriochaetum</i>	Cola de caballo	Herb	Stem and leaves	O	N	Diuretic	8438	3
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia graminea</i> Jacq	(Sa'sak Pimel)	Herb	Leaves	T	N	Warts, ulcers	53873	2
Euphorbiaceae	<i>Croton draco</i> Schlttdl	Árbol de hoja blanca (Chichitye)	Tree	Leaves, cortex	T	N	Superficial wounds	21596	3

Lamiaceae	<i>Ocimum</i> aff. <i>campechianum</i> Mill.	Flor Blanco	Herb	Leaves	O	N	Stomachache	53875	1
Lamiaceae	<i>Ocimum</i> sp.	(Suk Nich)	Herb	Leaves	O	I	Decreased menstrual bleeding		3
Lamiaceae	<i>Salvia coccinea</i>	Yermatin	Herb	Flowers	O	N	Decreased menstrual bleeding	53877	3
Lamiaceae	<i>Salvia rubiginosa</i> Benth	(Juku wej Pimel)	Herb	Flowers and leaves	O	N	“Dolor de hueso y la reuma”	53879	3
Malvaceae	<i>Malvaviscus arboreus</i> Cav	Tulipan	Shrub	Flowers and leaves	O	N	Dysentery	23956	3
Nyctaginaceae	<i>Bougainvillea glabra</i> Choisy	Buganvillea	Climber	Flower	O	I	Cough	50197	3
Phytolaccaceae	<i>Petiveria alliacea</i> L.	Monte Zorro	Herb	Leaves	O	N	Menstruation onset induction	53880	2
Piperaceae	<i>Peperomia liebmannii</i> C. DC.	Monte de Erisipela	Herb	Leaves	T	N	Erysipelas	20225	2
Plantaginaceae	<i>Plantago major</i> L	(Lanté)	Herb	Leaves	O	I	“dolor de corazón”	53881	3
Poaceae	<i>Saccharum officinarum</i> L.	Caña roja	Herb	Stem	O	I	Cough without expectoration	38697	2
Rutaceae	<i>Ruta graveolens</i>	Ruda	Herb	Leaves	O	I	Colic, Fever	13086	1
Solanaceae	<i>Solanum cordovense</i> Sesse & Moc	Arbol hoja blanca	Herb	Leaves	O	N	Urinary tract diseases	53882	3
Urticaceae	<i>Cecropia obtusifolia</i> Bertol	Guarumbo (K'olok)	Tree	Leaves, branches, bark, root	O	N	Hyperglycemia control	35732	3
Urticaceae	<i>Myriocarpa heterostachya</i>	(Jojotzin)	Shrub	Leaves	O/T	N	Local anti-inflammatory, superficial wounds	53884	2
Urticaceae	<i>Pilea microphylla</i> (L.) Liebm	(Wosvos Pimel)	Herb	Leaves	T	N	Warts	53885	3
Verbenaceae	<i>Verbena litoralis</i> HBK	Verbena (Wich'ak'ach)	Herb	Flowers	O	N	Puke	40013	3
Verbenaceae	<i>Lippia dulcis</i> Trevir	Monte dulce (Tsa'j Tsa'j Pimel)	Herb	Leaves and flowers	O	N	Cough	40102	3
Zingiberaceae	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe	Jengibre	Herbs	Roots	O	I	Cough	8529	2

There are several plants with multiple medicinal purposes. Table 2 shows the five medicinal preparations that mix two or more plants to treat ailments such as urinary tract infection, hair loss, calm crying in children, gastritis, and decrease anger. The combinations of medicinal plants suggest that the pharmacological effect might be enhanced; most of the combinations are used in water or milk infusions.

Table 2. Combinations of plant species used for medicinal purposes in Tila, Chiapas, México.

Plant species and part used	Plant species and part used	Plant species and part used	Presentation	Ailment/Symptoms
<i>Salvia coccinea</i> leaves	<i>Croton draco</i> Schltdl leaves		Infusion	Urinary tract infection
<i>Agetes erecta</i> L. Flowers	<i>Mentha spicata</i> leaves		Ointment	Hair loss
<i>Sambucus canadensis</i> frut	<i>Equisetum myriochaetum</i>		Mixed with water	Hair loss
<i>Calea urticifolia</i> (Mill.) DC.	<i>Ruta graveolens</i>	<i>Ocimum basilicum</i>	Infusion	Calm crying in children
<i>Tradescantia zebrina</i> leaves	<i>Agave stem</i>	<i>Aloe vera</i>	Mixed with milk	Gastritis
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill	<i>Chamaemelum nobile</i>		Infusion	Decrease anger

The most abundant family found was Lamiaceae represented by five species (Fig. 2), followed by Begoniaceae, Urticaceae, and Asteraceae with three species; Euphorbiaceae, Crassulaceae and Verbenaceae with two species each, and the rest Moraceae, Zingiberaceae, Solanaceae, Rutaceae, Poaceae, Plantaginaceae, Piperaceae, Phytolaccaceae, Nyctaginaceae, Malvaceae, Equisetaceae, Costaceae, Commelinaceae, Bignoniaceae, Apiaceae, Annonaceae and Adoxaceae with one representative species.



Fig. 2. Photos of plants collected in Tila, Chiapas, Mexico in their wild form. A) “Monte de Erisipela”, *Peperomia liebmannii* C. DC. B) *Ocimum* aff. *campechianum* Mill. C) “Yermatin”, *Salvia coccinea*.

Oral administration through preparations for infusion is the most common route of administration documented in this investigation, followed by topical administration.

During the collection of medicinal plants in Tila, Chiapas, Mexico, 49 specimens were obtained, of which only 35 could be classified by botanical experts. The variety of presentation of medicinal plants used in this region are mainly: herbs (the most common), shrubs and trees.

DISCUSSION

The importance of medicinal plants in our country is undeniable, several ethnic groups of Chiapas Mexico have documented their traditional medicine, however, little information exists on Chol medicinal plants. Lamiaceae is the most common family of plants used in the Chol culture of Tila, Chiapas. This family included several genus of plants which has been documented with medicinal used in others regions of the world. An example of Lamiaceae member is the *Ocimum*, also called Tulsi, which has been associated with the treatment of gastrointestinal problems. It is a huge genus plant that belongs to the Lamiaceae family, which comprises about 64 species of aromatic medicinal herbs with traditional uses (Zahran *et al.*, 2020). In general, *Ocimum* plants can be considered shrubs that contain essential oils of various aromas which are valuable in the pharmaceutical, perfumery, and food processing industries (Zahran *et al.*, 2020). Several reports have proven its medicinal benefits such as anti-inflammatory, analgesic, anti-viral, antipyretic, antioxidant, radical scavenging, anticancer, anti-ulcerogenic, and ulcer healing (Maurya & Sangwan, 2020). These pharmacological actions are associated with the presence of specific bioactive phytoconstituents (Maurya & Sangwan, 2020). The two major classes of secondary metabolites, phenylpropanoids, and terpenoids are found in essential oils (Maurya & Sangwan, 2020).

The *Ocimum campechianum* Mill (Voucher #53875), also used in the Chol culture, is an interesting native species of the South and Central American tropics (Tacchini *et al.*, 2020). This plant is also known as “Albahaca de campo” or “Albahaca silvestre” and is widely used by the indigenous population both for culinary and medicinal purposes (Tacchini *et al.*, 2020). The *Ocimum campechianum* Mill leaves are used in infusions for the treatment of respiratory tract problems, cold, flu, fever, stomach disorders (as reported in this article), dysentery, rheumatism, paralysis, epilepsy, and mental illnesses (Can-Sulu, 2015). Different attributions to this species are analgesic, anticonvulsant, antispasmodic, antifungal properties, anesthetic, analgesic, and anti-inflammatory activities. The predominant essential oil constituents such as methyl chavicol, eugenol linalool, camphor, and methyl cinnamate have been detected in this plant (Bomma *et al.*, 2020). In addition, it can be used topically during the bath to treat skin conditions, crushed leaves to treat nasal myiasis (parasitic disease), and root cooking to treat digestive problems (Can-Sulu, 2015). Subsequently, this plant has been studied especially for leaf and aerial parts which have shown to have antifungal, insect repellent, and analgesic activities (Tacchini *et al.*, 2020).

The *Ocimum Micranthum* Willd (Voucher #53874) is an herbaceous plant distributed in regions of Mexico in the states of Campeche, Chiapas, Colima, Jalisco, Oaxaca, Puebla, Queretaro, Quintana Roo, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, and Yucatan (Caamal-Herrera *et al.*, 2018). Reports indicate that this plant contains essential oils responsible for medicinal activities against human pathogens, fungi, insects, and larvae in addition to its antioxidant, antiprotozoal, anti-inflammatory, and contraceptive properties (Caamal-Herrera *et al.*, 2018). These medicinal activities have been associated with the presence of diverse chemical compounds in the leaves of this plant (Caamal-Herrera *et al.*, 2018).

The *Salvia* is the most diverse genus of the Lamiaceae family, 306 *Salvia* species are found in Mexico; many have been used for centuries in traditional medicine, as antihydrotics, tonics, antirheumatoids, antimicrobials, antispasmodics, antiseptics, astringents, digestives, anti-inflammatories, carminatives, and chronic painkillers (Grzeszczuk *et al.*, 2018). Also, several studies have identified it as one of the most valuable sources of natural antioxidants (Grzeszczuk *et al.*, 2018). Several phytochemical compounds have been identified in this genus. The main chemical components identified in sage are essential oils, hydroxycinnamic acid derivatives, phenolic diterpenes, triterpenes, flavonoids, phenolic glycosides, and polysaccharides (Grzeszczuk *et al.*, 2018). Other major present antioxidants are the carnosol and carnosic (phenolic diterpenes), the rosmarinic, caffeic, ferulic, chlorogenic, (hydroxycinnamic acid derivatives), the salvianolic (dimer of rosmarinic acid). In addition, some essential oil compounds (camphor, 1, 8-cineole, α -thujone, β -thujone) and flavonoids (flavones of apigenin and luteolin, and their hydroxylated derivatives) (Grzeszczuk *et al.*, 2018) reported. Finally, the use of *Salvia Rubiginosa* Benth (Voucher #53879) is also mentioned in the Tzetzal and Tzotzil groups of the Chiapas Highlands, mainly to treat stomach and respiratory ailments, constituting a fundamental part of their ethnopharmacology (Martínez, 2011).

The Begoniaceae family was represented by three species of medicinal plants found in the region of Tila used by the Chol culture. Many species that belong to the Begoniaceae family are used for medicinal purposes; the *Begonia glabra* is used to heal shallow open wounds; while the *Begonia fimbriatipula* reduces the fever, it is also used as a cough medicine, pain reliever, and is processed into drinks as the bitter tea (Siregar *et al.*, 2018). Zubair *et al.*, (2016) suggests potential anticancer activity of alkaloid and glycoside-type compounds from *Begonia* species. The flowers of this species are used as a topical treatment to treat boils in this Chol culture or Tila, Chiapas. On the other hand, the ethanolic extract from *Begonia thiemei* species against *Citrobacter freundii*, suggest a potential source of new antimicrobial agents for the antibiotics development (Buyun *et al.*, 2019).

The Asteraceae family classified in this plant documentation was represented by three different species of plants. The *Calea urticifolia* (Mill.) DC. (Voucher #38625), commonly known as "bitter of the mount" is one of the most used plants in the traditional medicine in Yucatan as a remedy for pain, mainly stomach pain, malaria, and gastric ulcers (Mijangos-Ramos *et al.*, 2018). This agrees with the anti-inflammatory property attributed to it in this article. This can be found from Mexico to Panama, its leaves are used as a topical bactericide or as a treatment for gastric ulcers (Gogineni *et al.*, 2019). Another Asteraceae family is the *Critonia morifolia* (Voucher #45319), which has been reported with anticancer qualities by causing degradation of cell cycle regulators and downregulation of cyclin D1 and c-Myc proto-oncogenes, which have an important role in the development of various types of cancer (Unger *et al.*, 2012). This article documented the topical anti-inflammatory use.

Tagete is another member of the Asteraceae family and has around 50 plant species. Many medicinal properties have been demonstrated from the use of these plants; the leaves are used as an antiseptic, applied in boils and anthrax, for kidney problems, hemorrhoids, and muscle pain. Several studies have demonstrated medicinal properties in *Tagetes erecta* such as: antinociceptive, anti-inflammatory, antioxidant, insecticide, larvicidal, hepatoprotective, antipyretic, cicatrizant, antibacterial, antimicrobial, antiepileptic and antifungal (Singh *et al.*, 2020). In the Chol culture, its flowers are used to treat colitis. Several phytochemical components were found in different parts of *Tagetes erecta*, such as: quercetagein-7-O-glucoside, 7 β -hydroxysterol, erythrodiol-3-palmitate, erythrodiol, 1-[5-(1-propyn-1-yl) - [2, 2-bithiophen]-5-yl]-ethanone, α -terthienyl, β -sitosterol, daucosterol, quercetagein, quercetagein-7-methylether, kaempferol, syringic acid, gallic acid, lupeol, 3- α -galactosyl disyringic acid, 3- β - galactosyl disyringic acid, 6-ethoxy-2, 4- dimethylquinoline, oplodiol, (3S, 6R, 7E)-hydroxy- 4,7-megastigmadien-9-one, palmitin, ethylene glycollinoleate, and n-hexadecane (Li-Wei, 2011).

Two species of the Crassulaceae family are commonly known by Chol healers. The *Bryophyllum pinnatum* (Voucher #39984) species, also known as the "leaf of life", is a succulent medicinal herb. It usually grows in tropical, subtropical, and warm temperate zones used in traditional medicine in Africa, tropical America, India, China, and Australia (Adibe *et al.*, 2019). This plant is used as anthelmintic, immunosuppressive, hepatoprotective, antinociceptive, anti-inflammatory (same use given by the traditional Chol medicine), antidiabetic, nephroprotective, antioxidant, antimicrobial, analgesic, anticonvulsant, neuropharmacological, and antipyretic activities (Ogidi *et al.*, 2019). *Kalanchoe gastonis-bonniieri* (Voucher #10193) is another medicinal herb that belongs to the Crassulaceae family. This plant is used in Latin America as a vaginal contraceptive as well as in the treatment of genital-urinary and vaginal infections (Palumbo *et al.*, 2019). In contrast to these uses, in the Tila region, this plant is used to treat headaches and is used topically for superficial wounds.

Out of the Euphorbiaceae family, two species were identified during the Chol medicinal plant documentation. Several members of the *Euphorbia* genus have been reported to be administered for ailments such as skin disease, rheumatism, gonorrhea, mucous membrane infections, boil, sores, hypertension, and in assisting wound healing, additional to be useful as purgatives and with exfoliant properties (Bolaji *et al.*, 2019). Ikpefan *et al.* (2020), have highlighted that chloroform extraction and chromatographic vacuum liquid subtraction of *Euphorbia graminea* have shown the highest antimicrobial activity. This explains the wide use that is given in terms of skin diseases that have a microbial agent as their origin. Also, the *Croton* genus, a plant of the Euphorbiaceae family, has shown interesting uses in traditional medicine. The presence of diterpenes, cyclitols, triterpenes, steroids, phenolic substances, and flavonoids have been reported, as they have biological properties (Barrera *et al.*, 2016) they undoubtedly promote the investigation of new bioactive substances of therapeutic interest. In the Chol region, people use it for superficial wounds.

Two genera from the Urticaceae were collected in this work. According to a study conducted by Ria *et al.* (2014), the antimicrobial activity of several species of Urticaceae is demonstrated. This explains the scientific basis for the medicinal use of this species in the treatment of wounds also observed in this work. In addition, the traditional use of the *Pilea microphylla* has been reported as a treatment for bacterial infections. Facey *et al.* (1999), verified the antimicrobial effect that this plant, finding some antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* from a mixture of acetone and ethyl acetate from *Pilea microphylla*.

The following genus was the only one documented for this respective taxonomic family of plants. The *Malvaviscus arboreus* is a species of plant used by the Tila healers as a medicinal flower for gastrointestinal diseases, especially dysentery. Hesham *et al.* (2021), reported medicinal properties found in the *Malvaviscus arboreus* such as antioxidant, cytotoxic, hepatoprotective, and anti-infective activities attributed to the presence of a variety of phytochemicals.

As for the Adoxaceae family, the Chol population in this region uses the bark of the *Sambucus mexicana* (Voucher #44549) as a diuretic. The leaves and inner bark can be used as an insecticide and a dye. In several Mexican regions, the elderberry fruit is usually used to treat fever, cough, and respiratory diseases such as bronchitis. Furthermore, it is traditionally used in the treatment of digestive disorders, diarrhea, and red dysentery. Previous documentation demonstrates that it is also prescribed as a purgative, disinfectant, and diuretic to heal cavities, conjunctivitis, eye and ear infections, parasites, and rabies. The presence of di- and tri-terpene, glycosides, and phenols (e.g. flavonoids, tannins, and coumarins) has been associated with medicinal properties (Wright *et al.*, 2007).

The genus *Rollinia* generally grows in Central and South America. Antimicrobial effects of *Rollinia* extracts against *Leishmania* species have been proved to be major active metabolites due to a relation with acetogenins and alkaloids (Osorio *et al.*, 2007).

In the case of the *Foeniculum vulgare*, it is an herb with wide medicinal use. Fennel seeds are used as an analgesic, anti-inflammatory, diuretic, carminative, and antispasmodic (Ahmed *et al.* 2019). This last property coincides with that reported by healers from the Chol region. It is also used in indigenous medicine for the treatment of organ obstructions such as blood vessels, gall bladder, and liver; as well as for indigestion, nausea, colic, and flatulence (Ghazanfarpour *et al.*, 2018). *Tabebuia* is a genus of plants commonly used in traditional medicine to treat several ailments such as fever, pain, snake bite, as vermifuge or blood thinner, anemia, antimicrobial, nasal congestion, conjunctivitis, wounds, influenza, cardiac and stomach problems, kidney, skin and throat inflammations, as well as cancer and tumors (Gómez & Luiz, 2018). The species of *Tabebuia rosea* is a neotropical species documented for infectious diseases treatment such as pruritic diseases and infections with fungi and yeast. Several phytochemical compounds have been associated with microbial inhibition. Along different extracts has been reported the presence of terpenes, steroids, sesquiterpenic, flavonoids, and phenolic acids from leaves and roots (Jimenez-Gonzalez *et al.*, 2018). These phytochemical compounds play an important role in the bioactivity of medicinal plants. In conclusion, the reported uses of *Tabebuia* in other bibliographies correspond with the reported ones in this article and are supported by Jimenez-Gonzalez *et al.* (2018).

Tradescantia zebrina (Voucher #53872) is a perennial herbaceous species from the Commelinaceae family, which has been used to treat diseases related to blood disorders (Grace *et al.*, 2020). The extract of this plant has been used to hasten blood coagulation; this explains the medicinal use in gastric ulcers by Chol people in Tila. Several phytochemical compounds such as saponins, phenolic compounds, and flavonoids have been detected for methanol extract from *T. zebrina*, as well as 15-lipoxygenase activity with possible applications in the treatment of asthma (Alaba & Chichioco-Hernandez, 2014).

The *Costus ruber* C. Wright ex Griseb (Voucher #35173), which belongs to the Costaceae family and is also called “caña agría”, is used in traditional medicine. *Costus pulverulentus* is used for the empirical treatment of inflammation, pain, and cancer (Nascimento *et al.*, 2016).

The species of *Equisetum myriochaetum* (Voucher #8438) is widely distributed in Mexico, where has been associated with medicinal benefits, including antimicrobial, antioxidant, antiproliferative, and diuretic properties also reported in this work. The presence of phytochemicals such as saponins, alkaloids, triterpenoids, and flavonoids may support its wide spectra of bioactive effects, including its antiproliferative potential that has been paired with other members of this genus of plants (Olarzárán-Santibañez *et al.*, 2021). Revilla-Monsalve *et al.* (2007), demonstrated a hypoglycemic effect from aqueous extracts of *Cecropia obtusifolia* (traditional form of consumption in Mexico) containing isoorientin and chlorogenic acid, without apparent adverse effects or hepatotoxicity. This hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* Bertol (Voucher #35732) is widely documented (Cadena-Zamudio *et al.*, 2019). In this sense, these research projects fundament the use that Chol healers give to this plant.

Bougainvillea glabra is used in traditional medicine as an anti-inflammatory and analgesic, as well as to treat gastrointestinal disorders (diarrhea, stomach pain, nausea, etc.), and hypotension. Studies conducted on crude extracts, isolated pure compounds, or solvent fractions of *B. glabra* have shown antibacterial, antidiabetic, antifungal, analgesic, antioxidant, cytotoxic, anti-inflammatory, and antipyretic properties. The effects have been attributed to various secondary metabolites of flavonoids, betacyanins, terpenoids, glycosides, and essential and phenolic oils (Saleem *et al.*, 2020). In the Tila region, this plant is used to treat cough.

Lateef *et al.* (2018) conducted a study that determined the antimicrobial, anticoagulant, and antioxidant activity of the *Petiveria alliacea* L. (Voucher #53880) leaf extract through the synthesis of silver nanoparticles from this herb. The effects of *Petiveria alliacea* L. have impacted positively on the central nervous system, specifically in processes such as memory and learning, where cognitive improvements may be achieved. Zavala-Ocampo *et al.* (2022) carried out a study that states that the methanol fraction of *P. alliacea* and its subfractions have antioxidant activity in addition to inhibiting acetylcholinesterase, which explains the cognitive improvement attributed to this herb. Contrary to other texts, this plant is used by Chol healers for the induction of menstrual bleeding.

Several medicinal properties have been connected with the *Plantago major*, and recent studies have confirmed it as an antitussive, anti-inflammatory, hemostatic, anti-infective, antihemorrhagic, diuretic, wound healing, antipyretic, laxative, and astringent (Najafian *et al.*, 2018). The traditional doctors of Tila use it for "dolor de corazón" referring to an emotional illness.

The presence of bioactive compounds with antimicrobial potential has been observed from the aqueous ethanolic extract of the *Saccharum officinarum* bark. It should be noted that based on the scoop in which the sugar cane bark is edible, a certain level of safety and tolerability may be assured for human beings (Uchenna *et al.*, 2015).

Ruta graveolens (Voucher #13086) is widely known and used in traditional medicine regarding the antispasmodic, sedative, and stimulating effects for the beginning of the menstrual cycle; and wound healing, among others. These effects are supported by its high content of phytochemicals. Recently, Pavić *et al.* (2019) evaluated the total phenolic content of *R. graveolens* and its antioxidant and antibacterial activity through in vitro studies. Donadu *et al.* (2021), pointed out that the *R. graveolens* has satisfactory antifungal activity against the *Candida tropicalis* and *Candida albicans* associated with oral candidiasis. In the Tila region, it is used to treat fever, so it may be connected with previous documentation about antimicrobial properties.

Antimicrobial peptides have been reported in the structure of several plants of the Solanaceae genus, the reason is that these peptides serve as chemical shields to protect themselves from pests and other microorganisms (Afroz *et al.*, 2020). This article detailed its use for urinary tract disorders.

In the case of *Verbena littoralis* H. B. K. (Voucher #40013) is a medicinal plant belonged to Verbenaceae widely distributed in South America. This plant has been used to treat liver intoxication and other hepatic disorders (Vestena *et al.*, 2019). Other uses such as shrub has been widely used in folk medicine as an effective antidiarrhetic, it has also been claimed as a remedy for typhoid fever, and cancer (Umasa & Castro, 1990). Verbenalin 1 and Brasoside 2 are phytochemicals identified from the ethanolic extract of the aerial parts (Umasa & Castro, 1990). According to healers choles, it is also attributed a certain antiemetic effect.

Lippia dulcis Trev (Voucher #40102), this is one of the most traditional, natural, and medicinal plants that belongs to the Verbenaceae family. Several compounds from the *Lippia dulcis* Trev have been reported, including the verbascoside (kusaginín, acteoside), a phenolic compound and a very strong antioxidant that provides anti-inflammatory and pain-relieving benefits, as well as immunosuppressive, immune modeling, anticancer and hepatoprotective properties (Tomaszewska-Sowa, 2020). In addition, the *Lippia dulcis* Trev has been used in the treatment of bronchitis, cough (as reported in this article), indigestion, liver disorders, hypertension, and dysentery (Tomaszewska-Sowa, 2020).

Finally, the documentation of *Zingiber officinale*, identified as a Jengibre, is an herb used in the treatment of coughs in the Chol culture. Hasan *et al.* (2012), informed about the chemical composition and antimicrobial activity of *Zingiber officinale*. It is suggested that this property comes from the gingerol produced by this herb since as soon as it comes into contact with the cell wall it breaks it, leading to the death of the microorganism.

CONCLUSIONS

Medicinal plants are a fundamental resource for the state of Chiapas, Mexico. Twelve indigenous peoples from Chiapas; Tseltal, Tsotsil, Chol, Zoque, Tojolabal, Mame, Kakchiquel, Lacandón, Mocho, Jacalteco, Chuj and Kanjobal, preserve the use of medicinal plants in their traditional medicine. Ethnobotanical studies of medicinal plants used by the Chol culture are scarce. This work is an effort carried out in the context of traditional knowledge of medicinal plants, most of which are collected from nature. It can be verified that inter-ethnic cultural interaction has influenced the coincident uses given to some wild plants, although different uses of the same plant were also observed in other regions of the country, the same situation that is observed in introduced plants. All this is the heritage of the Chol culture, the present work is an effort to contribute to the conservation of this knowledge.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank all the people who collaborated in this work. The traditional Chol healers of the upper zone of Tila, Chiapas: Mr. Antonio Ramírez López, Mr. Juan Pérez Pérez and Mrs. Josefa Torres Vásquez. We thanks to Mr. Jorge Jiménez Ramírez, Josué Jiménez Martínez and Jorge Domingo Parcero Torres who were our translators from chol to Spanish. We thanks to Dra. Vanina Herrera Allard and Mr. César Alonso Montesinos Serrano for English translation. Also, we thanks to Faustino Miranda Botanical Garden Museum, Secretariat of the Environment and Natural History. We are indebted to Instituto de Fisiología Celular, Universidad Nacional Autónoma de México and in particular to Minerva Crespo Ramírez from the Division of Neuroscience for their technical assistance as well as to Ana María Escalante Gonzalbo and Francisco Pérez-Eugenio from the Computing Unit for their support during this

work. And finally, we thank Anahi Cañas Avalos, Nataly Jiménez García and Valery Esmeralda Flores Cruz by plants and data recollection.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Declarations of interest

None

LITERATURE CITED

- Adibe, M. K., Gabriel, I. M., Akintunde, A. A. M., & Esther, A. O. (2019). Chemical compositions and antioxidant activity of leaf and stem essential oils of *Bryophyllum pinnatum* (Lam.) Kurz. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 9(2), 057-064. DOI: <https://doi.org/10.30574/gscbps.2019.9.2.0184>
- Afroz, M., Akter, S., Ahmed, A., Rouf, R., Shilpi, J. A., Tiralongo, E., ... Uddin, S. J. (2020). Ethnobotany and Antimicrobial Peptides From Plants of the Solanaceae Family: An Update and Future Prospects. *Frontiers in Pharmacology*, 11, 565, 1-15. doi:10.3389/fphar.2020.00565
- Ahmed, A. F., Shi, M., Liu, C., & Kang, W. (2019). Comparative analysis of antioxidant activities of essential oils and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) seeds from Egypt and China. *Food Science and Human Wellness*, 8(1), 67-72. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.03.004>.
- Alaba, C. S. M., & Chichioco-Hernandez, C. L. (2014). 15-Lipoxygenase inhibition of *Commelina benghalensis*, *Tradescantia fluminensis*, *Tradescantia zebrina*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*, 4(3), 184-188. DOI: 10.1016/S2221-1691(14)60229-X
- Barrera, C. A. C., Gómez, D. C., & Castiblanco, F. A. (2016). Importancia medicinal del género *Croton* (Euphorbiaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 21(2), 234-247
- Barthlott, W., Lauer, W., & Placke, A. (1996). Global Distribution of Species Diversity in Vascular Plants: Towards a World Map of Phytodiversity (Globale Verteilung der Artenvielfalt Höherer Pflanzen: Vorarbeiten zu einer Weltkarte der Phytodiversität). *Erdkunde*, 50(4), 317-327. <http://www.jstor.org/stable/25646853>
- Bolaji, A. O., Adeniran, O. I., Adedayo, A., & Akinpelu, B. A. (2019). Evaluation of chemical composition, anti-inflammatory, antioxidant and cytotoxic potential of leaf and root extracts of euphorbia gramineae. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 3(6), 201-209. DOI: 10.26538/tjnpr/v3i6.4
- Bomma, M., Okafor, F., Mentreddy, S. R., Nyochembeng, L., Rangari, V. K., & Khan, S. (2020). The chemical composition, characterization, and combination effect of *Ocimum campechianum* leaf essential oils and bio-produced silver nanoparticles against *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli*. *International Journal of Current Engineering and Technology*, 10(4), 518-526. DOI: <https://doi.org/10.14741/ijcet/v.10.4.4>
- Buyun, L., Tkachenko, H., Kurhaluk, N., Góralczyk, A., Tomin, V., & Osadowski, Z. (2019). Screening for antimicrobial activity of nine ethanolic extracts obtained from leaves of Begonia plant A possible alternative in the treatment of infections caused by *Citrobacter freundii*. *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, (3). Retrieved from <https://agrobiodiversity.uniag.sk/scientificpapers/article/view/279>.
- Caamal-Herrera, I. O., Carrillo-Cocom, L. M., Escalante-Réndiz, D. Y., Aráiz-Hernández, D., & Azamar-Barrios, J. A. (2018). Antimicrobial and antiproliferative activity of essential oil, aqueous and ethanolic extracts of *Ocimum micranthum* Willd leaves. *BMC complementary and alternative medicine*, 18(1), 1-9. DOI: 10.1186/s12906-018-2122-z.
- Cadena-Zamudio, Jorge David, Nicasio-Torres, María del Pilar, Guerrero-Analco, José

- Antonio, & Ibarra-Laclette, Enrique. (2019). Ethnopharmacological studies of *Cecropia obtusifolia* (Urticaceae) and its importance in the treatment of type 2 diabetes mellitus: A mini-review. *Acta botánica mexicana*, (126), e1361. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1361>.
- Can-Sulu, C. (2015). *Ocimum campechianum* (Lamiaceae): su uso en la medicina tradicional. *Herb CICY7*: 31-34.
- Donadu, Peralta-Ruiz, Y., Usai, D., Maggio, F., Molina-Hernandez, J. B., Rizzo, D., Bussu, F., Rubino, S., Zanetti, S., Paparella, A., & Chaves-Lopez, C. (2021). Colombian Essential Oil of *Ruta graveolens* against Nosocomial Antifungal Resistant Candida Strains. *Journal of Fungi*, 7(5), 383. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof7050383>
- Dunn, C. (2017). Biological and cultural diversity in the context of botanic garden conservation strategies. *Plant Diversity*, 39(6): 396-401. DOI: 10.1016/j.pld.2017.10.003
- Facey P. C., Pascoe K. O., Porter R. B. and Jones A. D. (1999) Investigation of plants used in Jamaican folk medicine for anti-bacterial activity. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. 51, no. 12, pp. 1455–1460, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1211/0022357991777119>
- Ghazanfarpour, M., Mohammadzadeh, F., Shokrollahi, P., Khadivzadeh, T., Najaf Najafi, M., Hajirezade, H., & Afiat, M. (2018). Effect of *Foeniculum vulgare* (fennel) on symptoms of depression and anxiety in postmenopausal women: a double-blind randomised controlled trial. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 38(1), 121-126. DOI:10.1080/01443615.2017.1342229.
- Gogineni, V., Nael, M. A., León, F., Núñez, M. J., & Cutler, S. J. (2019). Computationally aided stereochemical assignment of undescribed bisabolenes from *Calea urticifolia*. *Phytochemistry*, 157, 145-150. DOI: 10.1016/j.phytochem.2018.10.022.
- Gómez, O. C., & Luiz, J. H. H. (2018). Endophytic fungi isolated from medicinal plants: future prospects of bioactive natural products from *Tabebuia/Handroanthus* endophytes. *Applied microbiology and biotechnology*, 102(21), 9105-9119. DOI: 10.1007/s00253-018-9344-3.
- Grace, G., Aloys, O., & Chaka, B. (2020). Characterization of Bio-active Compounds Essential for Blood Coagulation in the Crude Extracts of *Tradescantia zebrina*, *Tagetes minuta* and *Codiaeum variegatum* Leaves. DOI: 10.9734/ajacr/2020/v6i330164.
- Grzeszczuk, M., Salachna, P., & Meller, E. (2018). Changes in photosynthetic pigments, total phenolic content, and antioxidant activity of *Salvia coccinea* Buc'hoz Ex Etl. induced by exogenous salicylic acid and soil salinity. *Molecules*, 23(6), 1296. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules23061296>
- Hasan, H. A.; Raauf, A. M. R.; Razik, B. M. A.; Hassan, A. R. (2012). Chemical composition and antimicrobial activity of the crude extracts isolated from *Zingiber officinale* by different solvents. *Pharmaceut Anal Acta*, New Haven, v. 3, n. 9, p. 1-5. DOI: 10.4172/2153-2435.1000184.
- Hesham Abdelhafez, Omnia, Refaat Fahim, John, Ramadan Abdelmohsen, Usama, & Yehia Desoukey, Samar. (2021). Headspace Volatiles of the Leaves and Flowers of *Malvaviscus arboreus* Cav. (Malvaceae). *Journal of the Mexican Chemical Society*, 65(1), 141-148. Epub 04 de junio de 2021. DOI: <https://doi.org/10.29356/jmcs.v65i1.1431>
- IIS-UNAM. Instituto de Investigaciones Sociales- Universidad Autónoma de México. (2012). Choles. Repositorio Universitario Digital. <http://ru.iis.sociales.unam.mx/jspui/handle/IIS/774>.
- Ikpefan, E. O., Enwa F. O. & Emebrado, O. (2020). Pure, N. J. *Euphorbia graminea* Jacq. (Euphorbiaceae): The antimicrobial assessment of the extract and fractions of the leaves 33:2. DOI: <http://dx.doi.org/10.48198/NJPAS/20.B15>.
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía. (2010). Compendio de información geográfica municipal 2010 Tila, Chiapas. https://www.inegi.org.mx/contenidos/app/mexicocifras/datos_geograficos/07/07096.pdf
- INECOL. Instituto de Ecología, A. C. Lascrain M., Rivera-Núñez T., González C. A., & Medina Garcia M. (2022). ¿Qué significa biocultural?.

- <https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/transparencia-inecol/17-ciencia-hoy/1570-que-significa-biocultural>. (accessed on 24 March 2022)
- Jimenez-Gonzalez, F. J., Vélez-Gómez, J. M., Melchor-Moncada, J. J., Veloza, L. A., & Sepúlveda-Arias, J. C. (2018). Antioxidant, anti-inflammatory, and antiproliferative activity of extracts obtained from *Tabebuia Rosea* (Bertol.) DC. *Pharmacognosy Magazine*, 14(55), 25.
- Lateef, A., Folarin, B. I., Oladejo, S. M., Akinola, P. O., Beukes, L. S., & Gueguim-Kana, E. B. (2018). Characterization, antimicrobial, antioxidant, and anticoagulant activities of silver nanoparticles synthesized from *Petiveria alliacea* L. leaf extract. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 1–7. DOI: doi:10.1080/10826068.2018.1479864
- Li-Wei X, Jang C., Huan-Yang Q., Yan-Ping S. (2011). Chemical constituents from *Tagetes erecta* flowers. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(2), 281–283. DOI:10.1007/s10600-011-9905-5
- Martínez, I. F. (2011). *Revisión taxonómica de la sección Membranaceae del género Salvia en México* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Autónoma de México).
- Maurya, S., & Sangwan, N. S. (2020). Profiling of essential oil constituents in *Ocimum* Species. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 90(3), 577-583. DOI:10.1007/s40011-019-01123-8.
- Mijangos-Ramos, I. F., Zapata-Estrella, H. E., Ruiz-Vargas, J. A., Escalante-Erosa, F., Gómez-Ojeda, N., García-Sosa, K., ... & Peña-Rodríguez, L. M. (2018). Bioactive dicaffeoylquinic acid derivatives from the root extract of *Calea urticifolia*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28, 339-343. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.01.010>.
- Najafian, Y., Hamed, S. S., Kaboli Farshchi, M., & Feyzabadi, Z. (2018). Plantago major in Traditional Persian Medicine and modern phytotherapy: a narrative review. *Electronic Physician*, 10(2), 6390–6399. DOI: 10.19082/6390.
- Nascimento, C. C. H. C., Vasconcelos, S. D., Camacho, A. C. L. F., Nascimento, S. F., Oliveira, J. F. F., Nogueira, R. I., ... & Diré, G. F. (2016). A literature review on the medicinal properties and toxicological profile of *Costus spicatus* plant. *RJLBPCS* 2(2) Page No.56. DOI: 10.26479/2016.0202.07
- Ogidi, O. I., Esie, N. G., & Dike, O. G. (2019). Phytochemical, Proximate and Mineral compositions of *Bryophyllum pinnatum* (Never die) Medicinal plant. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 8(1), 629-635.
- Olazarán-Santibañez, F., Rivera, G., Vanoye-Eligio, V., Mora-Olivo, A., Aguirre-Guzmán, G., Ramírez-Cabrera, M., & Arredondo-Espinoza, E. (2021). Antioxidant and antiproliferative activity of the ethanolic extract of *Equisetum myriochaetum* and molecular docking of its main metabolites (Apigenin, Kaempferol, and Quercetin) on β -Tubulin. *Molecules*, 26(2), 443. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26020443>.
- Osorio, E., Arango, G. J., Jiménez, N., Alzate, F., Ruiz, G., Gutiérrez, D., ... & Robledo, S. (2007). Antiprotozoal and cytotoxic activities *in vitro* of Colombian Annonaceae. *Journal of ethnopharmacology*, 111(3), 630-635. DOI: 10.1016/j.jep.2007.01.015
- Palumbo, A., Casanova, L. M., Corrêa, M. F. P., Da Costa, N. M., Nasciutti, L. E., & Costa, S. S. (2019). Potential therapeutic effects of underground parts of *Kalanchoe gastonis-bonnieri* on benign prostatic hyperplasia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2019, Article ID 6340757, 10 pages, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1155/2019/6340757>.
- Pavić, V., Flačer, D., Jakovljević, M., Molnar, M., & Jokić, S. (2019). Assessment of Total Phenolic Content, *In Vitro* Antioxidant and Antibacterial Activity of *Ruta graveolens* L. Extracts Obtained by Choline Chloride Based Natural Deep Eutectic Solvents. *Plants*, 8(3), 69. DOI: doi:10.3390/plants8030069
- Revilla-Monsalve MC, Andrade-Cetto A, Palomino-Garibay MA, Wiedenfeld H, Islas-Andrade S. (2007). Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extracts on type 2 diabetic patients. *Journal of Ethnopharmacology*, 22;111(3):636-40. doi: 10.1016/j.jep.2007.01.014.

Recibido:
11/enero/2023

Aceptado:
16/junio/2023

- Ria Mariani, Elin Yulinah Sukandar, Asep Gana Suganda (2014). Antimicrobial activity from indonesian urticaceae. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2014, Vol 6, Issue 4, 191-193.
- Saleem, H., Usman, A., Mahomoodally, M. F., & Ahemad, N. (2020). *Bougainvillea glabra* (Choisy): A comprehensive review on botany, traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicity. *Journal of Ethnopharmacology*, 113356. DOI: doi:10.1016/j.jep.2020.113356.
- SEMARNAT. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. (2021). Plantas Medicinales en México. <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/plantas-medicinales-de-mexico?idiom=es>. (accessed on 11 March 2022).
- Singh, Y., Gupta, A., & Kannoja, P. (2020). *Tagetes erecta* (Marigold)-a review on its phytochemical and medicinal properties. *Current Medical and Drug Research*, 4(1), 1-6.
- Siregar, H. M., Purwantoro, R. S., PRAPTIWI, P., & Agusta, A. (2018). Antibacterial potency of simple fractions of ethyl acetate extract of *Begonia baliensis*. *Nusantara Bioscience*, 10(3), 159-163. DOI: <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n100305>.
- Tacchini, M., Echeverria Guevara, M. P., Grandini, A., Maresca, I., Radice, M., Angiolella, L., & Guerrini, A. (2020). *Ocimum campechianum* mill. from Amazonian Ecuador: Chemical Composition and biological activities of extracts and their main constituents (eugenol and rosmarinic acid). *Molecules*, 26(1), 84. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26010084>.
- Toledo, V. M., & Barrera-Bassols, N. 2008. La memoria biocultural: la importancia ecológica de las sabidurías tradicionales. Barcelona: Icaria editorial. pp.61-64 ISBN: 978-84-9888-001-4.
- Tomaszewska-Sowa, M. (2020). *In vitro* clonal propagation and efficient acclimatization with use of hydrogel of intensively sweet medicinal plant *Lippia dulcis* Trev. *Herba Polonica*, 66(4). DOI: <https://doi.org/10.2478/hepo-2020-0019>
- Uchenna, E. F., Adaeze, O. A., & Steve, A. C. (2015). Phytochemical and Antimicrobial Properties of the Aqueous Ethanolic Extract of *Saccharum officinarum* (Sugarcane) Bark. *Journal of Agricultural Science*, 7(10). DOI: <http://dx.doi.org/10.5539/jas.v7n10p291>.
- Umasa, E., & Castro, O. (1990). Chemical constituents of *Verbena littoralis*. *International Journal of Crude Drug Research*, 28(3), 175-176. DOI: <https://doi.org/10.3109/13880209009082807>.
- Unger, C., Popescu, R., Giessrigl, B., Rarova, L., Herbacek, I., Seelinger, M., ... & Krupitza, G. (2012). An apolar extract of *Critonia morifolia* inhibits c-Myc, cyclin D1, Cdc25A, Cdc25B, Cdc25C and Akt and induces apoptosis. *International journal of oncology*, 40(6), 2131-2139. DOI: <https://doi.org/10.3892/ijo.2012.1412>.
- Vestena, A., Piton, Y., de Loretto Bordignon, S. A., Garcia, S., Arbo, M. D., Zuanazzi, J. A., & von Poser, G. (2019). Hepatoprotective activity of *Verbena littoralis*, *Verbena montevidensis* and their main iridoid, brasoside. *Journal of ethnopharmacology*, 239, 111906. DOI: 10.1016/j.jep.2019.111906.
- WHO. World Health Organization. (2013). WHO traditional medicine strategy: 2014-2023. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/92455>
- Wright, C. I., Van-Buren, L., Kroner, C. I., & Koning, M. M. G. (2007). Herbal medicines as diuretics: a review of the scientific evidence. *Journal of ethnopharmacology*, 114(1), 1-31. DOI: 10.1016/j.jep.2007.07.023.
- Zahran, E. M., Abdelmohsen, U. R., Khalil, H. E., Desoukey, S. Y., Fouad, M. A., & Kamel, M. S. (2020). Diversity, phytochemical and medicinal potential of the genus *Ocimum* L. (Lamiaceae). *Phytochemistry Reviews*, 19(4), 907-953. [https://doi.org/10.1007/s11101-020-09690-9\(0123456789](https://doi.org/10.1007/s11101-020-09690-9(0123456789).
- Zavala-Ocampo, L. M., Aguirre-Hernández, E., López-Camacho, P. Y., Cárdenas-Vázquez, R., Dorazco-González, A. and Basurto-Islas, G. (2022). Acetylcholinesterase Inhibition and Antioxidant Activity Properties of *Petiveria alliacea* L. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115239>
- Zubair, M. S., Anam, S., Khumaidi, A., Susanto, Y., Hidayat, M., & Ridhay, A. (2016). Molecular docking approach to identify potential anticancer compounds from *Begonia* (*Begonia* sp). In AIP Conference Proceedings (Vol. 1755, No. 1, p. 080005). Doi: <https://doi.org/10.1063/1.4958513>



Polibotánica

ISSN electrónico: 2395-9525

polibotanica@gmail.com

Instituto Politécnico Nacional

México

<http://www.polibotanica.mx>

ESTUDIO DE PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS EN SAN JOSÉ ITURBIDE, GUANAJUATO, MÉXICO

STUDY OF MEDICINAL PLANTS USED IN SAN JOSE ITURBIDE, GUANAJUATO, MEXICO

Lara-Reimers, Eduardo Alberto; Carlos Omar Hernández-Robledo; Pablo Preciado-Rangel y Oscar Sariñana-Aldaco

ESTUDIO DE PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS EN SAN JOSÉ ITURBIDE, GUANAJUATO, MÉXICO

STUDY OF MEDICINAL PLANTS USED IN SAN JOSE ITURBIDE, GUANAJUATO, MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 265-286 México. Julio 2023

DOI: 10.18387/polibotanica.56.14



Este es un artículo de acceso abierto bajo la licencia Creative Commons 4.0 Atribución-No Comercial ([CC BY-NC 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)).

Estudio de plantas medicinales utilizadas en San José Iturbide, Guanajuato, México

Study of medicinal plants used in San Jose Iturbide, Guanajuato, Mexico

Lara-Reimers, Eduardo
Alberto; Carlos Omar
Hernández-Robledo;
Pablo Preciado-Rangel
y Oscar Sariñana-Aldaco

ESTUDIO DE PLANTAS
MEDICINALES
UTILIZADAS EN SAN JOSÉ
ITURBIDE, GUANAJUATO,
MÉXICO

STUDY OF MEDICINAL
PLANTS USED IN SAN JOSE
ITURBIDE, GUANAJUATO,
MEXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 265-286. Julio 2023

DOI:
10.18387/polibotanica.56.14

**Eduardo Alberto Lara-Reimers
Carlos Omar Hernández-Robledo**

*Departamento Forestal, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro,
Saltillo, Coahuila 25315, México.*

Pablo Preciado-Rangel

*Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Torreón,
Torreón, Coahuila 27170, México.*

Oscar Sariñana-Aldaco / oscarsarinana390@gmail.com

*Departamento de Horticultura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro,
Saltillo, Coahuila 25315, México.*

RESUMEN: Se realizó un estudio de plantas medicinales para recolectar información sobre sus usos en cuatro comunidades importantes del municipio de San José Iturbide, Guanajuato, México. La zona cuenta con numerosas especies medicinales, las cuales son de gran importancia en la región para el tratamiento de diferentes enfermedades. En este estudio se identificaron las plantas actualmente utilizadas, se registraron los conocimientos tradicionales y se documentaron las enfermedades tratadas en la comunidad. A través de encuestas etnobotánicas realizadas con el método “bola de nieve” realizadas a 63 informantes locales, se registró un total de 50 plantas medicinales, pertenecientes a 27 familias botánicas. La familia Lamiaceae fue la que presentó el mayor número de especies descritas por los informantes (nueve especies), seguida de la familia Asteraceae (seis especies). Las especies más mencionadas fueron *Matricaria chamomilla* L. (17 RU), *Mentha spicata* L. (15 RU) y *Eucalyptus globulus* Labill. (9 RU). En general, todas las partes de las plantas se utilizaban para preparar remedios a base de hierbas. Las hojas (57.14%) se utilizan mayoritariamente para hacer remedios herbales, y se preparan principalmente en infusión (69.31%). Las enfermedades tratadas con plantas medicinales según el Índice de Consenso de Informantes fueron enfermedades de la piel ($FCI=0.76$; 4 spp.), del aparato respiratorio ($FCI=0.7$; 13 spp.), del sistema urinario ($FCI=0.68$; 6 spp.), digestivo-gastrointestinal ($FCI=0.68$; 25 spp.), y músculo-esquelético ($FCI=0.65$; 8 spp.). Este estudio indica que los habitantes de las comunidades de El Capulín, San Diego de las Trasquilas, San José Iturbide y La Venta en el municipio de San José Iturbide, Guanajuato, México, recurren al uso de plantas medicinales para tratar ciertas enfermedades específicas, la cual es una estrategia de salud pública que preserva los saberes tradicionales y culturales de los habitantes del municipio.

Palabras clave: Asteraceae, *Matricaria chamomilla* L., plantas medicinales, infusión.

ABSTRACT: A study of medicinal plants was carried out to collect information on their uses in four important communities in the municipality of San José Iturbide, Guanajuato, Mexico. The area has numerous medicinal species, which are of great importance in the region for the treatment of different diseases. In this study, the plants currently used were identified, traditional knowledge was

recorded, and diseases treated in the community were documented. Through ethnobotanical surveys carried out with the "snowball" method conducted on 63 local informants, a total of 50 medicinal plants were registered, belonging to 27 botanical families. The Lamiaceae family was the one that the greatest number of species described by the informants (nine species), followed by Asteraceae family (six species). The most mentioned species were *Matricaria chamomilla* L. (17 UR), *Mentha spicata* L. (15 UR), and *Eucalyptus globulus* Labill. (9 UR). In general, all parts of the plants were used to prepare herbal remedies. The leaves (57.14%) are used mostly to make herbal remedies and prepared mainly by infusion (69.31%). The diseases treated with medicinal plants according to the Informant Consensus Index were diseases of the skin ($FCI=0.76$; 4 spp.), of the respiratory system ($FCI=0.7$; 13 spp.), urinary system ($FCI=0.68$; 6 spp.), digestive-gastrointestinal system ($FCI=0.68$; 25 spp.), and musculoskeletal ($FCI=0.65$; 8 spp.). This study indicates that the inhabitants of the communities of El Capulín, San Diego de las Trasmulas, San José Iturbide and La Venta in the municipality of San José Iturbide, Guanajuato, Mexico, resort to the use of medicinal plants to treat certain specific diseases, which It is a public health strategy that preserves traditional and cultural knowledge by inhabitants of the municipality.

Key words: Asteraceae, *Matricaria chamomilla* L., medicinal plants, infusion.

INTRODUCCIÓN

El uso de plantas medicinales en la medicina tradicional es considerado como el primer recurso estratégico de salud, usado por pobladores de diferentes comunidades alrededor del mundo, para tratar diferentes tipos de dolencias y enfermedades locales (Lara-Reimers *et al.*, 2018). Las plantas se utilizan con fines preventivos o curativos, e incluso asociadas a otros fármacos para disminuir las dosis de los medicamentos prescritos (Boukhatem & Setzer, 2020).

Los estudios desde la etnomedicina o medicina tradicional sobre el uso de las plantas son comunes en las comunidades indígenas o áreas rurales (Lara-Reimers *et al.*, 2018; Gao *et al.*, 2019). En la actualidad se está utilizando a la etnomedicina con fines biotecnológicos, lo cual ha permitido el descubrimiento de diferentes compuestos bioactivos en plantas con beneficios importantes para la nutrición y salud humana (Pamunuwa *et al.*, 2016). La etnomedicina utiliza diferentes órganos de las plantas con contenido de compuestos bioactivos como cortezas, frutos, semillas, bulbos, cáscaras, tallos, raíces, hojas y flores, siendo estas dos últimas las más utilizadas (SEMARNAT, 2021). Se pueden comer directamente, preparar infusiones o aplicar de forma tópica (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2018).

El nivel de conocimiento, uso y adquisición de las plantas medicinales y nuevos productos herbales son influenciados por diversos factores, en algunos casos atribuidos a la edad, género, actividad laboral, nivel económico y acceso a los nuevos sistemas de atención médica (Lara-Reimers *et al.*, 2018; Weckmüller *et al.*, 2019).

La medicina tradicional se caracteriza porque encierra una parte empírica acompañada de una cosmovisión mágico-religiosa, lo cual se sustenta en mitos, ritos y creencias, sin embargo, también se caracteriza por su enfoque en la salud (Chávez Mejía *et al.*, 2017; Buso *et al.*, 2020). La etnomedicina en México es practicada por más de 60 etnias, las cuales usan aproximadamente 5,000 plantas medicinales (Chávez Mejía *et al.*, 2017; Rivero-Segura & Gomez-Verjan, 2021). Usualmente la sabiduría de los usos y remedios herbales de las plantas medicinales son de forma local y cultural, en su mayoría la recolecta de las plantas se lleva a cabo de forma silvestre, y su venta no es controlada ni regulada a nivel local ni nacional (Chávez Mejía *et al.*, 2017; Buso *et al.*, 2020).

México cuenta con una gran riqueza biocultural en el uso de sus recursos fitogenéticos, la cual crea una matiz única en cada estado, región, comunidad y cultura. Guanajuato cuenta con una gran diversidad florística, estimada en una diversidad de 3,206 especies dentro de su estado, donde estudios previos realizados por Hernández-Sandoval *et al.* (2012) y Villaseñor (2016) han registrado el uso de al menos 299 especies con un potencial medicinal. No obstante, los estudios en el estado son escasos o nulos, y no se han realizado estudios específicos. El municipio de San José de Iturbide presenta una posición estratégica debido a su corredor industrial y cercanía con ciudades importantes, resultando en una industrialización acelerada en los últimos años, se ha mejorado las oportunidades de empleo y acceso a la salud pública en las comunidades que conforman el municipio, pero el interés por el conocimiento de su biota local y preservación de sus saberes tradicionales va en decremento en las nuevas generaciones.

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue registrar y documentar el conocimiento tradicional de las plantas medicinales usadas por las familias de las comunidades de El Capulín, San José Iturbide, San Diego de las Trasquilas y La Venta del municipio de San José Iturbide, Guanajuato, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El municipio de San José Iturbide se localiza al noreste del estado de Guanajuato, entre 20°53' y 21°00' de latitud norte, 100°23' y 100°32' de longitud oeste. Cubre un área de 538 km² (Fig. 1). Colinda al norte con San Luis de la Paz y Dr. Mora; al este con Tierra Blanca (Guanajuato); al sur con el Marqués y Querétaro. La altura sobre el nivel del mar es de 2,100 m. Representa el 1.79% (549.7 km²) de la superficie total del estado (Gutiérrez & Solano, 2014).



Fig. 1. Ubicación geográfica en las comunidades estudiadas El Capulín, San José Iturbide, San Diego de las Trasquilas y La Venta.

El clima que prevalece en la región es C (w₀) templado subhúmedo con lluvias en verano, el de menor humedad de los templados, con un cociente P/T < 43.2, un porcentaje de lluvia media anual < 5 y precipitación invernal entre 5 y 10.2%, la temperatura fluctúa entre 14 y 16 °C y la precipitación entre 500 y 600 mm año⁻¹ (Villagómez *et al.*, 2012).

Flora, uso de suelo y actividad económica del área de estudio

La flora del municipio de San José Iturbide está constituida por especies forrajeras como zacatón, falsa grama, triguillo, gramilla, popotillo plateado y lobero. Además, se cuenta con otras especies, como nopal, huisache, mezquite, maguey verde, granjeno, ocotillo, palma china, órgano, sangre de drago, garambullo, capulín, cayotillo, pirul y garaballo (Gutiérrez & Solano, 2014; Villagómez-Loza *et al.*, 2014). Estas especies mencionadas solo son algunas de las representativas, ya que en el 2014 se censaron 661 especies, 361 géneros y 101 familias (Gutiérrez & Solano, 2014; Villagómez-Loza *et al.*, 2014). La mayor parte del área está dedicada a la agricultura, pero existen pequeñas zonas con matorral xerófilo. Hacia el noreste se encuentran un bosque de *Pinus cembroides* y *Quercus*, además de matorrales de *Arctostaphylos pungens* y *Dodonaea viscosa*. El tipo de suelo es Phaeozem háplico, que se caracteriza por una capa superficial suave y rica en materia orgánica y nutrientes, presenta una fase lítica con un lecho rocoso que se ubica a 25 cm de profundidad. Para la zona de estudio el tipo de suelo es Phaeozem, con una profundidad de capa fértil de 31 a 45 cm y de textura migajón arenoso (Villagómez-Loza *et al.*, 2014).

En 2020, la población de San José Iturbide fue de 89,559 habitantes (48.5% hombres y 51.5% mujeres). En comparación a 2010, la población en San José Iturbide creció un 23.7%. La principal actividad económica del municipio según la división ocupacional es el comercio y el trabajo en servicios diversos con un 43.50%, profesionistas, técnicos y administrativos con un 19.13%, trabajadores agropecuarios con un 3.5% y trabajadores en la industria con 33.5% (Gutiérrez & Solano, 2014). La derrama económica industrial solo en 2022 en el municipio se ve favorecida principalmente por ventas internacionales relacionadas con partes y accesorios de vehículos automotores (US\$123M), artículos de plásticos para el transporte (US\$7.7M) y poliamidas en formas primarias (US\$3.7M). A pesar de la acelerada industrialización que se presenta y a una tasa alta de empleos en el sector industrial, San José Iturbide cuenta con una población en estado de pobreza cercana al 50%, esto en parte a un bajo nivel salarial, condición que causa que sus viviendas no cuenten con los servicios básicos, rezagos educativos en la población más joven, problemas con el acceso a los alimentos y a medicamentos, y una carencia para el acceso a la seguridad social y servicios de salud (CONEVAL, 2020; Secretaria de Bienestar, 2022).

Análisis etnobotánico

La colecta de datos se realizó en enero a agosto del año 2021. Los datos fueron obtenidos de 63 informantes en las comunidades del municipio de San José Iturbide, Guanajuato, México, Donde se entrevistó a un jefe de familia (19 hombres y 44 mujeres) en su lugar de residencia, a través de una entrevista y una encuesta etnobotánico semi-estructurada. Se utilizó un enfoque etnobotánico cuantitativo para analizar el uso medicinal de las plantas y seleccionar las especies de mayor uso y recurrencia, usadas por las familias de las comunidades estudiadas en San José Iturbide. El método de muestra que se aplicó para la selección de los encuestados en este estudio fue el no probabilístico, llamado bola de nieve, descrito por Jiménez González *et al.* (2021). El método consiste en localizar a algunos individuos para entrevistar y estos inmediatamente conducen a otros y así sucesivamente hasta conseguir una muestra suficiente. Solo se entrevistaron familias que utilizaran plantas medicinales, posteriormente se pidió su consentimiento para la realización de este estudio, se siguió los protocolos de seguridad ante la contingencia causada por la pandemia del COVID-19 y se tomó en consideración las cuestiones de seguridad en el estado. Las entrevistas consistían en que el representante de la familia respondiera la encuesta con 19 preguntas del entrevistador.

El cuestionario consistió en dos partes. La primer sección se enfocó a reunir las características socioeconómicas y demográficas generales con ocho preguntas

cuantitativas (edad, sexo, actividades de los informantes, si cuentan con servicios médicos, integrantes de la familia, cuantos integrantes recurren al uso de plantas medicinales, tipo y constancia de ingreso) y la segunda parte se enfocó a la obtención de datos sobre el conocimiento etnobotánicos y el uso de las plantas en la medicina tradicional local con 11 preguntas cualitativas (obtención del conocimiento, razón de uso de las plantas, nombre local de las plantas medicinales, uso medicinal, parte de la planta usada, métodos de preparación, dosificación, recomendaciones, entre otras).

Para la identificación de las especies medicinales mencionadas se recolectaron muestras de las especies usadas en campo, traspatio y zonas aledañas. Las muestras fueron secadas, prensadas e identificadas taxonómicamente en el herbario de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Los nombres botánicos de las especies se verificaron en las Bibliotecas Digitales de la Medicina Tradicional Mexicana y The Plant List.

La información sobre los reportes de uso (*RU*) para tratar los problemas de salud se agrupó en 10 categorías de enfermedades basadas en la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas de Salud, de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2020). Finalmente, se estimaron dos índices etnomedicinales para mostrar la importancia cultural mediante el índice de valor de uso (*IVU*) y la concordancia entre las plantas y tratamientos usados para una enfermedad en particular con el Factor de Consenso del Informante (*FCI*) (Ferreira *et al.*, 2009; Zambrano-Intriago *et al.*, 2015).

Con base en los resultados obtenidos por los informantes de las comunidades estudiadas, todas las dolencias reportadas fueron categorizadas por enfermedad. La estructura básica de la información etnobotánica es el reporte de uso (*RU*) y esto puede considerarse como un informe individual de un taxón o droga específica para una determinada categoría de uso específico (Heinrich *et al.*, 1998; Gazzaneo *et al.*, 2005). Cuando una planta se menciona como "usada", se considera como un "reporte de uso", pero si un informante menciona la misma planta para tratar más enfermedades en la misma categoría, se considera como un reporte de uso único, por lo que una planta puede tener varios reportes de uso y ser usada en diferentes categorías de enfermedad (Pawera *et al.*, 2016; Lara-Reimers *et al.*, 2018; Umair *et al.*, 2019).

Índice de valor de uso (*IVU*)

Este índice se utiliza para calcular la importancia de una especie determinada para todos los informantes (Zambrano-Intriago *et al.*, 2015). La fórmula se expresa como:

$$IVUs = \frac{\sum iVUis}{Ns}$$

Donde: *VUis* = valor de uso de la especie por cada informante y *Ns* = es el número de informantes para cada especie.

Factor de consenso de los informantes (*FCI*)

En este estudio, el nivel de homogeneidad entre las informaciones recogidas de diversos informantes para especies vegetales en el tratamiento de enfermedades particulares fue calculado por el factor de consenso de informantes (*FCI*). Se estimó utilizando la siguiente fórmula:

$$FCI = \frac{Nur - Nt}{Nur - 1}$$

Donde Nur es el número de RU en cada categoría de enfermedad y Nt es el número de especies utilizadas. Los valores bajos de FCI sugieren que la planta se usa al azar, o que la información sobre su uso no se intercambia entre los informantes, mientras que se informa un alto intercambio de información y un criterio de selección bien definido en la comunidad para una planta con valores altos del FCI (Ferreira *et al.*, 2009).

RESULTADOS

Datos socioeconómicos de los informantes y descripción de plantas

Se obtuvieron datos de 63 informantes (jefes de familia) que fueron representados por 19 hombres y 44 mujeres, quienes contestaron la encuesta etnobotánica con edades de 20 a 70 años (Tabla 1). De acuerdo con el género, los hombres registraron 6.47 ± 2.63 plantas descritas en promedio, en comparación con las de mujeres con 5.25 ± 2.26 plantas en promedio. Los informantes que tenían entre 51-60 y 61-70 años tuvieron un conocimiento más amplio sobre plantas medicinales, con 9.5 ± 1.29 y 8.4 ± 1.14 plantas en promedio, respectivamente. Referente a la ubicación de residencia, el 49.2% de la población pertenecen a zonas rurales y el 50.8% a la zona urbana, presentando registros de 5.94 ± 1.44 y 5.34 ± 2.01 plantas mencionadas en promedio, respectivamente. El 39.68% de la población no cuentan con acceso a servicios médicos, mientras que el 60.31% están asegurados y muestran un promedio de plantas mencionadas de 6.76 ± 1.99 y 4.86 ± 2.34 , respectivamente. Las principales actividades económicas de los encuestados fueron el comercio (40%), la agricultura (32%) e industria (29%). Los informantes manifestaron que el ingreso era muy variado y por lo general dependía de trabajos temporales, apoyándose mucho en remesas. El 54% de los informantes manifestaron que el conocimiento y uso de plantas medicinales viene por tradición familiar y el 29% conoce de plantas debido al mercado. El 74.6% de las familias hace uso de las plantas medicinales en primera instancia antes de recurrir al médico. La obtención de las plantas proviene en su mayoría del mercado (50%), recolección silvestre (40%) y cultivo de traspatio (10%).

Tabla 1. Demografía y antecedentes de los informantes de San José Iturbide Guanajuato.

Variable demográfica	Categoría demográfica	Número de informantes	%	Promedio de plantas mencionadas
Género	Hombre	19	30.15	6.47 ± 2.63
	Mujer	44	69.84	5.25 ± 2.26
Edad	20-30	35	55.55	4.03 ± 1.42
	31-40	12	19.04	6.91 ± 1.72
	41-50	6	9.52	7.83 ± 1.60
	51-60	5	7.93	9.50 ± 1.29
	61-70	5	7.93	8.40 ± 1.14
Ubicación de la residencia	Rural	31	49.20	5.94 ± 1.44
	Urbana	32	50.79	5.34 ± 2.01
Seguro social	Asegurado	38	60.31	4.86 ± 2.34
	No asegurado	25	39.68	6.76 ± 1.99

Partes utilizadas y modos de preparación de las plantas medicinales

Los informantes reconocieron 50 especies de plantas con fines medicinales pertenecientes a 48 géneros y 27 familias (Tabla 2), que fueron utilizadas por la mayoría de las informantes para el tratamiento 43 enfermedades distribuidas en 10 categorías de enfermedades. Las familias de plantas más utilizadas fueron Lamiaceae (nueve especies), Astereceae (seis especies) y Fabaceae y Rutaceae (tres especies). Las especies pertenecientes a la familia Lamiaceae fueron: *Lavandula angustifolia* Mil., *Mentha spicata* L., *Plectranthus tomentosus* Benth., *Salvia rosmarinus* Schleid., *Thymus vulgaris* L., *Mentha arvensis* L., *Mentha pulegium* L., *Origanum vulgare* L. y *Marrubium vulgare* L.

Tabla 2. Familias, partes utilizadas y modos de preparación de las plantas medicinales del área de estudio.

Familia	Nombre científico	Nombre común	Parte utilizada	Enfermedad	Modo de preparación	Estado del material vegetal	*RU	**RU	***IVU
Fabaceae	<i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ortega) Sarg.	Palo azul	Hojas y tallo	Problemas de riñón	Infusión	Fresco y seco	3	4	0.063
				Diabetes	Infusión	Fresco y seco	1		
Fabaceae	<i>Cassia fistula</i> L.	Hojasen	Hojas	Problemas gastrointestinales	Infusión	Fresco	3	3	0.047
Fabaceae	<i>Dalea bicolor</i> Willd.	Escoba de chivo	Hojas	Diarrea	Infusión	Fresco y seco	4	4	0.063
Lamiaceae	<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	Lavanda	Flor	Quemaduras	Macerado	Fresco y seco	2	3	0.047
				Reumatismo	Emplasto y baño	Seco	1		
Lamiaceae	<i>Mentha spicata</i> L.	Hierbabuena	Hojas	Analgésico	Infusión	Seco	3	15	0.238
				Antiinflamatorio	Cataplasma	Fresco	4		
			Toda la planta	Gripe	Infusión	Fresco	3		
				Dolor de estómago	Infusión	Fresco	5		
Lamiaceae	<i>Plectranthus tomentosa</i> Benth.	Vaporud	Hojas	Gripe	Infusión	Fresco	1	5	0.079
				Gripe	Machacado	Fresco	4		
Lamiaceae	<i>Salvia rosmarinus</i> Schleid.	Romero	Hojas y tallo	Dolor de estómago	Infusión	Fresco y seco	6	8	0.126
				Cólicos	Infusión	Fresco y seco	2		
Lamiaceae	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Tomillo	Hojas	Debilidad corporal	Machacado	Fresco y seco	1	4	0.063
				Dolor de estómago	Infusión	Fresco y seco	3		
Lamiaceae	<i>Mentha arvensis</i> L.	Menta	Hojas	Dolor de muela	Infusión	Fresco	4	4	0.063
Lamiaceae	<i>Mentha pulegium</i> L.	Poleo	Hojas	Problemas gastrointestinales	Infusión	Fresco y seco	2	4	0.063
				Dolor de cabeza	Infusión	Fresco y seco	2		
Lamiaceae	<i>Origanum vulgare</i> L.	Orégano	Hojas	Problemas respiratorios	Infusión con miel	Fresco y seco	6	6	0.095
Lamiaceae	<i>Marrubium vulgare</i> L.	Marrubio	Hojas	Colerético	Infusión	Seco	3	6	0.095
				Antidiarreico	Infusión	Seco	3		
Asphodelaceae	<i>Aloe vera</i> (L) Burm.f.	Sábila	Hojas	Acné	Exprimido	Fresco	3	8	0.126

				Dolor de estomago	Machacado	Fresco	1		
				Quemaduras	Exprimido	Fresco	4		
Asteraceae	<i>Matricaria chamomilla</i> L.	Manzanilla	Toda la planta	Dolor de estómago	Infusión	Seco	9	17	0.269
				Fiebre	Infusión	Fresco	6		
				Cólicos	Infusión	Fresco	2		
Asteraceae	<i>Tithonia diversifolia</i> (Hemsl.) A.Gray	Árnica	Hojas	Dolores musculares	Baño	Fresco y seco	7	7	0.111
Asteraceae	<i>Artemisia absinthium</i> L.	Ajenjo	Hojas	Problemas gastrointestinales	Infusión	Fresco y seco	4	4	0.063
Asteraceae	<i>Heliopsis longipes</i> (A. Garay)	Chilcuague	Raíz	Dolor de muelas	Masticado	Fresco	3	5	0.079
				Parásitos	Masticado	Fresco	2		
Asteraceae	<i>Laennecia filaginoides</i> DC.	Simonillo	Hojas	Problemas gastrointestinales	Infusión	Fresco y seco	4	4	0.063
Asteraceae	<i>Gutierrezia sarothrae</i> (Pursh) Britton & Rusby	San Nicolas	Hojas y tallo	Fiebre	Infusión	Seco	3	3	0.047
Lauraceae	<i>Cinnamomum verum</i> J. Presl	Canela	Tallo	Tos	Infusión	Seco	3	3	0.047
Lauraceae	<i>Laurus nobilis</i> L.	Laurel	Hojas	Dolor de estómago	Infusión	Fresco y seco	1	6	0.095
				Fiebre	Infusión	Fresco y seco	1		
				Resfríos	Infusión	Fresco y seco	1		
				Dolor de cabeza	Machacado	Fresco	2		
				Problemas respiratorios	Infusión	Seco	1		
Rutaceae	<i>Ruta graveolens</i> L.	Ruda	Hojas y tallo	Dolor de estómago	Infusión	Fresco	6	8	0.126
			Hojas y tallo	Presión baja	Infusión	Fresco	1		
			Hojas, flor y tallo	Dolor de menstruación y dolor de senos	Infusión	Fresco	1		
Rutaceae	<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	Limón	Hojas y fruto	Problemas respiratorios	Infusión con miel	Fresco	6	6	0.095
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Naranja	Hojas	Fiebre	Infusión	Fresco	6	6	0.095

Amaranthaceae	<i>Dysphania ambrosioides</i> (L.)	Epazote	Toda la planta	Diarrea	Infusión	Fresco	1	5	0.079
			Toda la planta	Desparasitar	Infusión	Fresco	1		
			Hojas	Dolor de muela	Masticado	Fresco	2		
			Hojas	Dolor de estómago	Infusión	Fresco	1		
Euphorbiaceae	<i>Jatropha dioica</i> Sessé	Sangre de drago	Tallo	Caspa	Exprimido	Fresco	1	5	0.079
				Ulceras bucales	Exprimido	Fresco	4		
Euphorbiaceae	<i>Tragia nepetifolia</i> Cav.	Ortiguilla	Hojas	Problemas de riñón	Infusión	Fresco	2	3	0.047
			Toda la planta	Reumatismo	Ramas en alcohol	Fresco	1		
Euphorbiaceae	<i>Euphorbia hypericifolia</i> L.	Flor de la golondrina	Hojas y tallo	Hemorroides	Infusión	Seco	3	3	0.047
Myrtaceae	<i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	Eucalipto	Hojas	Gripe	Infusión	Fresco	9	9	0.142
Myrtaceae	<i>Syzygium aromaticum</i> (L.)	Clavo	Fruto	Dolor de estómago	Infusión con jengibre y canela	Seco	3	3	0.047
Zygophyllaceae	<i>Tribulus terrestris</i> L.	Abrojo	Hojas y tallo	Analgésico	Macerado	Fresco	1	2	0.031
			Hojas	Diurético	Infusión	Seco	1		
Zygophyllaceae	<i>Larrea tridentata</i> (Sessé & Moc. ex DC.) Coville	Gobernadora	Hojas	Piedras en riñones	Infusión	Fresco y seco	3	4	0.063
				Infección urinaria	Infusión	Fresco y seco	1		
Onagraceae	<i>Epilobium hirsutum</i> L.	Hierba de San Antonio	Hojas	Problemas gastrointestinales	Infusión	Fresco y seco	3	3	0.047
Hypericaceae	<i>Hypericum perforatum</i> L.	Hierba de San Juan	Flores y hojas	Quemaduras	Macerado	Fresco	5	5	0.079
Valerianaceae	<i>Valeriana officinalis</i> L.	Valeriana	Raíz	Ansiedad	Infusión	Fresco	4	4	0.063
Malvaceae	<i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	Tilia	Hojas	Fiebre	Infusión	Fresco	3	7	0.111
				Resfríos	Infusión	Fresco	3		
				Ansiedad	Infusión	Fresco	1		
Moraceae	<i>Ficus carica</i> L.	Higo	Hojas	Hipertensión	Infusión	Fresco	1	2	0.031
				Diabetes	Infusión	Fresco	1		

Apiaceae	<i>Eryngium carlinae</i> F. Delaroche	Hierba de sapo	Hojas y tallo	Piedras en riñones	Infusión	Fresco	5	5	0.079
Verbenaceae	<i>Aloysia citrodora</i> Loes. & Moldenke	Cedrón	Hojas	Problemas gastrointestinales	Infusión	Fresco	2	5	0.079
				Fiebre	Infusión	Fresco	1		
				Ansiedad	Infusión	Fresco	1		
Liliaceae	<i>Allium sativum</i> L.	Ajo	Bulbos	Problemas respiratorios	Infusión con miel	Fresco	1	4	0.063
				Parásitos intestinales	Infusión con miel	Fresco	3		
Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i> L.	Cúrcuma	Raíz	Inflamación	Masticado	Fresco	1	1	0.015
Convolvulaceae	<i>Dichondra argentea</i> Humb. & Bonlp. ex Willd	Oreja de ratón	Hojas	Trastornos intestinales	Masticado	Seco	2	3	0.047
			Raíz	Acelerar parto	Masticado	Seco	1		
Solanaceae	<i>Solanum hindsianum</i> Benth.	Mariola	Hojas	Diarrea	Infusión	Fresco	4	4	0.063
Onagraceae	<i>Oenothera rosea</i> L'Hér. ex Aiton	Hierba del golpe	Hojas y tallo	Desinflamar golpes	Cataplasma	Fresco	4	4	0.063
Scrophulariaceae	<i>Verbascum thapsus</i> L.	Gordolobo	Flores	Problemas respiratorios	Infusión	Seco	3	3	0.047
Vitaceae	<i>Vitis labrusca</i> L.	Hoja de uva	Hojas	Diarrea	Infusión	Fresco	1	1	0.015
Nyctaginaceae	<i>Bougainvillea spectabilis</i> Willd.	Buganvilia	Flores	Problemas respiratorios	Infusión	Fresco y seco	1	1	0.095
	<i>Urtica dioica</i> L.	Ortiga	Hojas y tallo	Reumatismo	Baño	Fresco	3	5	
				Artritis	Baño	Fresco	2		
Equisetaceae	<i>Equisetum arvense</i> L.	Cola de caballo	Tallo	Problemas de riñón	Infusión	Fresco	4	4	0.063
Cannabaceae	<i>Cannabis sativa</i> L.	Marihuana	Hojas, tallo, flor y raíz	Reumatismo	Emplasto	Seco	4	8	0.126
				Ansiedad	Quemado	Seco	1		
				Desinflamar golpes	Tintura	Seco	3		

*RU: Reporte de uso; **RU: Reporte de uso por planta; IVU: Índice de valor de uso.

El resto de las 27 familias tenían dos y una especie reportadas. Las partes de la planta que se utilizan más comúnmente por los informantes son las hojas con 57.14%, seguidas por tallos, flor, planta completa, raíz y bulbos y fruto (Fig. 2).

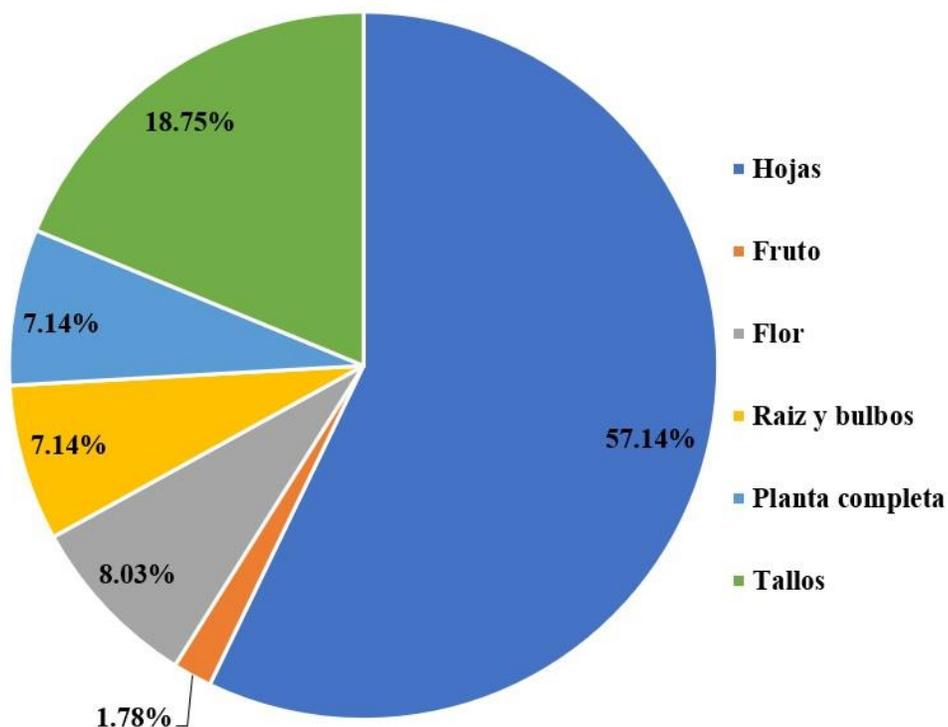


Fig. 2. Partes usadas de las plantas para la elaboración de remedios medicinales.

Se registraron 10 métodos diferentes para la preparación de los remedios herbales por los informantes (Fig. 3). El principal método utilizado fue infusión con 69.31%, seguido por emplasto, baño, machacado, exprimido y masticado con 4.54%. El resto de los métodos presentaron porcentajes menores. En la Tabla 2 se puede apreciar que el uso de las plantas medicinales en su mayoría es en fresco (40 especies pertenecientes a 25 familias).

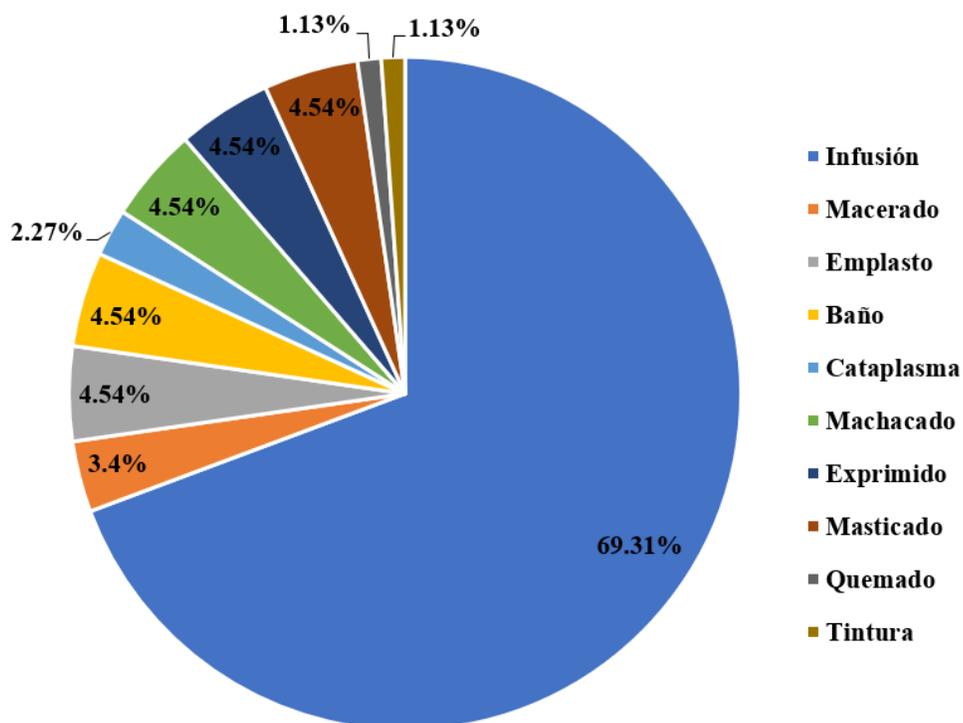


Fig. 3. Modo de preparación de los remedios medicinales.

De acuerdo con los informantes la infusión es utilizada para tratar enfermedades del sistema digestivo y gastrointestinales (dolor de estómago, diarrea, cólicos, hemorroides, etc.), enfermedades crónico degenerativas (diabetes), enfermedades del sistema urinario (problemas del riñón), enfermedades del sistema respiratorio (gripe, tos, resfríos, etc.), enfermedades del sistema cardiovascular (hipertensión), enfermedades del sistema reproductivo (cólicos menstruales y dolor de senos), enfermedades del sistema nervioso (ansiedad) y padecimientos generales (dolor de muela y cabeza). La infusión fue mencionada para 39 especies pertenecientes a 21 familias.

Factor de consenso del informante (FCI)

De acuerdo con los resultados de las encuestas, las comunidades estudiadas contaban con una variedad significativa de usos tradicionales, con un marco específico de enfermedades. Todas las enfermedades fueron agrupadas en 10 categorías de uso (Tabla 3) con base en las informaciones recogidas de los informantes.

Tabla 3. Enfermedades, informes de uso y factor de consenso de los informantes.

No.	Categoría de enfermedades	Enfermedad	<i>FCI</i>	No. de especies mencionadas	No. de reportes de uso	% <i>RU</i>
1	Enfermedades del sistema reproductivo	Próstata, cólicos menstruales y dolor de senos	0.5	2	3	1.36
2	Enfermedades del sistema respiratorio	Gripe, tos, resfrios, bronquitis y dolor de garganta	0.7	13	42	19.1
3	Enfermedades del sistema digestivo y gastrointestinal	Dolor de estómago, diarrea, cólicos, hemorroides, colitis, úlceras gástricas, fiebre tifoidea y gases intestinales	0.68	25	76	34.54
4	Enfermedades del sistema cardiovascular	Colesterol, mala circulación sanguínea, presión baja, hipertensión arterial e inflamación de pies	0	2	2	0.9
5	Enfermedades crónicas degenerativas	Diabetes	0	2	2	0.9
6	Enfermedades del sistema músculo esquelético	Reumatismo, golpes y dolor de músculos	0.65	8	21	9.54
7	Síntomas o padecimientos generales	Debilidad corporal, dolor de muela, fiebre, problemas oculares, dolor de cabeza, dolor de oído, problemas de visión, fuerza corporal y encías débiles	0.64	13	35	15.9
8	Enfermedades del sistema nervioso	Ansiedad e insomnio	0.5	4	7	3.18
9	Enfermedades del sistema urinario	Problemas de las vías urinarias y problemas del riñón	0.68	6	17	7.72
10	Enfermedades de la piel	Quemaduras, acné, granos en la piel, afta en la lengua, heridas en la piel	0.76	4	14	6.36

FCI: Factor de consenso de los informantes; *RU*: Reporte de Uso.

El *FCI* se calculó para cada categoría de enfermedad (Tabla 3), y el valor más alto fue para enfermedades de la piel con *FCI* de 0.76 con cuatro especies mencionadas y con 14 reportes de uso (% *RU* = 6.36). Las enfermedades de la piel que representan a esta categoría son quemaduras, acné, granos, aftas en la lengua y heridas en la piel. Las enfermedades del sistema respiratorio (gripe, tos, resfrios, bronquitis y dolor de garganta) presentaron un *FCI* de 0.7 con 13 especies mencionadas y 42 reportes de uso (19.1%). Las enfermedades del sistema cardiovascular y crónico degenerativas presentaron valores de 0 para *FCI*.

La especie más mencionada fue *Matricaria chamomilla* L., perteneciente a la familia Asteraceae, la cual se utiliza para tratar el dolor de estómago, fiebre y cólicos. Esta especie presentó un *RU* de 17 (Tabla 2). Seguimiento de la *Mentha spicata* L. con 17 *RU* con una mayor diversificación de usos para dolor de estómago, inflamatorio, analgésico y gripe. Solo la Familia de las Rutaceae obtuvo un total de 20 UR perteneciente a tres especies que fueron *Ruta graveolens* L., *Citrus limon* (L.) y *Citrus sinensis* (L.) para tratar problemas relacionados con la fiebre, dolor de estómago, cólicos y presión baja. Para problemas de quemaduras en la piel encontramos 11 *RU* distribuidos en *Lavandula angustifolia* Mill., *Aloe vera* (L.) Burm.f. e *Hypericum perforatum* L.

Se mencionó 81 veces a las 27 familias botánicas, y la familia más mencionada fue Lamiaceae con 15 menciones (15 afecciones). Dentro de esas 15 menciones, cinco son para enfermedades del sistema digestivo y gastrointestinal, tres para enfermedades del sistema respiratorio, tres para síntomas o padecimientos generales, dos para enfermedades del sistema músculo-esquelético, una para enfermedades del sistema reproductivo y una para enfermedades de la piel. La familia Asteraceae fue mencionada ocho veces (ocho afecciones), distribuida en tres categorías de enfermedades (Fig. 4).

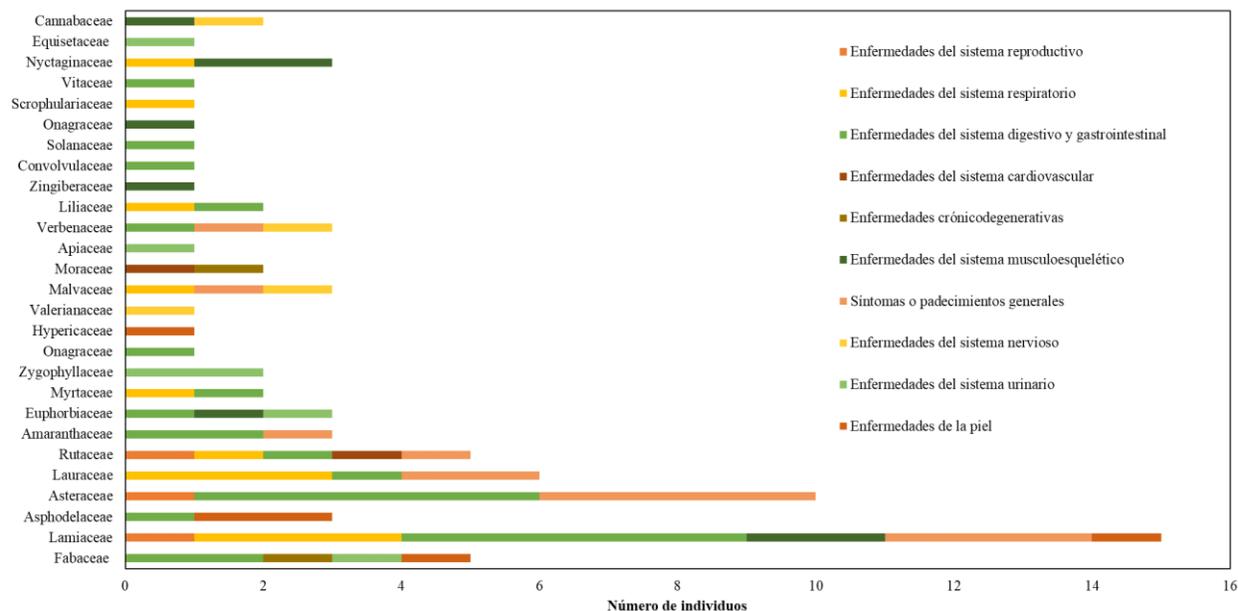


Fig. 4. Mención de las plantas medicinales por familia botánica y categoría de enfermedad.

DISCUSIÓN

Características de los informantes

De acuerdo con la mayoría de las investigaciones, es más común que las mujeres cuenten con mayor conocimiento sobre plantas, esto por su rol en la familia (Nunkoo & Mahomoodally, 2012; Lara Reimers *et al.*, 2018), sin embargo, en la presente investigación, y de acuerdo a la prueba t de Student ($\alpha = 0.10$) con p-valor de 0.06 se comprobó que los hombres tienen más conocimiento que las mujeres, a pesar de que la mayoría de los informantes eran mujeres.

A diferencia de las investigaciones realizadas por Nunkoo & Mahomoodally (2012) y Lara Reimers *et al.*, (2018), encontraron una mayor mención de plantas por el género femenino, relacionando esta diferencia por el rol que desempeñaban las mujeres. Sin embargo, en la presente investigación, los hombres mencionaron ligeramente una planta más en promedio que las mujeres. No existe un contraste definitivo, y esto podría cambiar si se homogenizara la muestra masculina muestreada y aumentáramos el tamaño de muestra en el género. En diferentes estudios se ha puesto en relieve que las mujeres tienen más conocimiento sobre algunas plantas con un uso en específico, usualmente bajo un contexto histórico hacia las plantas con uso medicinal y alimenticio, y los hombres más sobre plantas artesanales y madereras, que no obstante, los roles en ambos géneros han cambiado y adaptado a la profesión de las personas a nivel local o regional y no un género en específico, modo de vida y actividad dentro de las mismas comunidades, manifestando el no poder etiquetar de forma tangente un perfil de conocimiento (Lara-Reimers *et al.*, 2018; Alberti-Manzanarres, 2006).

Discutiblemente, el conocimiento tradicional se moldeará a cubrir las necesidades y problemas locales y presentes en una misma comunidad. Cuando el problema sea más evidente, estos conocimientos se expandirán a manera de prueba, error y concordancia entre los mismos usuarios que prueban los remedios tradicionales en busca de resolver sus problemas o afecciones y moldeará el conocimiento hacia el uso de las especies con tratamientos con mayores resultados por los usuarios.

Case *et al.* (2005) mencionan que el conocimiento de las plantas medicinales aumenta con el aislamiento geográfico y que la gente utiliza más especies medicinales debido a la falta de centros de salud y medicamentos. Otros estudios indican que el uso de estas plantas se correlaciona con la gente que tiene pocas facilidades económicas (Ceuterick *et al.*, 2008). De acuerdo con la Secretaría de Bienestar (2022) en el municipio de San José de Iturbide la población que se encuentra en pobreza es cercana al 50%, y esta situación limita a la población a los accesos alimenticios y de salud, los cuales desencadenan las enfermedades descritas anteriormente, y por ende el uso de plantas medicinales es mayor.

Es importante mencionar que, en México, la adquisición del conocimiento sobre el uso de plantas medicinales se transmite de generación en generación, gracias a la familia o chamanes que utilizan las plantas con fines medicinales o mágico-religiosos (Lara-Reimers *et al.*, 2018). Concordando así con lo manifestado por el 54% de los informantes que siguen el uso de las plantas por pura tradición familiar y una recurrencia de uso de plantas medicinales del 74.6%.

Partes utilizadas y modos de preparación de las plantas medicinales

Las familias más utilizadas por los informantes fueron Lamiaceae (nueve especies) y Astereceae (seis especies). Estas familias son representativas y abundantes de la región de Guanajuato, México y son familias con una gran diversidad de especies con potencial terapéutico (Martínez-Cruz & Téllez-Valdés, 2004). Las partes de las plantas generalmente se consumen frescas, siendo las hojas las más utilizadas. La razón principal por la que las usan en fresco es porque de esta manera se conservan la mayoría de los compuestos bioactivos de las plantas y así tienen un mejor efecto curativo (Siew *et al.*, 2014). Ahora la razón del porque utilizar en mayor medida las hojas es porque es el órgano en el que se encuentra la mayor concentración de compuestos bioactivos, su facilidad de recolección, transporte y manejo a lo largo del año (Ayyanar & Ignacimuthu, 2011; Kashyap *et al.*, 2022). Esto se ve reflejado en lo encontrado por este estudio, donde las familias preparan sus remedios herbales (57.14%) principalmente con hojas que ellos mismos recolectan o compran en el mercado, y que preparan y consumen por infusión en un 69.31% de los casos.

El uso de estas plantas puede ser de una sola especie o mezclas de diferentes especies, aunado a esto se pueden usar a la par de los medicamentos, lo cual se convierte en un método habitual para que las personas obtengan mejores resultados, ahorren dinero y se reduzcan los efectos secundarios de los medicamentos (Picking *et al.*, 2011). Al hacer este tipo de mezclas entre diferentes especies de plantas medicinales se incrementa la gama de compuestos bioactivos, sin embargo, esto puede modificar su efecto, ya sea que el efecto curativo sea mejor o se reduzca (Aniya *et al.*, 2020). Con base en lo mencionado por los informantes, se manifestó que el uso y dosificación de los remedios herbales depende de cada persona y la cantidad de preparación no está especificada, utilizando medidas no representativas expresadas como: puñito, ramita y manojo. La constancia de uso depende de la afección y forma de uso/aplicación que, en el caso de las ingeridas, no continuar con sus usos diarios y consecutivos por más de 3 o 5 días, y reposar un periodo de tiempo al momento de ver efectos secundarios. No se recomendó el uso combinado de plantas, solo se recomendó especialmente no abusar de aquellas usadas para cuestiones de diarrea y desparasitantes.

La medicina tradicional y la medicina convencional suelen entrar en conflicto, ya que, para muchas personas, los doctores que practican la medicina convencional utilizan medicamentos invasivos y hay quienes mencionan que la medicina tradicional es ineficaz, insegura y no está

probada científicamente (Kasole *et al.*, 2019; Weaver *et al.*, 2020). En este sentido ambos tienen razón, ya que, ninguna medicina causa tantos efectos secundarios como la convencional, pero también es verdad que es la que mejores resultados tiene (Weaver *et al.*, 2020). Ahora, son pocos los profesionales que proponen tratamientos colectivos, es decir, usar ambas medicinas para complementar y ayudar a romper el ciclo de los medicamentos y la enfermedad (Nugraha *et al.*, 2020). El 62% de los informantes utiliza multitratamiento (medicamentos y remedios herbales) para tratar enfermedades relacionadas principalmente a la gripe, resfrios, dolor de estómago, cólicas, quemaduras, y diabetes.

Factor de consenso del informante (FCI)

De acuerdo con la categorización las enfermedades que presentaron un mayor *FCI* fueron enfermedades de la piel (*FCI*=0.76; 4 spp.; 14 *RU*), enfermedades del sistema respiratorio (*FCI*=0.7; 13 spp.; 42 *RU*), enfermedades del sistema digestivo y gastrointestinal (*FCI*=0.68; 25 spp.; 76 *RU*) y enfermedades del sistema urinario (*FCI*=0.68; 6 spp.; 17 *RU*). Esta información exhibe la concordancia en los usos más recurrentes que los informantes tienen para el uso de las plantas y las afecciones que tratan, donde se puede contrastar que enfermedades de la piel, podrían ser un tema para tratar muy recurrente en las comunidades. Las enfermedades del sistema respiratorio y digestivo así mismo tratan un tema importante con los cambios de temperatura y la preservación de alimentos, junto con su posible manejo e inocuidad. Estas dos últimas categorías se posicionan en las principales afecciones que se presentan a lo largo de las comunidades en el país y que han tenido el mismo objeto de estudio. Por ejemplo Lara-Reimers *et al.* (2018) registraron los problemas del sistema reproductivo como principal problema en las comunidades Tzotziles de Chiapas con un *FCI* de 0.80, con solo tres especies mencionadas y 11 reportes de uso, y los problemas respiratorios en segundo lugar con un *FCI* de 0.75 con 15 especies mencionadas y 56 reportes de uso, y en tercer lugar a los problemas digestivos con un *FCI* de 0.70 con 30 especies mencionadas y 98 reportes de uso, y los problemas de la piel se encontraron en un nivel muy inferior, representado por un *FCI* de 0.30 con ocho especies y solo 11 reporte de usos. Es importante recalcar que existen diferentes factores para que se den estas enfermedades. Dichos factores son las condiciones ambientales y la pobreza que ocasiona desnutrición en los habitantes (Alonso-Castro *et al.*, 2017), la alimentación, clima, trabajo y problemas circunstanciales o genéticos. La clasificación *FCI* refleja la coincidencia de conocimiento y uso de las especies, esto para tratar enfermedades en específico. De acuerdo con esto Faruque *et al.* (2018) encontraron valores altos de *FCI* para afecciones gástricas (0.77), parásitos (0.76) y enfermedades del sistema respiratorio (0.65). Esto probablemente se debe a las condiciones de pobreza y la falta de condiciones sanitarias en las que se encuentran algunos habitantes de en San José Iturbide (Secretaría de Bienestar, 2022).

La especie más utilizada fue *Matricaria chamomilla* L., comúnmente conocida como manzanilla. Esta es una planta herbácea de la cual se utilizan todos los órganos para su consumo medicinal (Vara-Delgado *et al.*, 2019). Los informantes utilizan la manzanilla para tratar diferentes dolencias como dolor de estómago, fiebre y cólicos. Dentro de los componentes de esta planta se encuentran el azuleno, alfa bisabolol, ácido cafeico, ácido tánico, ácido ascórbico, carotenos y flavonoides (Vara-Delgado *et al.*, 2019; Žlabur *et al.*, 2020). Se ha sugerido que el azuleno es la principal biomolécula responsable de sus efectos medicinales (Vara-Delgado *et al.*, 2019). El uso de esta planta solo fue reportado para infusiones. Esta especie cuenta con una importancia cultural en San José Iturbide y diferentes partes del mundo, ya que su uso está registrado en culturas ancestrales como remedio para cualquier afección (Marković *et al.*, 2020). La especie *Cannabis sativa* L., comúnmente conocida como marihuana fue descrita por los informantes en menor medida, sin embargo, se menciona para usos de reumatismo, ansiedad, desinflamación de golpes, y que, aunque es una especie ilegal en el país, muchas personas recurren a su uso medicinal. Esta planta a nivel mundial cuenta con un uso terapéutico para el tratamiento de algunas enfermedades como glaucoma, artritis, cáncer, epilepsia, esclerosis, enfermedades de transmisión sexual y asma (Odieka *et al.*, 2022). En este estudio sus hojas, tallos, flores y raíz son utilizadas para tratar problemas como reumatismo (emplasto), ansiedad (quemado) y desinflamar golpes (tintura). Esto nos habla de las propiedades que tiene

esta especie en el ámbito medicinal. Sus principales moléculas activas con beneficio para la salud son el delta-9-tetrahidrocannabinol (THC) y cannabidiol (CBD) (Spindle *et al.*, 2019). El orégano (*Origanum vulgare* L.) fue reportado como especie para tratar problemas respiratorios mediante infusión con miel, sin embargo, esta especie es más conocida por su uso como especia en la gastronomía mexicana local. Esto nos habla de la diversidad de usos que puede tener esta especie, siendo los compuestos fenólicos, alcaloides y terpenos las biomoléculas que se encuentran en mayor concentración (Cortés-Chitala *et al.*, 2021). De la misma manera, *Dalea bicolor* Willd., comúnmente conocida como escoba de chivo fue descrita para tratar diarrea mediante infusión, pero su uso principal es como forraje para el ganado y fauna silvestre (Vásquez-Montes *et al.*, 2020).

CONCLUSIONES

Este es el primer estudio de plantas medicinales y sus usos en el municipio de San José Iturbide. La información recolectada indica la importancia que tienen las plantas medicinales en el tratamiento de diversas enfermedades por los locales, ya que son imprescindibles para la salud pública local y la conservación del conocimiento biocultural tradicional. En el área de estudio algunos informantes todavía dependen del uso de plantas medicinales para tratar diferentes enfermedades y el uso de los recursos fitogenéticos es una estrategia económica y accesible para las familias que viven en el municipio. Las familias de plantas más utilizadas fueron Lamiaceae (nueve especies) y Astereaceae (seis especies), y la especie más mencionada fue *Matricaria chamomilla* L., perteneciente a la familia Asteraceae. De acuerdo con esto, es importante seguir realizando este tipo de estudios que nos apoyen a preservar los conocimientos y usos de muchas plantas que se van perdiendo por el desconocimiento y otras que se van desplazando por el uso de medicamentos. Hace falta establecer programas de culturalización y manejo de especies que son recolectadas de forma silvestre ya que no existe control alguno.

LITERATURA CITADA

- Alberti-Manzanares, P. (2006). Los aportes de las mujeres rurales al conocimiento de plantas medicinales en México: Análisis de género. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 3(2), 139-153.
- Alonso-Castro, A. J., Domínguez, F., Maldonado-Miranda, J. J., Castillo-Pérez, L. J., Carranza-Álvarez, C., Solano, E., Isiordia-Espinoza, M. A., Juárez-Vázquez, M. del C., Zapata-Morales, J. R., Argueta-Fuertes, M. A., Ruiz-Padilla, A. J., Solorio-Alvarado, C. R., Rangel-Velázquez, J. E., Ortiz-Andrade, R., González-Sánchez, I., Cruz-Jiménez, G., & Orozco-Castellanos, L. M. (2017). Use of medicinal plants by health professionals in Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, 198, 81–86. doi: 10.1016/j.jep.2016.12.038
- Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. Landsteiner Scientific, Comisión Nacional para el Desarrollo de los Pueblos Indígenas, Programa Universitario México Nación Multicultural, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.Php>
- Boukhatem, M. N., & Setzer, W. N. (2020). Aromatic herbs, medicinal plant-derived essential oils, and phytochemical extracts as potential therapies for coronaviruses: Future perspectives. *Plants*, 9(6), 800. doi: 10.3390/plants9060800
- Buso, P., Manfredini, S., Ahmadi-Ashtiani, H. R., Sciabica, S., Buzzi, R., Vertuani, S., & Baldisserotto, A. (2020). Iranian medicinal plants: From ethnomedicine to actual studies. *Medicina*, 56(3), 97. doi: 10.3390/medicina56030097
- Case, R. J., Pauli, G. F., & Soejarto, D. D. (2005). Factors in maintaining indigenous knowledge among ethnic communities of Manus Island. *Economic Botany*, 59(4), 356–365. doi: 10.1663/0013-0001(2005)059[0356:FIMIKA]2.0.CO;2
- Ceuterick, M., Vandebroek, I., Torry, B., & Pieroni, A. (2008). Cross-cultural adaptation in urban ethnobotany: The Colombian folk pharmacopoeia in London. *Journal of*

- Ethnopharmacology*, 120(3), 342–359. doi: 10.1016/j.jep.2008.09.004
- Chávez Mejía, M. C., White Olascoaga, L., Moctezuma Pérez, S., & Herrera Tapia, F. (2017). Prácticas curativas y plantas medicinales: un acercamiento a la etnomedicina de San Nicolás, México. *Cuadernos Geográficos*, 56(2), 26–47. <https://www.redalyc.org/pdf/171/17152020002.pdf>. Fecha de consulta 03 de mayo de 2023.
- Cilia-López, V. G., Aguirre-Rivera, J. R., Reyes-Agüero, J. A., & Juárez-Flores, B. I. (2008). Ethnobotany of *Heliopsis longipes* (Asteraceae: Heliantheae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, (83), 81-87. <https://www.scielo.org.mx/pdf/bsbm/n83/n83a7.pdf>. Fecha de consulta 03 de mayo de 2023.
- CONEVAL, Consejo Nacional para la Evaluación de la Política de Desarrollo Social. (2020). Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social Guanajuato. CONEVAL. México. Disponible en: www.coneval.org.mx. [Fecha de consulta: 08/06/2023].
- Cortés-Chitala, M. D. C., Flores-Martínez, H., Orozco-Ávila, I., León-Campos, C., Suárez-Jacobo, Á., Estarrón-Espinosa, M., & López-Muraira, I. (2021). Identification and quantification of phenolic compounds from mexican oregano (*Lippia graveolens* HBK) hydroethanolic extracts and evaluation of its antioxidant capacity. *Molecules*, 26(3), 702. doi: 10.3390/molecules26030702
- Fernández-Aguilar, M. G., Hernández-Hernández, V., & Colli-Mull, M. G. (2017). Plantas útiles en el cerro del cubilete, Silao, Guanajuato. *Jóvenes en la Ciencia*, 4, 32-36. <https://www.jovenesenlaciencia.ugto.mx/index.php/jovenesenlaciencia/article/view/2234/1733>. Fecha de consulta 02 de mayo de 2023.
- Faruque, M. O., Uddin, S. B., Barlow, J. W., Hu, S., Dong, S., Cai, Q., Li, X., & Hu, X. (2018). Quantitative ethnobotany of medicinal plants used by indigenous communities in the Bandarban district of Bangladesh. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 40. doi: 10.3389/fphar.2018.00040
- Ferreira, F. S., Brito, S. V., Ribeiro, S. C., Saraiva, A. A. F., Almeida, W. O., & Alves, R. R. N. (2009). Animal-based folk remedies sold in public markets in Crato and Juazeiro do Norte, Ceará, Brazil. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9(17), 1–8. doi: 10.1186/1472-6882-9-17
- Gao, L., Wei, N., Yang, G., Zhang, Z., Liu, G., & Cai, C. (2019). Ethnomedicine study on traditional medicinal plants in the Wuliang Mountains of Jingdong, Yunnan, China. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 15(41), 1–20. doi: 10.1186/s13002-019-0316-1
- Gazzaneo, L. R. S., Lucena, R. F. P., & Albuquerque, U. P. (2005). Knowledge and use of medicinal plants by local specialist in the região of Atlantic Forest in the state of Pernambuco (Northeastern Brazil). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 1(9). doi: 10.1186/1746-4269-1-9
- Gutiérrez, J., & Solano, E. (2014). Afinidades florísticas y fitogeográficas de la vegetación del municipio de San José Iturbide, Guanajuato, México. *Acta Botanica Mexicana*, 107, 27–65. doi: 10.21829/abm107.2014.203
- Guzmán-Maldonado, S. H., Díaz-Huacuz, R. S., & González-Chavira, M. M. (2018). Plantas medicinales la realidad de una tradición ancestral. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). México.
- 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.
- Hernández-Sandoval, L. G., Pantoja-Hernández, Y., & Martínez, M. (2012). Plantas útiles y distribución potencial de las forrajeras, medicinales y de uso múltiple. En: La Biodiversidad en Guanajuato: Estudio de Estado vol. I. México. Comisión Nacional para el conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO)/Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE), pp. 274-289.
- International Plant Names Index (IPNI). Disponible en línea: www.theplantlist.org.
- Jiménez González, A., Mora Zamora, K. J., Rosete Blandariz, S., & Cabrera Verdesoto, C. A. (2021). Utilización de plantas medicinales en cuatro localidades de la zona sur de

- Manabí, Ecuador. *Siembra*, 8(2), e3223. doi: 10.29166/siembra.v8i2.3223
- Kashyap, P., Kumar, S., Riar, C. S., Jindal, N., Baniwal, P., Guiné, R. P., ... & Kumar, H. (2022). Recent advances in Drumstick (*Moringa oleifera*) leaves bioactive compounds: Composition, health benefits, bioaccessibility, and dietary applications. *Antioxidants*, 11(2), 402. doi: 10.3390/antiox11020402
- Kasole, R., Martin, H. D., & Kimiywe, J. (2019). Traditional medicine and its role in the management of diabetes mellitus: "patients" and herbalists' perspectives". *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–12. doi: 10.1155/2019/2835691
- Lara Reimers, E. A., Fernández Cusimamani, E., Lara Rodríguez, E. A., Zepeda del Valle, J. M., Polesny, Z., & Pawera, L. (2018). An ethnobotanical study of medicinal plants used in Zacatecas state, Mexico. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 87(2), 3581. doi: 10.5586/asbp.3581
- Marković, M., Pljevljakušić, D., Kojičić, K., & Cupara, S. (2020). Ethnopharmacological application of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) in the pirot county of Southeastern Serbia. *Arhiv Za Farmaciju*, 70(4), 238–247. doi: 10.5937/arhifarm2004238M
- Martínez-Cruz, J., & Téllez-Valdés, O. (2004). Listado florístico de la Sierra de Santa Rosa, Guanajuato, México. *Botanical Sciences*, 74, 31–49. doi: 10.17129/botsci.1685
- Medrano-Guerrero, A., Carranza, E., del Carmen Juárez-Vázquez, M., Solano, E., Ruiz-Padilla, A. J., Ruiz-Noa, Y., ... & Alonso-Castro, A. J. (2023). Plantas medicinales utilizadas en comunidades rurales del municipio de Dolores Hidalgo, Guanajuato, México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 22(4), 524-536. doi: 10.37360/blacpma.23.22.4.39
- Nugraha, R. V., Ridwansyah, H., Ghazali, M., Khairani, A. F., & Atik, N. (2020). Traditional Herbal Medicine Candidates as Complementary Treatments for COVID-19: A Review of Their Mechanisms, Pros and Cons. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020, 1–12. doi: 10.1155/2020/2560645
- Nunkoo, D. H., & Mahomoodally, M. F. (2012). Ethnopharmacological survey of native remedies commonly used against infectious diseases in the tropical island of Mauritius. *Journal of Ethnopharmacology*, 143(2), 548–564. doi: 10.1016/j.jep.2012.07.013
- Odieka, A. E., Obuzor, G. U., Oyedeji, O. O., Gondwe, M., Hosu, Y. S., & Oyedeji, A. O. (2022). The Medicinal Natural Products of *Cannabis sativa* Linn.: A Review. *Molecules*, 27(5), 1689. doi: 10.3390/molecules27051689
- OMS. (2020). Tendencias de la mortalidad y los factores de riesgo de las enfermedades no transmisibles, y muertes por lesiones y violencia: In Estadísticas Sanitarias Mundiales 2020.
- Pamunuwa, G., Karunaratne, D. N., & Waisundara, V. Y. (2016). Antidiabetic Properties, Bioactive Constituents, and Other Therapeutic Effects of *Scoparia dulcis*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 1–11. doi: 10.1155/2016/8243215
- Pawera, L., Verner, V., Termote, C., Sodobekov, I., Kandakov, A., Karabaev, N., ... & Polesny, Z. (2016). Medical ethnobotany of herbal practitioners in the Turkestan Range, southwestern Kyrgyzstan. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae*, 85(1). doi: 10.5586/asbp.3483
- Picking, D., Younger, N., Mitchell, S., & Delgoda, R. (2011). The prevalence of herbal medicine home use and concomitant use with pharmaceutical medicines in Jamaica. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 305–311. doi: 10.1016/j.jep.2011.05.025
- Rivero-Segura, N. A., & Gomez-Verjan, J. C. (2021). In silico screening of natural products isolated from mexican herbal medicines against COVID-19. *Biomolecules*, 11(2), 216. doi: 10.3390/biom11020216
- Secretaría de Bienestar. (2022). Informe anual sobre la situación de pobreza y rezago social 2022. Unidad de planeación y evaluación de programas para el desarrollo. Guanajuato, San José Iturbide. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/699159/11_032_GTO_San_Jose_Iturbide.pdf. Fecha de consulta 25 de noviembre de 2022.

Recibido:
23/enero/2023

Aceptado:
30/junio/2023

- Siew, Y. Y., Zareisedehizadeh, S., Seetoh, W. G., Neo, S. Y., Tan, C. H., & Koh, H. L. (2014). Ethnobotanical survey of usage of fresh medicinal plants in Singapore. *Journal of Ethnopharmacology*, 155(3), 1450–1466. doi: 10.1016/j.jep.2014.07.024
- Spindle, T. R., Bonn-Miller, M. O., & Vandrey, R. (2019). Changing landscape of *Cannabis*: novel products, formulations, and methods of administration. *Current Opinion in Psychology*, 30, 98–102. doi: 10.1016/j.copsyc.2019.04.002
- Umair, M., Altaf, M., Bussmann, R. W., & Abbasi, A. M. (2019). Ethnomedicinal uses of the local flora in Chenab riverine area, Punjab province Pakistan. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 15(1), 1-31.
- Unger, K., Flores, D., & Pérez, L. (2019). Competitividad y especialización en el Bajío mexicano: ¿acaso una región homogénea?. *Paradigma Económico*, 11(2), 117-151.
- Vara-Delgado, A., Sosa-González, R., Alayón-Recio, C. S., Ayala-Sotolongo, N., Moreno-Capote, G., & Alayón-Recio, V. del C. (2019). Uso de la manzanilla en el tratamiento de las enfermedades periodontales. *Revista Archivo Médico de Camagüey*, 23(3), 403–414. <http://scielo.sld.cu/pdf/amc/v23n3/1025-0255-amc-23-03-403.pdf>. Fecha de consulta 01 de mayo de 2023.
- Vásquez-Montes, S., Villarrwal-Guerrero, F., Amaya-Olivas, N. I., & Hernández-Ochoa, L. R. (2020). Production and chemical composition of *Dalea bicolor* essential oil in different regions of Chihuahua State, Mexico. *Botanical Sciences*, 98(4), 486–498. doi: 10.17129/botsci.2602
- Villagómez, M. A., Maldonado M. & Esparza, J. J. (2012). Actualización del programa de manejo del área natural protegida Pinal del Zamorano. CIATEC/IEE. México. pp: 121-127
- Villagómez-Loza, M. A., Bello-González, M. A., & Isarain-Chávez, E. (2014). *Pinus strobiformis* Engelm.: A new location in Guanajuato, Mexico. *Agrociencia*, 48(6), 615–625. <https://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v48n6/v48n6a4.pdf>. Fecha de consulta 30 de abril de 2023.
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(3), 559–902. doi: 10.1016/j.rmb.2016.06.017
- Wangcha, A. N. (2021). Survey of ethnomedicinal plants and its uses by the konyak tribe in Mon district, Nagaland, India. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 3, 280-285. https://www.researchgate.net/profile/Alih-Wangcha/publication/353116990_Survey_of_ethnomedicinal_plants_and_its_uses_by_the_konyak_tribe_in_Mon_district_Nagaland_India/links/60e7c2ab30e8e50c01f04f78/Survey-of-ethnomedicinal-plants-and-its-uses-by-the-konyak-tribe-in-Mon-district-Nagaland-India.pdf. Fecha de consulta 04 de mayo de 2023.
- Weaver, R. J., Blomme, E. A., Chadwick, A. E., Coppole, I. M., Gerets, H. H. J., Goldring, C. E., Guillouzo, A., Hewitt, P. G., Ingelman-Sundberg, M., Jensen, K. G., Juhila, S., Klingmüller, U., Labbe, G., Liguori, M. J., Lovatt, C. A., Morgan, P., Naisbitt, D. J., Pieters, R. H. H., Snoeys, J., ... Park, B. K. (2020). Managing the challenge of drug-induced liver injury: a roadmap for the development and deployment of preclinical predictive models. *Nature Reviews Drug Discovery*, 19(2), 131–148. doi: 10.1038/s41573-019-0048-x
- Weckmüller, H., Barriocanal, C., Maneja, R., & Boada, M. (2019). Factors affecting traditional medicinal plant knowledge of the Waorani, Ecuador. *Sustainability*, 11(16), 4460. doi: 10.3390/su11164460
- Zambrano-Intriago, L. F., Buenaño-Allauca, M. P., Mancera-Rodríguez, N. J., & Jiménez-Romero, E. (2015). Estudio etnobotánico de plantas medicinales utilizadas por los habitantes del área rural de la Parroquia San Carlos, Quevedo, Ecuador. *Universidad y Salud*, 17(1), 97–111. <http://www.scielo.org.co/pdf/reus/v17n1/v17n1a09.pdf>. Fecha de consulta 03 de mayo de 2023.
- Žlabur, J. Š., Žutić, I., Radman, S., Pleša, M., Brnčić, M., Barba, F. J., Rocchetti, G., Lucini, L., Lorenzo, J. M., Domínguez, R., Brnčić, S. R., Galić, A., & Voća, S. (2020). Effect of Different Green Extraction Methods and Solvents on Bioactive Components of Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) Flowers. *Molecules*, 25(4), 810. doi: 10.3390/molecules25040810

**PERCEPCIÓN Y SIGNIFICADOS
DEL GUAJE ROJO *Leucaena
esculenta* (DC.) Benth. EN LA
CULTURA NGIWA DE PUEBLA,
MÉXICO**

**PERCEPTION AND MEANINGS OF
THE RED GUAJE *Leucaena esculenta* (DC.)
Benth. IN THE NGIWA CULTURE
FROM PUEBLA, MÉXICO**

García-Maceda, Guadalupe; Arturo Hernández-Montes; Ma. Carmen Ybarra-Moncada y Rocío Guadalupe Casañas-Pimentel

PERCEPCIÓN Y SIGNIFICADOS DEL GUAJE ROJO *Leucaena esculenta* (DC.) Benth.
EN LA CULTURA NGIWA DE PUEBLA, MÉXICO

PERCEPTION AND MEANINGS OF THE RED GUAJE *Leucaena esculenta* (DC.)
Benth. IN THE NGIWA CULTURE FROM PUEBLA, MÉXICO



Percepción y significados del guaje rojo *Leucaena esculenta* (DC.) Benth. en la cultura Ngiwa de Puebla, México

Perception and meanings of the red guaje *Leucaena esculenta* (DC.) Benth. in the Ngiwa culture from Puebla, México

García-Maceda, Guadalupe;
Arturo Hernández-Montes;
Ma. Carmen Ybarra-Moncada
y Rocío Guadalupe Casañas-
Pimentel

PERCEPCIÓN Y
SIGNIFICADOS DEL GUAJE
ROJO *Leucaena esculenta*
(DC.) Benth. EN LA
CULTURA NGIWA DE
PUEBLA, MÉXICO

PERCEPTION AND
MEANINGS OF THE RED
GUAJE *Leucaena esculenta*
(DC.) Benth. IN THE NGIWA
CULTURE FROM PUEBLA,
MÉXICO

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 287-309. Julio 2023

DOI:

10.18387/polibotanica.56.15

Guadalupe García-Maceda / guadalupe.0311@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9069-6579>

Arturo Hernández-Montes / ahernandezmo@chapingo.mx
<https://orcid.org/0000-0003-1502-3101>

Ma. Carmen Ybarra-Moncada / mybarram@chapingo.mx
<https://orcid.org/0000-0002-9634-008X>

Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Universidad Autónoma Chapingo.
Carretera México-Texcoco km. 38.5, Chapingo, 56230, Texcoco de Mora, México.

Rocío Guadalupe Casañas-Pimentel / rg15cp@yahoo.com.mx
<https://orcid.org/0000-0003-3184-9675>

Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada.
Instituto Politécnico Nacional.
Calzada Legaria 694, Col. Irrigación, Miguel Hidalgo,
Ciudad de México. C.P. 11500.

RESUMEN: El guaje rojo (*Leucaena esculenta* (DC.) Benth.) es una planta comestible distribuida ampliamente en México, particularmente en la región Ngiwa de Puebla. Con la percepción los usuarios obtienen conceptualizaciones funcionales, emocionales y abstractas de diversos productos en su entorno cultural. Los objetivos fueron: a) aplicar de la psicología social un método de la mercadotecnia para identificar las rutas de influencia de los valores humanos en el consumo del guaje rojo; y b) determinar los significados que consumidores nativos le otorgan a la planta. Se aplicó una encuesta a 200 consumidores preguntando la importancia de algunos atributos tangibles del guaje y de un conjunto de 40 valores humanos; se mostró una imagen del guaje y se solicitó mencionar tres palabras relacionadas con ella. Mediante análisis factorial se generaron factores usados en la construcción de modelos de regresión lineal múltiple. Tres modelos fueron ajustados para estimar los coeficientes de correlación múltiple $R_{Modelo1}$, $R_{Modelo2}$ y $R_{Modelo3}$. Tales modelos fueron conformados por: consumo en función de factores de atributos tangibles; consumo en función de factores de valores humanos más residuales de atributos tangibles; y consumo en función de factores de valores humanos. Una prueba de k-proporciones y el procedimiento de Marascuilo se aplicaron a frecuencias de palabras agrupadas por afinidad. La ruta directa se obtuvo de la diferencia $R_{Modelo2} - R_{Modelo1}$ (ΔR); y la indirecta de $R_{Modelo3} - \Delta R$. La influencia directa no resultó significativa, indicando que los valores humanos fluyeron a través de la importancia de los atributos tangibles. El guaje rojo presentó mayor comunalidad de significados utilitarios (70.7%), dentro de estos, las mayores comunalidades fueron gastronomía (29.45%) y economía (22.75%); la menor comunalidad fue conservación de semillas (1.15%). Dentro de los significados psicológicos simbólicos, las mayores comunalidades fueron hedonismo (11.47%) e identidad (9.18%).

Palabras clave: Recurso fitogenético, popoloca, cultura, alimento tradicional, comunalidades.

ABSTRACT: Red guaje (*Leucaena esculenta* (DC.) Benth.) is an edible plant widely distributed in Mexico, particularly in the Ngiwa region of Puebla. Users obtain functional, emotional, and abstract conceptualizations of various products in their

cultural environment through perception. The objectives of the study were: a) to apply from social psychology a marketing method to identify the routes of influence of human values on the consumption of red guaje, and b) to determine the meanings that native consumers assign to the plant. A survey was conducted with 200 consumers, asking about the importance of specific tangible attributes of guaje and a set of 40 human values. An image of guaje was shown, and participants were asked to mention three words related to it. Factor analysis was used to generate factors for constructing multiple linear regression models. Three models were adjusted to estimate the multiple correlation coefficients: R_{Model1} , R_{Model2} , and R_{Model3} . These models were composed of: consumption based on factors of tangible attributes, consumption based on factors of human values plus residuals of tangible attributes, and consumption based on factors of human values. A k-proportions test and the Marascuilo procedure were applied to word frequencies grouped by affinity. The direct route was calculated as the difference $R_{Model2} - R_{Model1}$ (ΔR), and the indirect route as $R_{Model3} - (\Delta R)$. The direct influence was not found to be significant, indicating that human values flowed through the importance of tangible attributes. Red guaje exhibited a higher communality of utilitarian meanings (70.7%), with gastronomy (29.45%) and economy (22.75%) being the most prevalent, while seed preservation (1.15%) showed the lowest communality. Among the symbolic psychological meanings, hedonism (11.47%) and identity (9.18%) had the highest communalities.

Key words: Fitogenetic resource, popoloca, culture, traditional food, communalities.

INTRODUCCIÓN

La percepción es el proceso de seleccionar, organizar e interpretar información obtenida a partir de estímulos selectos que pasan a través de nuestros filtros perceptivos, se organizan en estructuras y patrones mentales existentes, y luego se interpretan con base a experiencias previas (Niosi, 2021). Thomson *et al.*, (2010) señalan que los consumidores obtienen conceptualizaciones funcionales, emocionales y abstractas al procesar información sensorial, de manera que cuando experimentan un producto, no solo reaccionan al producto en sí, sino también a las conceptualizaciones asociadas al mismo. Cuando un producto tiene un significado más allá de su aspecto tangible, se supera la visión funcional del producto como el eje central del consumo y se acepta el significado social como el mayor impulsor de las decisiones tomadas por los consumidores (Páramo-Morales, 2011). A un producto se le pueden atribuir dos tipos de significados psicológicos: el utilitario y el simbólico; el utilitario representa la función tangible del producto, se deriva de su utilidad práctica y está ligado a su conveniencia, eficiencia y a valor de cambio; el significado psicológico simbólico o abstracto es el resultado de experiencias sociales que conducen a la categorización subjetiva del producto (Torres & Allen, 2009). Oliveira Barbosa (2016) sugiere que, para entender mejor las decisiones de compra, hay que concebir que los productos poseen atributos tangibles e intangibles, que generan consecuencias funcionales o psicológicas importantes para satisfacer los valores de los individuos.

Herrero y Pérez (2014) mencionan que sobresalen tres herramientas para estudiar valores y estilos de vida en ambientes diversos de la psicología y la mercadotecnia: la encuesta de valores de Rokeach (RVS), la Lista de Valores (LOV) de Kahle y el Sistema de Valores, Actitudes y Estilos de Vida (VALS) del Instituto de Investigación de Stanford. de Almeida *et al.* (2017) mencionan que la RVS consiste en dos grupos de 18 preguntas de valores, que engloban valores instrumentales y valores terminales; la LOV se basa en sólo nueve valores terminales de Rokeach (1973) y la encuesta de valores de Schwartz (SVS), es un instrumento usado para relacionar aspectos culturales en función de sus valores a partir de una prueba de fiabilidad que conlleve a su validación (Gurel *et al.*, 2019). La SVS presenta ventajas sobre los otros métodos, ya que es un sistema de clasificación de valores humanos validado transculturalmente y que se ha experimentado en más de 20 países (Schwartz, 2012).

Los valores humanos fueron clasificados en diez tipos de valores motivacionales organizados dentro de cuatro dominios de valor de orden superior (Schwartz, 2012). La teoría de los valores de Schwartz ha sido utilizada para estudiar la influencia de los valores humanos en la decisión de consumo de alimentos tales como carne roja, carne blanca, pescado/marisco (Hayley *et al.*, 2015), bebidas saludables (Lee *et al.*, 2014), alimentos convenientes (preparados, envasados y listos para consumo) (Botonaki & Mattas, 2010) y productos de comercio justo (Ladhari & Tchetgna, 2015).

A partir de la teoría de expectativa-valor, el modelo multi-atributos se ha aplicado para explicar la actitud de las personas en las selecciones de consumo (Allen, 2000; Hauser *et al.*, 2011); el mejor modelo que predecía la preferencia global de un alimento revelaba que los valores humanos estaban detrás de la preferencia del producto. Esta preferencia se encuentra en función de las creencias del consumidor, de que los atributos del producto deberían reforzar a sus valores prioritarios (Lindberg *et al.*, 1989). Basado en la influencia de los valores humanos del consumidor sobre la elección de productos, Allen, (2001) propuso un método para descubrir las influencias directa e indirecta de los valores humanos en las decisiones de los consumidores.

La influencia de los valores humanos sobre el consumo de un producto, usando como mediadores a los atributos tangibles, puede seguir dos rutas: la indirecta y la directa. En la primera, los consumidores pueden emitir un juicio fragmentado del producto, atributo por atributo, evaluando su significado utilitario, en el que los valores humanos pueden influir en la importancia de los atributos tangibles, que a su vez influyen en la preferencia del producto (Allen, 2000). En la segunda ruta, los consumidores evalúan el significado simbólico del producto y emiten un juicio afectivo, intuitivo y holístico, los valores humanos pueden influir directamente en la preferencia del producto (Torres & Allen, 2009). La función psicológica de cada una de las rutas puede ser instrumental o expresiva, respectivamente (Allen, 2000).

El procedimiento para identificar las rutas de influencia de los valores humanos sobre el consumo es cuantitativo y se aplica a muestras de consumidores. Para su análisis se han utilizado el análisis factorial y la regresión múltiple (Allen, 2001; Hernández-Montes, 2020). Este método se ha aplicado a varios productos, servicios y conductas, por ejemplo: automóviles (Allen, 2000), destinos de vacaciones (Torres y Pérez-Nebra, 2007), anteojos (Torres & Allen, 2009), conducta de consumo sustentable (Sharma & Jha, 2017), en quesos tradicionales mexicanos (Hernández-Montes, 2018, 2020; Illescas-Marín *et al.*, 2019; Torres-Salas & Hernández-Montes, 2021) y en flor de alcatraz (Cuéllar-Mandujano *et al.*, 2022).

Dentro de una perspectiva de mercado, los productos son una colección de atributos tangibles e intangibles; lo tangible se refiere a elementos del producto verificables objetivamente, y lo intangible es aquello que no altera la forma física del producto, pero ayuda a determinar su significado simbólico (Hirschman, 1986). En este sentido, para que un producto funcione como símbolo debe poseer comunalidad de significado entre los consumidores (Lo Monaco *et al.*, 2016). Este tipo de simbolismo podría presentarse en el guaje rojo, cuyo consumo en platillos es frecuente o se encuentra asociado a una temporada específica, se elaboran acorde a la herencia gastronómica, conocido debido a sus propiedades sensoriales y asociado a cierta área local, región o país (Guerrero *et al.*, 2009). Los significados de los alimentos tradicionales, para los consumidores, pueden ser utilizado para ayudar a generar políticas públicas y estrategias de mercadotecnia que contribuyan al desarrollo económico de áreas rurales (Sánchez-Vega *et al.*, 2021).

En este contexto, *Leucaena* es una planta comestible que comprende 24 taxones de árboles y arbustos, 22 de ellos en México. Incluyendo 14 especies y 18 subespecies. Los principales cultígenos son el guaje rojo *Leucaena esculenta* y el guaje verde o guaje blanco *Leucaena leucocephala*; se encuentran desde el sur de los Estados Unidos de América hasta el norte de América del Sur; *Leucaena* crece en diferentes ambientes tropicales, de áridos a húmedos. En ambientes húmedos el taxón *Leucaena* pertenece mayormente a la vegetación secundaria, su

dominancia se incrementa con la aridez del medio (Peralta-Juárez *et al.*, 2017; Sánchez-Hurtado, 2014; Zárate, 1999).

Zárate (1997) menciona que en el Código Florentino se describe al uaxin y vagamente se menciona su uso como alimento y venta en mercados, de este nombre Náhuatl se deriva el término español de guaje; por otro lado, reporta que el cultígeno de *Leucaena* se consume en México desde épocas prehispánicas. La Cuenca del Río Balsas se presume sea el centro de origen biológico de *L. esculenta*, ahí se han encontrado escondites prehistóricos de semillas que fueron colectadas de árboles silvestres y preparadas para almacenamiento por contemporáneos de gente Náhuatl y Mixteca (Zárate, 2000).

Leucaena spp. es un género de leguminosas que presenta altos contenidos de proteína (32.5%), fibra cruda, minerales, lípidos y antioxidantes (Casas, 1992; Román-Cortés *et al.*, 2014). Lo más usado del guaje es el fruto y sus semillas, los usos reportados para el guaje son como alimento, árbol de frutos cultivado, árbol medicinal, como leña y como topónimo (Zárate, 1997).

Zárate (1999) reporta algunas preparaciones del guaje, en la tradición culinaria, tales como el guaxmole, salsas de guaje, tortas de guaje (semilla inmadura batida con huevo y queso, frita en sartén) y el guajesquite (semilla seca tostada hasta reventar y servida en tacos con salsa, o bien limón y chile en polvo).

La superficie de guaje rojo en el estado de Puebla es de 80 ha con una producción de 2,000 ton, para el caso de guaje verde son 140 ha con una producción de 16,103 ton (SDR, 2007). El guaje rojo se produce principalmente en 22 municipios de Puebla entre ellos se encuentra Tepexi de Rodríguez (CONABIO, 2011). Por lo que, en el caso de la comunidad ngiwa de San Felipe Otlaltepec, Tepexi de Rodríguez, Puebla, se produce principalmente guaje rojo (*Leucaena spp.*) y se cosecha de agosto a febrero. Estas comunidades indígenas se han relacionado culturalmente con comunidades mestizas y a través del tiempo se han apropiado de nuevos ingredientes, sabores y técnicas de procesamiento de sus alimentos (Good & Corona, 2011). Por otro lado, Casas (1992) reporta un abandono paulatino del guaje como alimento humano y un uso creciente como forraje para el ganado y otros usos no alimentarios, principalmente como un recurso forestal. Por lo que, los alimentos tradicionales se encuentran en riesgo de reemplazo, pudiendo implicar que la población consumidora otorga una mínima valorización a ese tipo de alimento (Villegas De Gante & Cervantes Escoto, 2011). En la valorización de alimentos se selecciona aquel que exprese los ideales culturales personales y los valores humanos del consumidor, por lo que, al expresar durante la percepción, el “significado” de algún alimento, se mencionan aspectos no relacionados necesariamente con el mismo (Arbit *et al.*, 2017).

La evolución de la domesticación de plantas trajo como consecuencia a la agricultura; la domesticación consiste en la intervención humana en el sistema reproductivo de las plantas, dando como resultado modificaciones genéticas y/o fenotípicas. Mediante el proceso de domesticación, los seres humanos han creado diversidad biológica (agrobiodiversidad) que no existiría de otra forma (Mastretta-Yanes *et al.*, 2019). Las interacciones e interrelaciones que mantienen los pueblos originales con las plantas permiten identificar los distintos pasos del proceso de domesticación (Blancas *et al.*, 2013).

La percepción de la biodiversidad y su conservación ha sido reportada en Santiago, Cuba (Acosta-Alcolea *et al.*, 2015) y en Córdoba y en Provincia de Buenos Aires, Argentina (Bertoni & López, 2010; Martínez & Manzano-García, 2016). Las percepciones ambientales manifiestan las formas diferentes en que los actores involucrados aprecian, valoran, interpretan, se vinculan y/o modifican su entorno (Martínez y Manzano-García, 2016), y su análisis sistemático permite revelar las lógicas subjetivas de interacción sociedad-naturaleza y mejorar las intervenciones en el área involucrada (Bertoni & López, 2010). Se han reportado estudios sobre el uso tradicional

de plantas comestibles en Italia (Sansanelli *et al.*, 2017; Sansanelli & Tassoni, 2014), plantas medicinales, ceremoniales, comestibles y plantas no cultivadas de grupos rurales marginales en México (Rangel-Landa *et al.*, 2017; Vazquez-García, 2008) y plantas silvestres en Turquía (Güneş *et al.*, 2018; Kayabaş *et al.*, 2018). La conservación de la biodiversidad incluye bancos de semillas, material vegetativo, y el entendimiento de cómo crecer y cultivar a estas especies (Learning from the Past, 2016).

El guaje rojo podría considerarse como un alimento tradicional y como un recurso fitogenético que pudiera tener diferentes significados en la percepción de los consumidores de San Felipe Otlaltepec, por lo que los objetivos de esta investigación fueron: a) aplicar de la psicología social un método de la mercadotecnia para determinar las rutas de influencias directa e indirecta de los valores humanos en la frecuencia de consumo del guaje rojo, en una muestra de personas originarias de esa comunidad; b) identificar las comunalidades de los diferentes significados que los consumidores le otorgan al guaje rojo.

Las hipótesis establecidas en esta investigación fueron: a) los valores humanos de los consumidores ejercen una influencia directa en el consumo de guaje rojo; b) los significados psicológicos que le otorgan los consumidores al guaje rojo son mayormente del tipo simbólico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

La investigación se realizó en la comunidad indígena ngiwa de San Felipe Otlaltepec, perteneciente al municipio de Tepexi de Rodríguez, Puebla, México (Fig. 1), esta comunidad presenta un índice de marginación del 21.47%, que corresponde a un grado de marginación bajo (CONAPO, 2020). San Felipe Otlaltepec tiene una población de 1980 habitantes, del cual el 50.51% corresponde al sexo femenino y 49.49 % al masculino. El porcentaje de la población analfabeta de 15 años y más, es de 12.02 % y la población de 3 años y más, que habla alguna lengua indígena es de 688 (34.74%). San Felipe Otlaltepec cuenta con una superficie total de 7,120.37 hectáreas, la topografía es muy accidentada, con pendientes muy marcadas; la litología se caracteriza por rocas calizas. El clima predominante en esta zona es del tipo (A)C(w_o), semicálido, con temperatura media anual de 22 °C y altitud de 1844 msnm. Coordenadas: 18° 24' 04.288" latitud Norte y 97° 54' 28.20" longitud Oeste (INEGI, 2020).

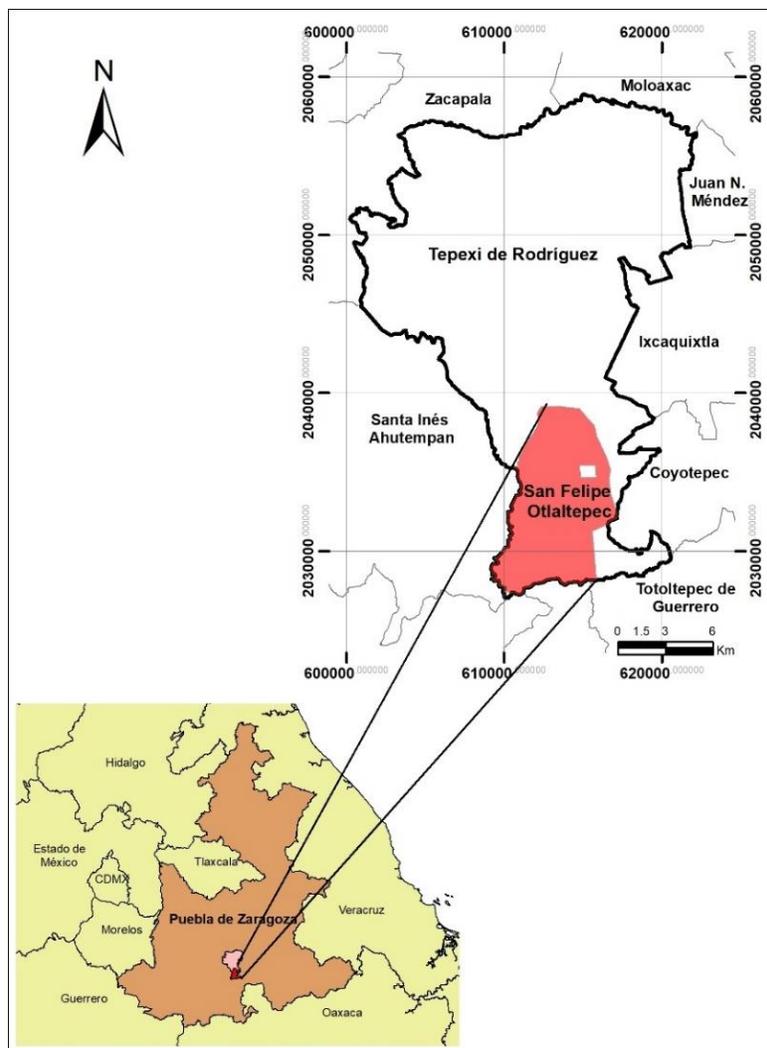


Fig. 1. San Felipe Otlaltepec, Tepexi de Rodríguez, Puebla.
Fuente: Elaboración propia con información de (INEGI, 2020)

Material vegetal

Para identificar la especie estudiada, se herborizaron tres ejemplares de *Leucaena* spp., colectadas en la comunidad de San Felipe Otlaltepec, municipio Tepexi de Rodríguez, Puebla, México. La identificación botánica la realizó la M.C. Ernestina Cedillo Portugal, del área de Biología del Departamento de Preparatoria Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo. Los ejemplares herborizados fueron depositados en el herbario hortorio Jorge Espinosa Salas (JES) con número de registro 26061, haciendo uso de claves dicotómicas se determinó que el ejemplar corresponde a *Leucaena esculenta* (DC) Benth (Fig. 2).



Fig. 2. *Leucaena esculenta* (DC) Benth

Muestreo

Se reclutó una muestra de 200 personas de San Felipe Otlaltepec, los criterios de selección consideraron que todos fueran nativos de San Felipe Otlaltepec, mayores de 40 años, consumidores de guaje rojo, e igual número de hombres y mujeres. Debido a que no se contaba con un censo de todos los pobladores y además era de interés encuestar a personas mayores de 40 años, el método de muestreo aplicado fue de bola de nieve, por el alto sesgo se considera un método no probabilístico (Heckathorn, 2011), por lo que no se pueden realizar inferencias de la población. Inicialmente se identificaron a dos contactos nativos que cumplieran con los criterios de selección y disposición a colaborar en la encuesta, estas personas a su vez recomendaron a otras personas que cumplieran con los requisitos de la muestra y mostraban disposición a participar, esto se fue repitiendo hasta alcanzar el tamaño de muestra planeado.

Encuesta

La encuesta incluyó cuatro secciones. En la primera sección del cuestionario se proporcionó a los encuestados una lista de 40 valores humanos con sus definiciones (Cuadro 1), con la finalidad de facilitarles su comprensión, también se entregó un formato con los 40 valores y sus respectivas escalas Likert de nueve puntos y se les pidió calificar a cada uno de ellos según la importancia que estos tuvieran como “un principio rector de su vida”. Los 40 valores humanos empleados en este estudio comprenden los 36 ítems de la Encuesta de Valores de Rokeach (1973), con los dominios de valores señalados en la Encuesta de Valores de Schwartz (Schwartz, 1994), más otros cuatro valores humanos: justicia, equidad, poder social y autodeterminación. La Encuesta de Valores de Schwartz es aplicable a diferentes culturas y sus dominios tienen un fuerte fundamento empírico y teórico (Allen, 2001).

En la segunda sección, a los encuestados se les pidió calificar con escalas Likert de 10 puntos la importancia de cada uno de los atributos tangibles de los guajes rojos (manchas en la vaina y tamaño de la semilla en la vaina) para decidir su consumo. Los atributos tangibles del guaje fueron generados por un grupo focal, formado por 10 personas (cinco hombres y cinco mujeres) nativas de San Felipe Otlaltepec, consumidoras de guaje rojo y que además tenían experiencia en su comercialización; se reunieron por una hora en tres ocasiones y no participaron

posteriormente en la encuesta. En la tercera sección se preguntó al encuestado sobre su consumo de guaje rojo, expresado en kilogramos por persona al año, el guaje en vaina se comercializa al menudeo por unidad de manojo, pero al mayoreo se comercializan en kilogramos. En la última sección se presentó a las personas un cuestionario de preguntas abiertas y una fotografía de vainas de guaje rojo; y se les pidió mencionar tres ideas o palabras que la imagen les evocara (Lo Monaco & Bonetto, 2019). Un equipo de cinco personas universitarias, con entrenamiento en el procedimiento de diagramas de afinidad, agrupó las palabras y a cada grupo formado les asignó un nombre (categoría) por consenso, cada categoría estuvo formada por al menos dos palabras (Elliott, 1994).

Cuadro 1. Valores motivaciones, valores humanos y sus significados empleados en la encuesta a consumidores de guaje rojo.

Valores motivacionales	Valores humanos	Definición
Auto-dirección	Auto determinación	Habilidad para determinar su propio destino
Auto-dirección	Auto respeto	Autoestima
Auto-dirección	Imaginativo	Atrevido, creativo
Auto-dirección	Independiente	Auto confiable, auto suficiente
Auto-dirección	Libertad	Independencia, selección libre
Benevolencia	Amistad verdadera	Compañerismo cercano
Benevolencia	Amor maduro	Intimidad espiritual y sexual
Benevolencia	Cariñoso	Afectivo, tierno
Benevolencia	Honesto	Sincero, creíble
Benevolencia	Indulgencia	Deseo de perdonar a otros
Benevolencia	Responsable	Digno de confianza, confiable
Benevolencia	Salvación	Salvado, vida eterna
Benevolencia	Útil	Trabajar por el bienestar de otros
Conformidad	Auto controlado	Refrenado, auto disciplinado
Conformidad	Educado	Cortes, buena manera
Universalismo	Equidad	Cada persona es gratificada de acuerdo con cuánto haya realizado
Conformidad	Obediente	Con obligaciones, respetable
Estimulación	Una vida excitante	Una vida estimulante, vida activa
Estimulación	Valiente	De pie por tus convicciones
Hedonismo	Alegre	Poco serio
Hedonismo	Felicidad	Sentirse contento
Hedonismo	Placentero	Agradable, vida relajada
Hedonismo	Una vida confortable	Una vida próspera
Logro	Ambicioso	Trabajar duro, aspirar
Logro	Capaz	Competente, efectivo
Logro	Intelectual	Inteligente, reflexivo
Logro	Lógico	Consistente, racional
Logro	Un sentido de logro	Contribución duradera
Poder	Poder social	Posición de autoridad e importancia
Poder	Reconocimiento social	Respeto, admiración

Seguridad	Limpio	Ordenado, pulcro
Seguridad	Seguridad familiar	Tomar cuidado de los seres queridos
Seguridad	Seguridad nacional	Protección de ataque
Tradición	Respeto por la tradición	Compromiso y aceptación de las costumbres
Universalismo	Armonía interior	Libre de conflictos internos
Universalismo	Igualdad	Comunidad, oportunidad igual para todos
Universalismo	Justicia social	Rectitud, no discriminación
Universalismo	Mente amplia	Mente abierta
Universalismo	Sabiduría	Un entendimiento maduro de la vida
Universalismo	Un mundo de paz	Libre de guerras y conflictos

Fuente: Schwartz (2012).

Análisis estadístico

Rutas de influencia de los valores humanos en el consumo de guaje rojo

El procedimiento estadístico para identificar las rutas de influencias fue un análisis factorial exploratorio sin rotación, empleando el método de componentes principales (Hernández-Montes, 2020), tanto en los valores humanos (Z_{VH}) como en los atributos tangibles (Z_{AT}) del guaje, para reducir el número de variables. Los factores seleccionados fueron aquellos que mostraron valores propios ≥ 1 y a sus vectores característicos o latentes se les aplicó una prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov (Razali & Wah, 2011).

El modelo matricial del análisis factorial (AF), se expresa como:

$$x = \Lambda f + \eta$$

Donde:

Λf = factores comunes

η = factores específicos

No existe autocorrelación de los residuales, ni de estos con los factores.

Los residuales son específicos para cada variable respuesta (x_i)

En el análisis factorial la varianza de cada variable observada puede dividirse en dos partes: la varianza específica y la varianza compartida (Johnson, 2000).

Las nuevas variables generadas por el AF consideradas para generar al modelo de regresión lineal múltiple (MRLM):

$$Z_{AT} = w_i F1_{AT} + w_i F2_{AT} + \eta$$

$$Z_{VH} = w_i F1_{VH} + w_i F2_{VH} + w_i F3_{VH} + \dots + w_i F7_{VH} + \eta$$

Donde:

w_i = score; $F1_{AT}$ = Factor 1 de los atributos tangibles; $F1_{VH}$ = Factor 1 de los valores humanos; η = factores específicos.

Posteriormente, se construyeron modelos de regresión lineal múltiple:

Modelo 1, se usaron los factores seleccionados de los atributos tangibles (F_{AT}), como variables explicativas y el consumo (Q) como variable respuesta:

$$Q = \beta_0 + \sum_{i=1}^p \beta_i F_{i(AT)} + e$$

Modelo 2, se consideraron como variables explicativas a los factores seleccionados de los valores humanos (F_{VH}) y a los residuales de los atributos tangibles ($F_{ATresiduales}$) y el consumo (Q) como variable respuesta:

$$Q = \beta_0 + \sum_{i=1}^p \beta_i F_{i(VH)} + \beta_{p+1} F_{ATresiduales} + e$$

Modelo 3, se emplearon los factores seleccionados de los valores humanos (F_{VH}) (variables explicativas) y el consumo (Q) como variable respuesta:

$$Q = \beta_0 + \sum_{i=1}^p \beta_i F_{i(VH)} + e$$

Los tres modelos se ajustaron mediante el método Stepwise con un $\alpha = 0.1$, tanto para incluir como para excluir a las variables explicativas, con el programa XLSTAT versión 2023.1.1 (Addinsoft, Nueva York, USA.) (Cuéllar-Mandujano *et al.*, 2022) y se obtuvieron los análisis de varianza y los coeficientes de correlación (R) de cada una de las regresiones múltiples (Torres-Salas & Hernández-Montes, 2021).

De acuerdo con (Allen, 2001) la influencia directa de los valores humanos sobre el consumo de guaje rojo, utilizando como mediadores a los atributos tangibles, se obtuvo con el cambio en R (ΔR):

$$\Delta R = R_{Modelo2} - R_{Modelo1}$$

La significancia del ΔR se evalúa aplicando la transformación Z de Fisher (Chalmer, 1986) a los coeficientes de regresión y se prueba la $H_0: \Delta R = 0$ mediante la distribución Z . La influencia indirecta (II) se define como (Allen, 2001):

$$II = R_{Modelo3} - \Delta R$$

Significados psicológicos simbólicos y utilitarios para los consumidores de guaje rojo

En el análisis de los significados se elaboraron tablas de frecuencias para las palabras que formaron cada una de las categorías. La frecuencia de palabras de las categorías fue analizada utilizando la prueba de k proporciones (Álvarez-Hernández *et al.*, 2012; Marascuilo & McSweeney, 1967) y la comparación de estas se llevó a cabo empleando el procedimiento de Marascuilo, para ambas pruebas se empleó un $\alpha = 0.05$. Una prueba de bondad de ajuste (Read & Cressie, 1988) se aplicó para comparar las proporciones de las diversas categorías de significados otorgados por las mujeres, con respecto a las frecuencias observadas en las categorías de los hombres. El procedimiento gráfico de la rueda de comunalidades de significados se usó para representar las comunalidades de los significados. Los datos fueron analizados empleando el programa XLSTAT versión 2023.1.1 Addinsoft, USA (Torres-Salas *et al.*, 2020).

RESULTADOS

Influencia directa e indirecta de los valores humanos en el consumo de guaje rojo

El análisis factorial de los atributos tangibles arrojaron tres factores con valores propios mayores o iguales a uno, los cuales explicaron el 66.52% del total de la variabilidad de los datos. En el análisis factorial de los valores humanos se identificaron siete factores con valores propios mayores o iguales a uno, que explicaron el 67.65% de la variabilidad.

Todos los vectores característicos de los factores empleados en las regresiones presentaron distribución normal ($p > 0.05$). Los resultados de las tres regresiones lineales múltiples se presentan en el Cuadro 2. El Modelo 1 estimado de los atributos tangibles (manchas en vaina y tamaño de semilla) fue significativo ($p < 0.0001$) y solo un factor resultó significativo en la regresión lineal múltiple (Cuadro 3). El coeficiente de correlación del modelo $R_{\text{Modelo1}} = 0.155$.

$$\hat{Q} = 3.792 + 0.156 * FT1$$

El Modelo 2 estimado, debería incluir como variables explicativas a los residuales de los atributos tangibles y a los siete factores de los valores humanos; sin embargo, no existieron residuales de los atributos tangibles, sólo el FVH3 y el FVH6 permanecieron en el Modelo 2, que fue significativo ($p = 0.0001$), con un coeficiente de correlación múltiple $R_{\text{Modelo2}} = 0.204$.

$$\hat{Q} = 4.472 + 0.598 * FVH3 + 0.618 * FVH6$$

El cambio en R ($\Delta R = R_{\text{Modelo2}} - R_{\text{Modelo1}}$) es la influencia directa de los valores humanos en el consumo de guaje, este valor fue de 0.049; y no resultó significativo ($p = 0.215$). Con un valor de Z de Fisher = 0.789.

Cuadro 2. Resultados de las regresiones de la importancia de los atributos tangibles y valores humanos para los consumidores de guaje rojo.

	Fuente	Valor Coeficiente (B)	Error estándar	t	Pr > t
Regresión de los factores de atributos tangibles y el consumo de guaje.	Intersección	3.792	0.458	8.275	< 0.0001
	FT1	0.156	0.07	2.219	0.028
	FT2	0.000	0.000		
	FT3	0.000	0.000		
Ecuación de regresión (R_{modelo1})		$\hat{Q} = 3.792 + 0.156 * FT1$			
Regresión de los factores de los residuales de los atributos tangibles, más los factores de los valores humanos y el consumo de guaje	Intersección	4.472	0.339	13.191	< 0.0001
	FVH1	0.000	0.000		
	FVH2	0.000	0.000		
	FVH3	0.598	0.271	2.210	0.028
	FVH4	0.000	0.000		
	FVH5	0.000	0.000		
	FVH6	0.618	0.321	1.923	0.056
FVH7	0.000	0.000			
Ecuación de regresión (R_{modelo2})		$\hat{Q} = 4.472 + 0.598 * FVH3 + 0.618 * FVH6$			

Regresión de los factores de los valores humanos y el consumo

Intersección				
	4.472	0.339	13.191	< 0.0001
FVH1	0.000	0.000		
FVH2	0.000	0.000		
FVH3	0.598	0.271	2.210	0.028
FVH4	0.000	0.000		
FVH5	0.000	0.000		
FVH6	0.618	0.321	1.923	0.056
FVH7	0.000	0.000		

Ecuación de regresión (R_{modelo3})

$$\hat{Q} = 4.472 + 0.598 * FVH3 + 0.618 * FVH6$$

El Modelo 3 estimado, incorporó solamente los factores de los valores humanos FVH3 y FVH6 con el consumo como variable respuesta. El modelo de regresión múltiple resultó significativo ($p < 0.05$), con un coeficiente de correlación múltiple $R_{\text{Modelo3}} = 0.204$.

$$\hat{Q} = 4.472 + 0.598 * FVH3 + 0.618 * FVH6$$

En la ruta indirecta los consumidores del guaje rojo consideran importante el significado utilitario, es decir, a los atributos tangibles tales como la presencia de manchas en la vaina y el tamaño de las semillas (Cuadro 4). La ruta indirecta usa los coeficientes de correlación múltiple de los tres modelos de ($R_{\text{Modelo3}} - \Delta R$). El valor de la ruta indirecta es de 0.155, mayor al de la ruta directa.

Cuadro 3. Ruta de influencia directa de los valores humanos sobre el consumo de guaje rojo.

Modelo 1			Modelo 2			
Factores de los atributos tangibles			Factores de los valores humanos + factores de residuales tangibles			
Factores Introducidos	Coefficientes (β)	R múltiple	Factores Introducidos	Coefficientes (β)	R múltiple	Cambio en R
Intersección	3.79	0.155	Intersección	4.472	0.204	0.049
FT1 (Manchas en la vaina)	0.156	F = 4.922 gl = 1, 199 p = 0.028	FVH3	0.598	F = 4.290	z = 0.789
			FVH6	0.618	gl = 1, 199 p = 0.015	p = 0.215
Ecuación de regresión (R_{modelo1})			$\hat{Q} = 3.792 + 0.156 * FT1$			
Ecuación de regresión (R_{modelo2})			$\hat{Q} = 4.472 + 0.598 * FVH3 + 0.618 * FVH6$			

Cuadro 4. Ruta de influencia indirecta de los valores humanos sobre el consumo de guaje rojo.

Modelo 3			
Factores de valores humanos	Coefficientes (β)	R múltiple	Ruta indirecta
FVH3	0.598	0.204	0.155
FVH6	0.618	F = 4.290 gl = 1,199 p = 0.015	

Ruta indirecta: coeficiente de correlación (R) de solo valores humanos menos cambio de R
Ecuación de regresión (R_{modelo3}) $\hat{Q} = 4.472 + 0.598 * FVH3 + 0.618 * FVH6$

Significados psicológicos simbólicos y utilitarios para los consumidores de guaje rojo

Las diferentes categorías de significados otorgados al guaje rojo se muestran en el Cuadro 5. De las 13 categorías, las primeras cinco corresponden a significados psicológicos simbólicos (hedonismo, identidad, añoranza familiar, tradición y emoción); las ocho categorías restantes corresponden a gastronomía, economía, trabajo del campo, consumo, atributos de sabor, atributo de apariencia, salud y conservación, y pertenecen a los significados psicológicos utilitarios.

Cuadro 5. Categorías de palabras mencionadas por los consumidores de San Felipe Otlaltepec, al ver una imagen de guaje rojo.

Categorías	Descripción	Palabras asociadas
Hedonismo	Búsqueda del placer sensorial.	Muy bonito, auténtico, bendición, gusto, regalo, alimento exquisito, delicioso.
Identidad	Reconocimiento del lugar de origen.	San Felipe Otlaltepec, mi pueblo, identidad, región popoloca, nuestras raíces.
Añoranza familiar	Nostalgia o ausencia de algo querido.	Recuerdos, hijos, esperanza para comer, familia.
Tradicición	Costumbres transmitidas a través de generaciones.	Tradicición, tradición gastronómica, costumbre
Emoción	Alteración momentánea del ánimo.	Alegría, nostalgia, felicidad.
Gastronomía	Conjunto de platillos y usos culinarios.	Guaxmole, salsa de guaje, gastronomía típica, comida, platillos por hacer, diversos guisos.
Economía	Satisfacción de necesidades humanas materiales.	Dinero, venderlos, ingreso económico, economía del pueblo, comprarlos
Trabajo del campo	Labores agronómicas.	Seleccionar las semillas para sembrar, cuidados del árbol de guaje, identificar árboles buenos, temporada de guajes, calidad del guaje en cosecha, cortar guajes, campo, terreno, trabajos de campo, clima cálido, naturaleza.
Consumo	Exigencia alimentaria.	Consumirlos como semilla seca, consumo familiar, comerlos asados, comerlos, comida
Atributos de sabor	Aroma, gusto y sensaciones químicas presentes en un alimento.	Picosito, fuerte, sabor especial del guaje.
Atributos de apariencia	Tamaño, color, superficie y movimiento.	Color rojo.
Salud	Condición de una persona que goza bienestar físico, mental y social.	Nutritivo, alimento saludable.
Conservación	Seleccionar semillas en campo para garantizar y mejorar la producción futura.	Selección de guajes, guardar semillas.

Fuente: Elaboración propia con datos de las encuestas a consumidores de guaje rojo.

La Fig. 3 muestra que los significados psicológicos utilitarios (70.7%) fueron significativamente ($p < 0.0001$) mayores que los significados psicológicos simbólicos (29.3%). Las mayores comunalidades de los significados psicológicos utilitarios correspondieron a gastronomía (29.45%) y a economía (22.75%). Las menores comunalidades de los significados fueron trabajo de campo, consumo, atributos de sabor, atributos de apariencia, salud y conservación. Para el caso de los significados psicológicos simbólicos las mayores comunalidades fueron hedonismo (11.47%) e identidad (9.18%) y las de menor porcentaje fueron añoranza familiar (4.78 %), tradición (2.29%) y emoción (1.53%).

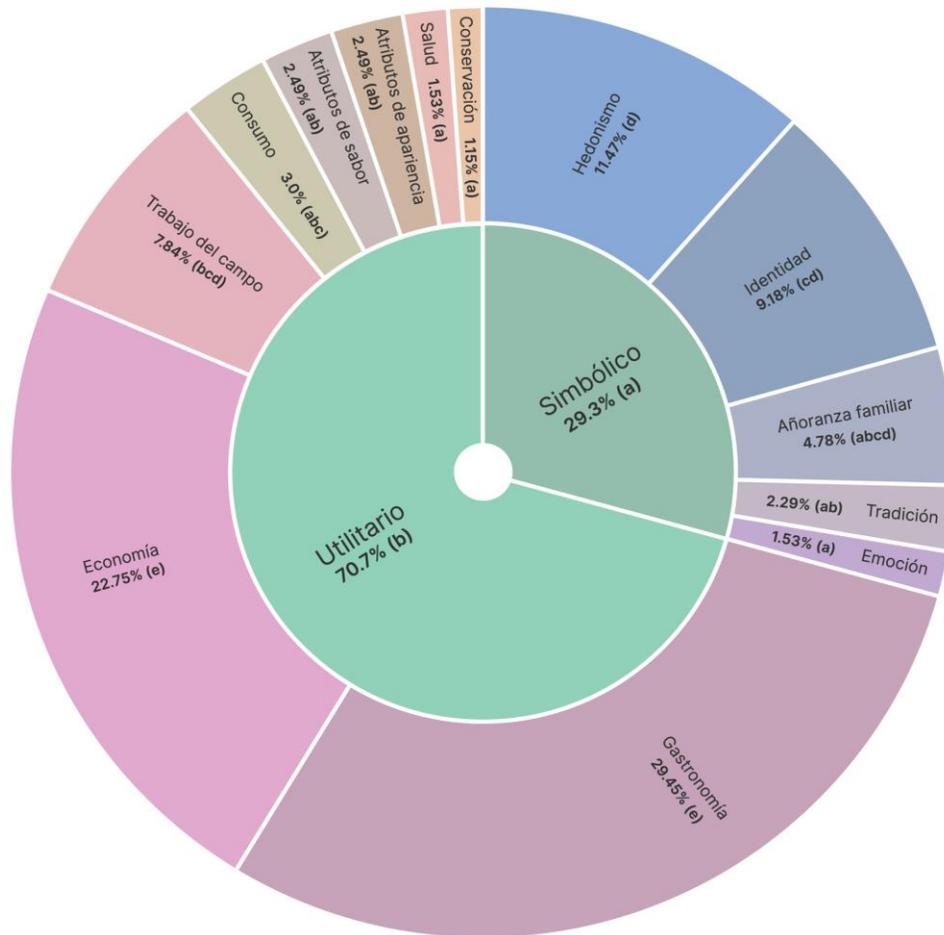


Fig. 3. Porcentajes de las comunalidades de categorías de significados del guaje rojo y sus aportaciones a los significados psicológicos. a,b,c, Porcentajes de comunalidades de significados con diferentes letras son estadísticamente diferentes. Fuente: Elaboración propia con datos de las encuestas a consumidores de guaje rojo.

Las comunalidades de significados, dentro de cada sexo, resultaron significativas ($p < 0.0001$). Tanto para hombres, como para mujeres, las categorías de significados de gastronomía y economía presentaron los mayores porcentajes de comunalidades (Cuadro 6), esto es igual con las comunalidades de la muestra total de consumidores (Fig. 3). Para el caso de las mujeres, las categorías con mayor comunalidad después de gastronomía y economía fueron hedonismo, identidad, añoranza familiar, atributos de sabor, atributos de apariencia y emoción. Las categorías trabajo de campo, hedonismo, identidad, consumo, tradición y atributos de apariencia, fueron las de mayor porcentaje de comunalidad para el sexo masculino. Las

frecuencias observadas en las categorías de significados de los hombres fueron significativamente diferentes ($p < 0.0001$) a las proporciones de las diversas categorías otorgadas por las mujeres.

Cuadro 6. Comunalidades de categorías de significados por sexo para los consumidores de guaje rojo de San Felipe Otlaltepec, Puebla.

Categoría	Mujer (%) _x	Hombre (%) _y
Conservación	0.76a	1.54ab
Tradición	1.9ab	2.69ab
Emoción	2.28ab	0.77a
Consumo	1.90ab	4.23ab
Salud	1.90ab	1.15ab
Atributos de apariencia	2.28ab	2.69ab
Atributos de sabor	3.04abc	1.92ab
Trabajo del campo	5.70abc	10.0b
Identidad	10.65bcd	7.69ab
Hedonismo	13.31cde	9.62b
Gastronomía	29.28e	29.62c
Economía	19.39de	26.15c
Añoranza familiar	7.60abcd	1.92ab

a,b,c,d,e Porcentajes con letras diferentes dentro de las columnas indican diferencia significativa entre categorías ($p < 0.05$).

x, y Porcentajes con letras diferentes entre sexos indican diferencia significativa en los diversos porcentajes de las categorías de mujeres con respecto a la de los hombres ($p < 0.05$).

Fuente: Elaboración propia con datos de las encuestas a consumidores de guaje.

DISCUSIÓN

Rutas de influencia de los valores humanos en el consumo de guaje rojo

La ruta de influencia de los valores humanos en el consumo de guaje fue de tipo indirecta, indicando que en su consumo las personas valoran únicamente los atributos tangibles del guaje, en esta ruta, los consumidores pueden emitir un juicio fragmentado del producto, atributo por atributo, evaluando su significado utilitario, y los valores humanos pueden influir en la importancia de los atributos tangibles que a su vez influyen en la preferencia del producto, (Allen, 2000). Esta ruta indirecta es contraria a lo reportado en flor de alcatraz (Cuéllar-Mandujano *et al.*, 2022), quienes encontraron una ruta directa altamente significativa. La ruta indirecta implica que los oriundos le dan al guaje rojo una función manifiesta y de utilidad, enfocada al producto, no hay expresión afectiva, más bien es evaluativa, con un razonamiento lógico amplio, las fuentes de beneficio son las cualidades intrínsecas del producto y representa un fin (Allen, 2001).

Debido a la escasa información publicada sobre rutas de influencia de los valores humanos en plantas comestibles, algunas coincidencias de los resultados encontrados con otro tipo de productos serán comentados. La ruta indirecta encontrada en esta investigación coincide con los resultados reportados para el caso de consumidores de autos compactos Toyota Corolla (Allen, 2001) y consumidores del queso Chapingo (Hernández-Montes, 2020), queso añejo de Zacazonapan (Torres-Salas & Hernández-Montes, 2021) y queso Bola de Ocosingo (Illescas-Marín *et al.*, 2019); lo contrario fue reportado para consumidores de carne roja en Brasil, quienes presentaron una influencia directa (Allen & Torres, 2006). En los consumidores de

guaje rojo se identificaron los valores de logro, hedonismo, universalismo, benevolencia y conformidad; que representa una coincidencia del 75% de los valores reportados por Lehto *et al.* (2023), en un estudio sobre la influencia de los 10 valores motivacionales de Schwartz en el consumo de cárnicos y lácteos, comparados con sus productos alternativos basados en plantas. Además, no encontraron diferencia en la frecuencia de consumo; sin embargo, encontraron un perfil de valores de consumidores al que llamaron “universalistas modernos” quienes mostraron un menor consumo de carne roja y se caracterizaron por apreciar a los valores motivacionales de benevolencia, universalismo, autodirección y hedonismo. De acuerdo con el modelo de actitud multi-atributos, las actitudes que los consumidores desarrollan sobre un producto, están basadas en varios atributos de éste, nuestras creencias (valores) acerca de esos atributos y las importancias relativas que les asignan (Niosi, 2021). De acuerdo con (Schwartz, 2012) los consumidores pueden presentar similitud en sus valores motivacionales, como en el caso de los consumidores de guaje rojo, estos muestran una actitud hacia el éxito personal, placer y gratificación para sí mismos, pero también consideran el bienestar de las personas, a partir de la tolerancia y protección; restringiendo las acciones que puedan dañar las normas sociales y la convivencia. Es importante señalar que en esa comunidad la comercialización del guaje y su consumo son actividades cotidianas importantes.

Significados para los consumidores de guaje rojo

Los consumidores (hombres y mujeres) de guaje rojo de San Felipe Otlaltepec, identificaron 13 categorías de significados psicológicos a partir de palabras o ideas mencionadas por los mismos. Las comunalidades de significados psicológicos utilitarios del 70.7% coincide con la identificación de una ruta indirecta para el guaje rojo y es opuesto a lo publicado por (Cuéllar-Mandujano *et al.*, 2022) en flor de alcatraz, para la que reportó una ruta directa de influencia de los valores humanos y una comunalidad de significados psicológicos simbólicos del 81.3%. Lo Monaco & Bonetto (2019) reportaron que tales conceptualizaciones corresponden a representaciones sociales definidas como conjuntos de ideas, opiniones, conocimientos y creencias, compartidas por un grupo social acerca de objetos específicos. Durand (2008) considera a las percepciones como procesos sociales de asignación de significados a los elementos del entorno natural y a sus cursos de transformación y/o deterioro. Por otro lado, Martínez y Manzano-García (2016) revelaron la coexistencia de estilos perceptuales asociados con diferentes perfiles de actores sociales, en las percepciones vinculadas con problemáticas ambientales, y con la importancia y conservación de especies.

Aplicando el método de asociación libre de palabras en flores comestibles de Brasil, Alves *et al.*, (2021) reportaron la asociación de actitudes y sentimientos positivos de palabras como ambiente y compra de nuevos alimentos, para rosas e hibiscos. Por otro lado, Allen *et al.* (2008) mencionan que la relación entre la mente, el objeto y la palabra crean significados, que se distinguen entre utilitarios y simbólicos. Para el caso de los consumidores de guaje rojo, el mayor significado se centra en el aprovechamiento gastronómico y económico del producto, que corresponden a significados psicológicos utilitarios. En concordancia con (Torres-Salas *et al.*, 2020) el significado utilitario está ubicado en atributos objetivos y tangibles que las personas perciben a través de sus sentidos y del grado de funcionalidad del producto. Dentro de estos, la categoría que resultó con un porcentaje alto de comunalidad fue la gastronomía (29.45%), esta corresponde a las costumbres y tradiciones forjadas como un sincretismo culinario que forma parte importante de un alto significado cultural e identidad de los consumidores, por lo que “comer es un acto de sobrevivencia, cocinar es un acto cultural” (Jeannete & Baez, 2016). Dentro de las palabras mencionadas en la categoría gastronomía se encuentran guaxmole, salsa de guaje, gastronomía típica, comida, platillos por hacer y diversos guisos, para este caso los consumidores de guaje rojo asociaron sus palabras con los alimentos, que de acuerdo con Blackburn *et al.*, (2018) incluyen temas relacionados con las recetas y enfoques sensoriales. Los consumidores le dan importancia a la gastronomía, a tal grado de definir al guaje rojo como un ingrediente principal para la elaboración de diferentes comidas que han trascendido de generación en generación, conservando la gastronomía tradicional (Good & Corona, 2011). El hecho de que los consumidores le otorguen un significado

gastronómico al guaje rojo implica que éste sigue vivo en su cultura; habrá que evitar que ese hábito culinario envejezca, como ha sido reportado en plantas comestibles del Mediterráneo (Hadjichambis *et al.*, 2008).

El segundo mayor significado para los consumidores de guaje rojo fue economía (22.75%) y para este caso es importante entender la perspectiva económica de este producto tradicional, que lo vincule con la organización social y los valores culturales, para replantear los patrones de consumo en San Felipe Otlaltepec, principalmente en la elección de alimentos menos procesados, más saludables y orgánicos. Es importante subrayar que las culturas alimentarias y los alimentos tradicionales de México, como el guaje rojo, son patrimonio biocultural (Corona de la Peña, 2018). El significado con la menor comunalidad fue la conservación (1.15%), que representa la selección de semillas del guaje rojo en campo, para garantizar y mejorar su producción futura; esta actividad ha sido definida como colecciones vivas de la biodiversidad (Learning from the Past, 2016), que implica adicionalmente conservar algo intangible; la comprensión de cómo desarrollar y cultivar el guaje, que forma parte de las tradiciones culturales de la comunidad. Blancas *et al.*, (2013) comentan que las plantas comestibles en comunidades del Valle de Tehuacán, México, se manejan de acuerdo con el papel que éstas juegan en la subsistencia de los hogares, remarcando como importante al equilibrio entre la disponibilidad del recurso y su demanda. Las plantas comestibles silvestres son signos de la identidad cultural (Kayabaş *et al.*, 2018) y el significado de identidad (9.18%) en el guaje rojo fue el segundo que presentó una mayor comunalidad dentro de los significados psicológicos simbólicos.

Existen conceptos compartidos de significados entre los consumidores de guaje rojo de ambos sexos, principalmente en las categorías con mayor comunalidad, gastronomía y economía. Las diferencias en los porcentajes de comunalidades de significados entre ambos sexos y dentro de ellos indican la importancia de las fuentes cognitivas y afectivas relacionadas con las actitudes alimentarias para cada género (Rappoport *et al.*, 1993).

CONCLUSIONES

La influencia de los valores humanos, de los usuarios de guaje rojo de San Felipe Otlaltepec, sobre la frecuencia de consumo fue de tipo indirecta, los valores humanos mediaron en la importancia de los atributos tangibles, que a su vez influyeron en la preferencia del guaje rojo, congruente con el predominante significado psicológico utilitario; las mayores comunalidades de significados utilitarios correspondieron a gastronomía y economía, y la menor a la conservación del recurso fitogenético. Por lo que, la comunidad ngiwa de San Felipe Otlaltepec conserva dentro de su cultura la tradición de consumir platillos con guaje rojo y éste adicionalmente representa un recurso para la economía de los hogares; en menor medida los encuestados expresaron un significado de conservación del recurso fitogenético.

Los procedimientos surgidos en la mercadotecnia, para identificar rutas de influencia de los valores humanos en el consumo de productos y sus significados, proporcionaron información sobre las percepciones y diversas interpretaciones que consumidores nativos de San Felipe Otlaltepec asignan al guaje rojo, en el contexto de su cultura.

Finalmente, la información obtenida muestra que, como recurso fitogenético, el guaje rojo en San Felipe Otlaltepec continúa siendo importante en la dieta y economía del hogar, como lo ha sido por cientos de años en algunas comunidades indígenas de México.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Consejo Nacional de Humanidades Ciencias y Tecnologías, por la beca 901824 y a los pobladores de San Felipe Otlaltepec por su participación en la encuesta aplicada.

LITERATURA CITADA

- Acosta-Alcolea, G., Arozarena-Daza, N., Vázquez-Moreno, L. L., & Ramos-Bravo, L. (2015). Perception of social performers in the biodiversity management of the Gran Piedra protected natural landscape in Santiago Cuba. *CIENCIA EN SU PC*, 1, 43–58. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=181338814004>.
- Allen, M. W. (2000). The Attribute-mediation and Product Meaning Approaches to the influences of human values on consumer choices. In *Advances in psychology research* (Vol. 1, Issue January). <https://psycnet.apa.org/record/2000-00436-003>
- Allen, M. W. (2001). A practical method for uncovering the direct and indirect relationships between human values and consumer purchases. *Journal of Consumer Marketing*, 18(2), 102–120. <https://doi.org/10.1108/07363760110385983>
- Allen, M. W., Gupta, R., & Monnier, A. (2008). The interactive effect of cultural symbols and human values on taste evaluation. *Journal of Consumer Research*, 35(2), 294–308. <https://doi.org/10.1086/590319>
- Allen, M. W., & Torres, C. v. (2006). Food Symbolism and Consumer Choice in Brazil (Vol. 1). Association for Consumer Research. <http://www.acrwebsite.org/volumes/1000062/la/v1/LA-01http://www.copyright.com/>.
- Álvarez-Hernández, M., Martín-Andrés, A., Herranz-Tejedor, I., & Femia-Marzo, P. (2012). Modelación matemática de fenómenos del medio ambiente y la salud inferencias asintóticas sobre una combinación lineal de k proporciones. *Modelación Matemática de Fenómenos Del Medio Ambiente y La Salud*, 2, 51–63. https://rideca.cs.buap.mx/web/files/articulo_1oiydevBhA7vgO5.pdf
- Alves, L. C., Sant'Anna, V., Biondo, E., & Hoppe, A. (2021). Consumers' perception of edible flowers using free word association. *Research, Society and Development*, 10(4), e18810414011. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14011>
- Arbit, N., Ruby, M., & Rozin, P. (2017). Development and validation of the meaning of food in life questionnaire (MFLQ): Evidence for a new construct to explain eating behavior. *Food Quality and Preference*, 59, 35–45. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2017.02.002>
- Bertoni, M., & López, M. J. (2010). Percepciones sociales ambientales Valores y actitudes hacia la conservación de la Reserva de Biosfera “Parque Atlántico Mar Chiquita”-Argentina. *Estudios y Perspectivas En Turismo*, 19, 835–849. <http://nulan.mdp.edu.ar/id/eprint/384/1/00937.pdf>
- Blackburn, K. G., Yilmaz, G., & Boyd, R. L. (2018). Food for thought: Exploring how people think and talk about food online. *Appetite*, 123, 390–401. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2018.01.022>
- 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), 39. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-9-39>
- Botonaki, A., & Mattas, K. (2010). Revealing the values behind convenience food consumption. *Appetite*, 55(3), 629–638. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.09.017>
- Casas, A. (1992). Etnobotánica y procesos de domesticación en *Leucaena esculenta* (Moc. et Sesse ex A.D.C.) Benth [Universidad Nacional Autónoma de México]. https://ru.dgb.unam.mx/bitstream/DGB_UNAM/TES01000182289/3/0182289.pdf
- Chalmer, B.J. (1986). *Understanding Statistics*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780367813161>

- CONABIO. (2011). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. La Biodiversidad en Puebla: Estudio de Estado. México. Capítulo 5 (pp. 195–241). Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Gobierno del Estado de Puebla, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. https://smadsot.puebla.gob.mx/images/Biodiversidad_en_Puebla2.pdf
- CONAPO. (2020). Índice de marginación por localidad 2020. https://datos.gob.mx/busca/dataset/indice-de-marginacion-carencias-poblacionales-por-localidad-municipio-y-entidad/resource/a6d095ec-ba03-4549-ad4a-367a5941dc07?inner_span=True
- Corona de la Peña, L. E. (2018). Somos lo que comemos. Comida y cultura en México. In M. A. Aguilar, D. M. Vásquez, E. Kartz, & C. M. Hernández (Eds.), *Los chiles que le dan sabor al mundo: contribuciones multidisciplinarias* (1st ed., pp. 1–318). Editions. <https://libros.uv.mx/index.php/UV/catalog/view/FC278/1087/1179-1>
- Cuéllar-Mandujano, A. K., Hernández-Montes, A., & Cruz-Castillo, J. G. (2022). Atributos intangibles en alcatraz blanco (*Zantedeschia aethiopica*(L) K. Spreng): significados psicológicos y estructura de valores humanos para el consumidor. *Nova Scientia*, 14(29), 1–24. http://nova_scientia.delasalle.edu.mx/ojs/index.php/Nova/article/view/3129/1297
- de Almeida, S. R., Rimoli, C. A., & Hanania, V. N. W. (2017). Teoría dos valores de Schwartz aplicada a consumidores brasileiros classe C. *Revista de Administração Da UEG*, 8(1), 67–84. https://www.revista.ueg.br/index.php/revista_administracao/article/view/4621
- Durand, L. (2008). De las percepciones a las perspectivas ambientales: Una reflexión teórica sobre la antropología y la temática ambiental. *Nueva Antropología*, 21(68), 75–87. <https://ru.crim.unam.mx/handle/123456789/951>
- Elliott, R. (1994). Exploring the Symbolic Meaning of Brands. *British Journal of Management*, 5(s1), S13–S19. <https://doi.org/10.1111/j.1467-8551.1994.tb00126.x>
- Good, E. C., & Corona, P. L. (2011). Comida, cultura y modernidad en México. *MEDIATECA INAH*, 1, 346. https://www.researchgate.net/publication/311325346_Estudiando_la_comida_y_la_cultura_mesoamericana_frente_a_la_modernidad
- Guerrero, L., Guàrdia, M. D., Xicola, J., Verbeke, W., Vanhonacker, F., Zakowska-Biemans, S., Sajdakowska, M., Sulmont-Rossé, C., Issanchou, S., Contel, M., Scalvedi, M. L., Granli, B. S., & Hersleth, M. (2009). Consumer-driven definition of traditional food products and innovation in traditional foods. A qualitative cross-cultural study. *Appetite*, 52(2), 345–354. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.11.008>
- Güneş, S., Savran, A., Yavuz, P. M., & Uğur, Ç. (2018). Survey of wild food plants for human consumption in Karaisalı (Adana-Turkey). *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 17(2), 290–298. https://www.academia.edu/71202693/Survey_of_wild_food_plants_for_human_consumption_in_Karaisal%C4%B1_Adana_Turkey
- Gurel, Atay, E., Khale, L. R., Lengler, B. J., & Kim, C. H. (2019). A Comparing and Contrasting of the List of Values and the Schwartz Value Scale. In Gurel-Atay, E. & Khale, L. R. (Eds.), *Consumer Social Values* (pp. 241–252). Routledge. https://www.researchgate.net/publication/333671924_A_Comparing_and_Contrasting_of_the_List_of_Values_and_the_Schwartz_Value_Scale
- Hadjichambis, A. CH., Paraskeva-Hadjichambi, D., Della, A., Elena Giusti, M., De Pasquale, C., Lenzarini, C., Censorii, E., Reyes Gonzales-Tejero, M., Patricia Sanchez-Rojas, C., Ramiro-Gutierrez, J. M., Skoula, M., Johnson, C., Sarpaki, A., Hmamouchi, M., Jorhi, S., El-Demerdash, M., El-Zayat, M., & Pieroni, A. (2008). Wild and semi-domesticated food plant consumption in seven circum-Mediterranean areas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(5), 383–414. <https://doi.org/10.1080/09637480701566495>
- Hauser, M., Jonas, K., & Riemann, R. (2011). Measuring salient food attitudes and food-related values. An elaborated, conflicting and interdependent system. *Appetite*, 57(2), 329–338. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2011.05.322>

- Hayley, A., Zinkiewicz, L., & Hardiman, K. (2015). Values, attitudes, and frequency of meat consumption. Predicting meat-reduced diet in Australians. *Appetite*, 84, 98–106. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2014.10.002>
- Heckathorn, D. D. (2011). Comment: Snowball versus Respondent-Driven Sampling. *Sociological Methodology*, 41(1), 355–366. <https://journals.sagepub.com/doi/10.1111/j.1467-9531.2011.01244.x>
- Hernández-Montes. (2018). Propuesta para identificar simbolismo y valores en consumidores de quesos tradicionales mexicanos: caso queso Chapingo. *Agricultura, Sociedad y Desarrollo*, 15, 399–412. <https://www.revista-asyd.org/index.php/asyd/article/view/853/241>
- Hernández-Montes, A. (2020). Influencia de valores humanos en la aceptación del queso Chapingo y sus significados intangibles de compra. *Agricultura Sociedad y Desarrollo*, 16(4), 497–511. <https://doi.org/10.22231/asyd.v16i4.1283>
- Herrero, C., & Pérez, A. (2014). Values and lifestyles in the adoption of new technologies applying vals scale. Article in *Academy of Marketing Studies Journal*, 18(2), 37–55. <https://www.researchgate.net/publication/287297956>
- Hirschman, E. C. (1986). Humanistic Inquiry in Marketing Research: Philosophy, Method, and Criteria. *Journal of Marketing Research*, 23(3), 237–249. <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/002224378602300304>
- Illescas-Marín, C., Hernández-Montes, A., Estrada-Estrada, E., Murguía-Cozar, R., Espejel-García, A., & Santos-Moreno, A. (2019). Influencia de los valores humanos en el consumo de quesos tradicionales chiapanecos: una comparación de las rutas directa e indirecta. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(4). <https://doi.org/10.22319/rmcp.v10i4.4799>
- INEGI. (2020). Censo de población y vivienda. <https://censo2020.mx/>
- Jeannete, P., & Baez, V. (2016). Tradición Cultural Gastronómica de Puebla. <https://www.researchgate.net/publication/304153363>
- Johnson, D. E. (2000). Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. (2000 Thomson, Ed.; 7th ed.). https://books.google.com.mx/books/about/M%C3%A9todos_multivariados_aplicados_al_an%C3%A1.html?id=4j_tAAAACAAJ&redir_esc=y
- Kayabaş, N., Tümen, G., & Polat Ridvan. (2018). Wild edible plants and their traditional use in the human nutrition in Manyas (Turkey). Article in *Indian Journal of Traditional Knowledge*, 17(2), 299–306. <https://www.researchgate.net/publication/323387955>
- Ladhari, R., & Tchegnina, N. M. (2015). The influence of personal values on Fair Trade consumption. *Journal of Cleaner Production*, 87, 469–477. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2014.10.068>
- Learning from the past. (2016). *Nature Plants*, 2(4), 16057. <https://doi.org/10.1038/nplants.2016.57>
- Lee, P. Y., Lusk, K., Miroso, M., & Oey, I. (2014). The role of personal values in Chinese consumers' food consumption decisions. A case study of healthy drinks. *Appetite*, 73, 95–104. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2013.11.001>
- Lehto, E., Korhonen, K., Muilu, T., & Kontinen, H. (2023). How do values relate to the consumption of meat and dairy products and their plant-based alternatives? *Food Quality and Preference*, 106, 104804. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104804>
- Lindberg, E., Gärling, T., & Montgomery, H. (1989). Belief-value structures as determinants of consumer behaviour: A study of housing preferences and choices. *Journal of Consumer Policy*, 12(2), 119–137. <https://doi.org/10.1007/BF00412067>
- Lo Monaco, G., & Bonetto, E. (2019). Social representations and culture in food studies. *Food Research International*, 115, 474–479. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.10.029>
- Lo Monaco, G., Piermattéo, A., Rateau, P., & Tavani, J. L. (2016). Methods for Studying the Structure of Social Representations: A Critical Review and Agenda for Future Research. *Journal for the Theory of Social Behaviour*, 47(3), 306–331. <https://doi.org/10.1111/jtsb.12124>

- Marascuilo, L. A., & McSweeney, M. (1967). Nonparametric Post Hoc Comparisons for Trend. *Psychological Bulletin*, 67(6), 401–412. <https://doi.org/10.1037/h0020421>
- Martínez, G. J., & Manzano-García, J. (2016). Estilos de percepción de la biodiversidad y su conservación en actores sociales de áreas protegidas de Córdoba. *Revista Del Museo de Antropología*, 9(2), 135–152. <https://doi.org/10.31048/1852.4826.v9.n2.14169>
- Mastretta-Yanes, Alicia., R. Bellon, M., Acevedo, F., Burgeff, C., Piñero, D., & Sarukhán, J. (2019). Un programa para México de conservación y uso de la diversidad genética de las plantas domesticadas y sus parientes silvestres. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 42(4), 321–334. <https://revistafitotecniamexicana.org/documentos/42-4/1a.pdf>
- Niosi, A. (2021). Introduction to consumer behaviour. In Introduction to consumer behaviour (BC Open, p. 365). <https://opentextbc.ca/introconsumerbehaviour/>
- Oliveira, F. G. B. de. (2016). Consumer behavior: the factors of influence. Multidisciplinary Core scientific journal of knowledge. *Multidisciplinary Core Scientific Journal of Knowledge*, 9, 613–630. <https://www.nucleodoconhecimento.com.br/wp-content/uploads/kalins-pdf/singles/consumer-behavior.pdf>
- Páramo, D. (2011). Mundos simbólicos. *Pensamiento & Gestión*, 31, VII–X. <https://www.redalyc.org/pdf/646/64620759001.pdf>
- Peralta-Juárez, I., Gómez-Campos, A., Romero-Castillo, P. A., & Reyes-Dorantes, A. (2017). Uso antropocéntrico del guaje *Leucaena esculenta* (Moc. y Sessé Ex. DC.) Benth, en dos comunidades de la mixteca baja oaxaqueña. *Polibotánica*, 0(43). <https://doi.org/10.18387/polibotanica.43.15>
- 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(1), 59. <https://doi.org/10.1186/s13002-017-0185-4>
- Rappoport, L., Peters, G. R., Downey, R., McCann, T., & Huff-Corzine, L. (1993). Gender and Age Differences in Food Cognition. *Appetite*, 20(1), 33–52. <https://doi.org/10.1006/appe.1993.1004>
- Razali, N. M., & Wah, Y. B. (2011). Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. In *Journal of Statistical Modeling and Analytics* (Vol. 2). <https://www.nrc.gov/docs/ML1714/ML17143A100.pdf>
- Read, T. R. C., & Cressie, N. A. C. (1988). Goodness - of - fit Statistics for discrete Multivariate data. In Springer Serie in Statistics. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4612-4578-0>
- Rokeach M. (1973). The Nature of Human Values. Free Press. <https://doi.org/10.2307/1959882>
- Román-Cortés, N., Del Rosario García-Mateos, M., Castillo-González, A. M., Sahagún-Castellanos, J., & Jiménez-Arellanes, A. (2014). Nutritional components and antioxidants of two species of guaje (*Leucaena* spp.): An underutilized traditional resource. *Revista Chapingo, Serie Horticultura*, 20(2), 157–170. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.07.023>
- Sánchez-Hurtado, J. C. (2014). Caracterización bromatológica y determinación de factores tóxicos naturales de partes comestibles de guaje rojo (*Leucaena esculenta* subsp. *esculenta*) [Universidad Nacional Autónoma de México]. <https://repositorio.unam.mx/contenidos/197568>
- Sánchez-Vega, L. P., Espinoza-Ortega, A., Thomé-Ortiz, H., & Moctezuma-Pérez, S. (2021). Perception of traditional foods in societies in transition: The maize tortilla in Mexico. *Journal of Sensory Studies*, 36(2). <https://doi.org/10.1111/joss.12635>
- Sansanelli, S., Ferri, M., Salinitro, M., & Tassoni, A. (2017). Ethnobotanical survey of wild food plants traditionally collected and consumed in the Middle Agri Valley (Basilicata region, southern Italy). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 13(1), 50. <https://doi.org/10.1186/s13002-017-0177-4>
- Sansanelli, S., & Tassoni, A. (2014). Wild food plants traditionally consumed in the area of Bologna (Emilia Romagna region, Italy). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 10(1), 69. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-10-69>

Recibido:
25/enero/2023

Aceptado:
16/junio/2023

- Schwartz, S. H. (1994). Are There Universal Aspects in the Structure and Contents of Human Values? *Journal of Social Issues*, 50(4), 19–45. <https://doi.org/10.1111/j.1540-4560.1994.tb01196.x>
- Schwartz, S. H. (2012). An Overview of the Schwartz Theory of Basic Values. *Online Readings in Psychology and Culture*, 2(1). <https://doi.org/10.9707/2307-0919.1116>
- SDR. (2007). Cadenas productivas agropecuarias y acuícolas del Estado de Puebla. Secretaría de Desarrollo Rural-Gobierno del Estado de Puebla, Puebla, México. pp. 198-199. <https://www.jimenezmerino.com.mx/libros/CADENASPRODUCTIVASAGROPECUARIASYACUICOLAS.pdf>
- Sharma, R., & Jha, M. (2017). Values influencing sustainable consumption behaviour: Exploring the contextual relationship. *Journal of Business Research*, 76, 77–88. <https://doi.org/10.1016/j.jbusres.2017.03.010>
- Thomson, D. M. H., Crocker, C., & Marketo, C. G. (2010). Linking sensory characteristics to emotions: An example using dark chocolate. *Food Quality and Preference*, 21(8), 1117–1125. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2010.04.011>
- Torres, C. V., & Allen, M. W. (2009). Human values and consumer choice in Australia and Brazil. *Psicologia: Teoria e Pesquisa*, 25(4), 489–497. <https://www.scielo.br/j/ptp/a/58MR4XsJKMdsQ7jW4T5Fd8Q/?format=pdf&lang=en>
- Torres, C. V., & Pérez-Nebra, A. R. (2007). The influence of human values on holiday destination choice in Australia and Brazil. *BAR - Brazilian Administration Review*, 4(3), 63–76. <https://doi.org/10.1590/S1807-76922007000300006>
- Torres-Salas, V., & Hernández-Montes, A. (2021). valores humanos en el consumo del queso añejo de Zacazonapan. *Nova Scientia*, 13(26). <https://doi.org/10.21640/ns.v13i26.2826>
- Torres-Salas, V., Hernández-Montes, A., Pablo-Cano, M., Jáuregui-García, C. Z., Peralta-Aparicio, C., & Espejel-García, A. (2020). Communalities of meanings for Mexican traditional cheeses: Zacazonapan cheese, Quesillo and Poro cheese. *Acta Universitaria*, 30, 1–13. <https://doi.org/10.15174/au.2020.2875>
- Vazquez-García, V. (2008). Gender, ethnicity, and economic status in plant management: Uncultivated edible plants among the Nahuas and Popolucas of Veracruz, Mexico. *Agriculture and Human Values*, 25(1), 65–77. <https://doi.org/10.1007/s10460-007-9093-x>
- Villegas De Gante, A., & Cervantes Escoto, F. (2011). Genuineness and typicity in the revalorization of artisanal Mexican cheeses. *Estudios sociales*, 19(38), 146–164. <https://www.redalyc.org/pdf/417/41719205006.pdf#:~:text=Villegas%20de%20Gante%2C%20Abraham%3B%20Cervantes%20Escoto%2C%20FernandoLa%20genuinidad,de%20Desarrollo%20RegionalHermosillo%2C%20M%C3%A9xico%20C%C3%B3mo%20citar%20el%20art%C3%ADculo>
- Zárate, S. (1997). Domestication of Cultivated *Leucaena* (Leguminosae) in Mexico: The Sixteenth Century Documents. *Economic Botany*, 50(3), 238–250. <https://www.jstor.org/stable/4255964>
- Zárate, S. (1999). Ethnobotany and domestication process of *Leucaena* in Mexico. *Journal of Ethnobiology*, 19(1), 1–23. https://www.researchgate.net/publication/233730395_Ethnobotany_and_domestication_process_of_Leucaena_in_Mexico
- Zárate, S. (2000). The Archaeological Remains of *Leucaena* (Fabaceae) Revised. *Economic Botany*, 54(4), 477–499. <https://www.jstor.org/stable/4256361>

**INTERGENERATIONAL TRANSMISSION
OF TRADITIONAL ECOLOGICAL
KNOWLEDGE ABOUT MEDICINAL
PLANTS IN A RIVERINE COMMUNITY OF
THE BRAZILIAN AMAZON**

**TRANSMISIÓN INTERGENERACIONAL
DEL CONOCIMIENTO ECOLÓGICO
TRADICIONAL SOBRE LAS PLANTAS
MEDICINALES EN UNA COMUNIDAD
RIBEREÑA DE LA AMAZONÍA
BRASILEÑA**

Lima Mota, Markos Rogério; Iani Dias Lauer-Leite y Jaílson Santos de Novais

INTERGENERATIONAL TRANSMISSION OF TRADITIONAL ECOLOGICAL
KNOWLEDGE ABOUT MEDICINAL PLANTS IN A RIVERINE COMMUNITY OF
THE BRAZILIAN AMAZON

TRANSMISIÓN INTERGENERACIONAL DEL CONOCIMIENTO ECOLÓGICO
TRADICIONAL SOBRE LAS PLANTAS MEDICINALES EN UNA COMUNIDAD
RIBEREÑA DE LA AMAZONÍA BRASILEÑA



Intergenerational transmission of traditional ecological knowledge about medicinal plants in a riverine community of the Brazilian Amazon

Transmisión intergeneracional del conocimiento ecológico tradicional sobre las plantas medicinales en una comunidad ribereña de la Amazonía Brasileña

Lima Mota, Markos Rogério;
Iani Dias Lauer-Leite
y Jailson Santos de Novais

INTERGENERATIONAL
TRANSMISSION OF
TRADITIONAL
ECOLOGICAL
KNOWLEDGE ABOUT
MEDICINAL PLANTS IN A
RIVERINE COMMUNITY OF
THE BRAZILIAN AMAZON

TRANSMISIÓN
INTERGENERACIONAL
DEL CONOCIMIENTO
ECOLÓGICO
TRADICIONAL SOBRE LAS
PLANTAS MEDICINALES
EN UNA COMUNIDAD
RIBEREÑA DE LA
AMAZONÍA BRASILEÑA

POLIBOTÁNICA

Instituto Politécnico Nacional

Núm. 56: 311-329. Julio 2023

DOI:
10.18387/polibotanica.56.16

Markos Rogério Lima Mota

*Universidade Federal do Oeste do Pará,
Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais da Amazônia,
UFOPA, R. Vera Paz, Salé, CEP 68040-255, Santarém, Pará, Brazil.*

Iani Dias Lauer-Leite

*Universidade Federal do Oeste do Pará,
Programa de Pós-graduação em Sociedade, Ambiente e Qualidade de Vida,
UFOPA, R. Vera Paz, Salé, CEP 68040-255, Santarém, Pará, Brazil.*

Jailson Santos de Novais / jailson.novais@ufsb.edu.br

*Universidade Federal do Oeste do Pará,
Programa de Pós-graduação em Recursos Naturais da Amazônia
Programa de Pós-graduação em Sociedade, Ambiente e Qualidade de Vida
Universidade Federal do Sul da Bahia,
Programa de Pós-graduação em Ciências e Tecnologias Ambientais, UFSB,
BR 367, Km 10, CEP 45810-000, Porto Seguro, Bahia, Brazil.*

ABSTRACT: Local populations may gradually lose the Traditional Ecological Knowledge (TEK), which mainly affects younger generations. Knowing the variables involved in TEK transmission supports strategies to maintain the local medical systems. Based on this, this article investigates: How does the intergenerational transmission of TEK about medicinal plants occur for a traditional riverine community in the Brazilian Amazon? From an intentional non-probabilistic sampling, 43 local residents in the Vila Franca community (Tapajós–Arapuins Extractive Reserve, Brazilian Amazon) were interviewed, in order to assess the modes of cultural transmission and the transmitters of knowledge. The knowledge about medicinal plants in the interviewed group is equally influenced by vertical, horizontal and oblique transmissions. No significant differences were observed among age categories, as well as between men and women. The categories ‘mothers’ and ‘women who work with natural remedies’ are the main transmitters of knowledge, highlighting the influence of familial and extrafamilial relationships in this process. The data suggest that knowledge about medicinal plants in Vila Franca is influenced by familial and extrafamilial relationships, as through the *Projeto de Remédios Naturais*.

Key words: Cultural transmission; Ethnobotany; Ethnoknowledge; Intergenerational knowledge; Local medical systems.

RESUMEN: Las poblaciones locales pueden perder gradualmente el Conocimiento Ecológico Tradicional (CET), lo que afecta principalmente a las generaciones más jóvenes. Conocer las variables involucradas en la transmisión del CET respalda las estrategias para mantener los sistemas médicos locales. Con base en esto, este artículo investiga: ¿Cómo ocurre la transmisión intergeneracional del CET sobre plantas medicinales para una comunidad ribereña tradicional en la Amazonía brasileña? A partir de un muestreo no probabilístico intencional, fueron entrevistados 43 habitantes locales de la comunidad de Vila Franca (Reserva Extractiva Tapajós–Arapuins,

Amazonia brasileña), con el fin de evaluar los modos de transmisión cultural y los transmisores del conocimiento. El conocimiento sobre las plantas medicinales en el grupo entrevistado está igualmente influenciado por transmisiones verticales, horizontales y oblicuas. No se observaron diferencias significativas entre categorías de edad, así como entre hombres y mujeres. Las categorías ‘madres’ y ‘mujeres que trabajan con remedios naturales’ son las principales transmisoras de conocimiento, destacando la influencia de las relaciones familiares y extrafamiliares en este proceso. Los datos sugieren que el conocimiento sobre las plantas medicinales en Vila Franca está influenciado por las relaciones familiares y extrafamiliares, como a través del *Projeto de Remédios Naturais*.

Palabras clave: Conocimiento intergeneracional; Etnobotánica; Etnoconocimiento; Sistemas médicos locales; Transmisión cultural.

INTRODUCTION

Knowledge about plants in the Amazon is a highly dynamic field, and intercultural exchanges are numerous, even if little documented (Cámara-Leret *et al.*, 2014). Local medicinal plants are commonly used as tinctures, syrups, teas, infusions, fluid extracts or powders to treat illnesses (Couly, 2013; Da Silva *et al.*, 2018; Rodrigues, 2006; Saltos *et al.*, 2016; Sarquis *et al.*, 2019), effectively shared by thousands of people all over the Amazon (Cámara-Leret *et al.*, 2014; Doyle *et al.*, 2017; Roersch, 2010). In fact, cultural factors can be the basis for diffusion of these practices, explaining the structuring of this knowledge in local communities (Menendez-Baceta *et al.*, 2015). Such cultural factors may include, for instance, the curative or cultural significance given to a plant, beliefs, religion, historical context, variations in language, social networks etc. (Menendez-Baceta *et al.*, 2015).

Traditional ecological knowledge (TEK) is defined as “a cumulative body of knowledge, practice, and belief, evolving by adaptive processes and handed down through generations by cultural transmission, about the relationship of living beings (including humans) with one another and with their environment” (Berkes, 2008, p. 7). This knowledge constitutes a dynamic process that, usually, represents an adaptation to changes in environmental and climatic conditions over time (Gómez-Baggethun & Reyes-García, 2013; Pearce *et al.*, 2015), and increases resilience of socio-ecological systems (Hosen *et al.*, 2020; McMillen *et al.*, 2017; Stori *et al.*, 2019).

The mechanisms to maintain traditional knowledge depend on multiple factors, including ecosystem properties, social and economic factors (Paniagua-Zambrana *et al.*, 2016). For example, Mota *et al.* (2021) showed that knowledge of medicinal plants can be influenced by socioeconomic factors, contributing to form different knowledge patterns that affect the cultural transmission of TEK in a riverine community from the Lower Amazon.

In the adaptive processes of traditional and non-traditional communities, knowledge and culture are changeable and dynamic. However, maintaining core knowledge, practices and beliefs that characterize a particular population is fundamental for cultural and ecological resilience, through intergenerational cultural transmission. This is “the process of acquiring of behaviors, attitudes, or technologies through imprinting, conditioning, imitation, active teaching and learning or combinations of these” (Cavalli-Sforza *et al.*, 1982). According to Soldati (2016, p. 236), “cultural transmission allows a person to acquire information throughout their life and from many models in addition to parents”. Although the process of cultural adaptation may preserve core knowledge, practices, and beliefs within a community, it likely entails the loss of certain practices and conceptions that have gradually become less relevant to that group across generations.

Studies on traditional knowledge contribute to understanding biodiversity and to generating conservation and resource management strategies (Cristancho & Vining, 2009; Muller-

Schwarze, 2006). Therefore, these researches may support the discussion of public policies aimed at the conservation of ecological and cultural biodiversity (F. F. de Morais *et al.*, 2009; R. F. de Morais *et al.*, 2015), especially in protected areas (Arruda *et al.*, 2018).

Transmitting and maintaining TEK is essential to preserve cultural and collective identity, to social promotion (Brookfield *et al.*, 2003), and to face up environmental disturbances (Ruiz-Mallén & Corbera, 2013). Beyond a utilitarian view of ethno-biological studies, comprehending TEK and its intergenerational transmission can underpin processes and practices aimed at social justice and recentring knowledge that is often marginalized by dominant and imposing modern models, disconnected from local communities and their cosmovisions (McAlvay *et al.*, 2021), particularly regarding medicinal plants. Most ethnobotanical studies in the Amazon and other domains focus on plant species and their uses (Amorozo & Gély, 1988; Coelho-Ferreira, 2009; Rodrigues, 2006; Vásquez *et al.*, 2014), while the process of knowledge transmission receives little or no attention. In this context, the present work investigates the cultural transmission process of TEK on medicinal plants in a traditional riverine community in the Brazilian Amazon. We hypothesize that different modes of transmission of TEK act in the community, and women are the main local transmitters of TEK.

METHOD

The Vila Franca community

The study was carried out in the Vila Franca community (Figs. 1 and 2), located at the municipality of Santarém, within the Tapajós–Arapuiuns Extractive Reserve (Resex), state of Pará, Northern region of Brazil. Vila Franca is located between the communities Maripá, on the Tapajós River, and Vila do Anã, on the Arapuiuns River (2° 20' 43.64" S, 55° 1' 32.64" W). The Vila Franca community has 74 families, with approximately 298 residents (Projeto Saúde e Alegria, 2012).

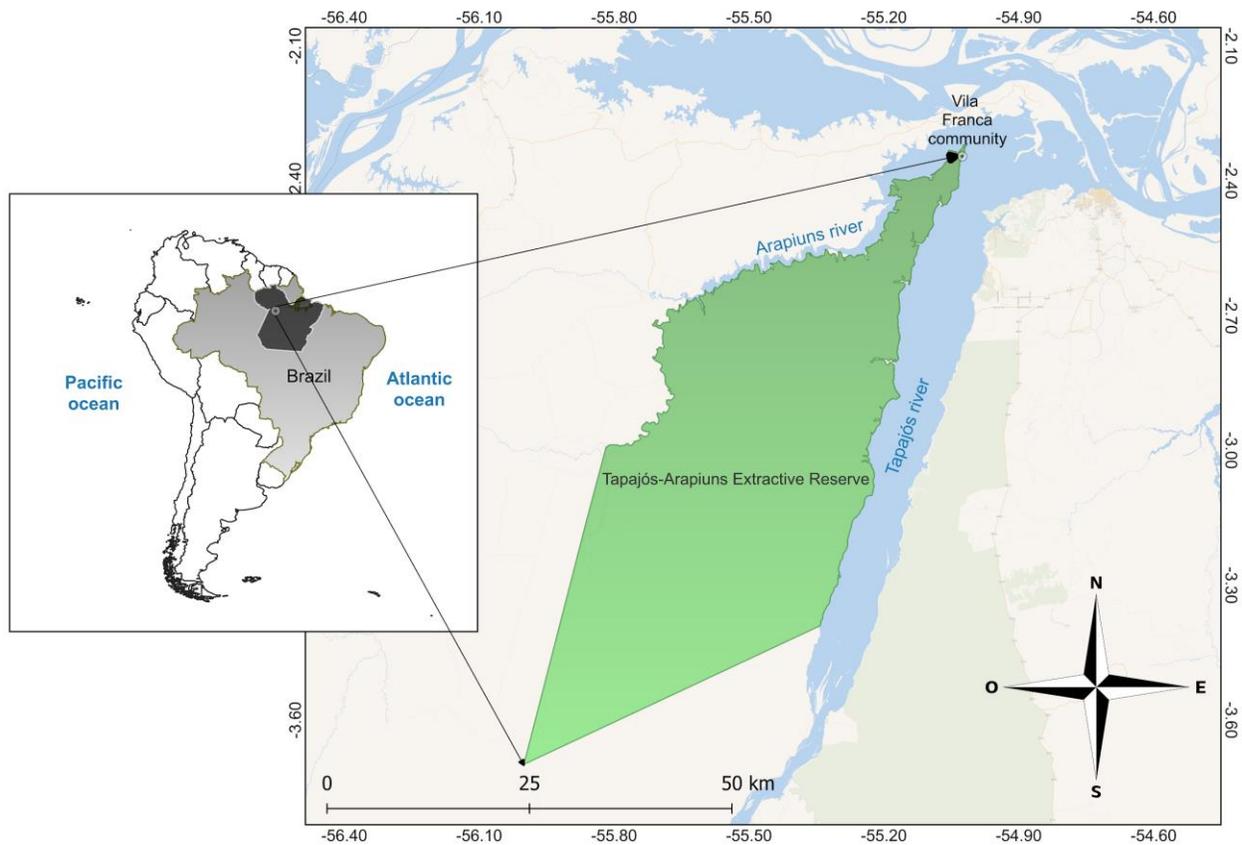


Fig. 1. Location of the riverine community of Vila Franca, Brazilian Amazon.
(Source: Map by Victor Leon R. Araújo).



Fig. 2. Typical dwellings of the riverine community of Vila Franca in the Tapajós–Arapiuns Extractive Reserve, Pará State, Brazil. (Source: Authors' private collection, August, 2019).

The regional climate is mega-thermal continental equatorial of central Amazon. The predominant vegetal typology is the ombrophilous dense forest, in addition to phytophysionomy with savanna patches; still finding *igapós* – permanently flooded areas –, secondary vegetation and pasture areas used in livestock (Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2014).

Culturally, at Vila Franca community, indigenous aspects are still persistent and the tradition of making cassava flour; *tarubá*, *caxará*, *manicuéra* – cassava derivatives –, handicrafts and cultural dances remains (Projeto Saúde e Alegria, 2012). The streets are well demarcated and the houses, which used to be all covered and surrounded by straw and plump wood, with earthen floor, are gradually being replaced by masonry houses (Projeto Saúde e Alegria, 2012). Agroextractivism is the main economic activity of the community. Most of Vila Franca's families survive from jobs such as the production of cassava flour, corn or tapioca starch. The residents sell utilitarian handicrafts, such as *tipiti* – artifact used to press grated cassava –, *paneiro* – handicraft basket –, *tucumã* basket – *Astrocaryum aculeatum* G. Mey. – and biojewels. From the forest, they get hunt meat such as lowland *paca*, agouti, deer, jaguar, monkeys; furthermore, they extract products as straw, firewood, vines, *jutaí-cica* – *Hymenaea courbaril* L. –, mauve, among others.

The region has agroforestry yards, contributing to food security and to the health of community members. Agroforestry yards are rich in medicinal species and maintain the traditional knowledge associated to them. Besides being spaces for growing useful plants, backyards are used to raise small animals and as a space for leisure and socialization of dwellers (Projeto Saúde e Alegria, 2012). In the community, there is a permanent health post with a community health agent and an attendant. This health post provides basic healthcare medications, which are sometimes insufficient to meet local demands. Regularly, the community receives visits from the *Programa Saúde da Família* (Family Health Program) through the Abaré hospital-school vessel (Projeto Saúde e Alegria, 2012), which provides mobile healthcare services to riverside communities in Western Pará. This initiative operates in collaboration with the municipal government, university, and local non-governmental organizations. This significantly reduces the rate of commutes to urban centers, such as Santarém, due to more complex health procedures. In Vila Franca, there are traditional midwives and dwellers who manufacture medicinal natural products, such as *garrafadas* – drinks combining medicinal plants – and teas; they also produce soap and intimate soap, as part of the *Projeto de Remédios Naturais* – Natural Remedies Project (Projeto Saúde e Alegria, 2012). As an initiative of the *Pastoral da Saúde* (Health Pastoral), affiliated with the Catholic Church, the program features a medicinal plant nursery within the community, primarily overseen by local women. Through workshops, these women learned the exact dosages required to prepare each medication according to the needs presented by the community members (Tokarnia, 2016).

Data gathering

The data were collected from an intentional non-probabilistic sampling, by which 43 informants were indicated using the Snowball sampling technique (Bailey, 1994). Thus, a first specialist recognized by the community leader indicates one or more people whom he/she believes also possess knowledge about medicinal plants, and so on, until saturating all the holders of that knowledge in the community (Albuquerque *et al.*, 2010).

Initially, we performed the Ecological Insertion in the community (Milles & Huberman, 1984) from June 2017 to April 2018, in order to establish proximal processes between the main researcher and the community leadership to present the project, obtain consent to work in the area, as well as to bring closer the researchers to interlocutors of the study.

From May to November 2018, semi-structured interviews (Albuquerque *et al.*, 2010) were conducted with the people appointed. People over 18 years old who live in the same house of the informants appointed and who were present during the interviewer's visit were also

interviewed. The interview script consisted of open questions related to the process of knowledge transmission about medicinal plants, seeking to understand questions on How and From Whom the interviewee learned information about such plants. The main question addressed during the dialogue with each interviewee was: "How did you acquire knowledge about medicinal plants?" Through occasional interventions by the interviewer to sustain the conversation, this pivotal inquiry yielded the primary data presented and discussed here. Although the present study did not intend to list the plants and their uses in the community — a total of 312 plants were indicated by interviewed dwellers —, these data will comprise a further publication from the project that includes this article.

Forty-three people were interviewed, being 25 women and 18 men, between 18 and 80 years old, representing 14.42% of the community population (Table 1). For purposes of analysis, and taking into account age groups approximate to those ranges adopted by international entities (OECD, Unicef etc.), three age categories were distinguished: youths (18–29 years; $M = 22.64$; $SD = 3.50$), adult (30–59 years; $M = 49.13$; $SD = 8.53$) and elderly (≥ 60 years; $M = 70.06$; $SD = 7.47$). Thus, the sample was composed of 11 youths, 15 adults and 17 elderly people. Most of the interviewees have a low level of formal education, a monthly family income below R\$ 1,000 Brazilian Reais – the minimum wage in Brazil at the time of data collection was R\$ 954.00 – and have been residing in the Vila Franca community for 30 years or more (Table 1).

Table 1. Socioeconomic profile of the research participants in the Vila Franca community, Brazil.

Socioeconomic Variable	N (%)
<i>Gender</i>	
Man	18 (41.86)
Woman	25 (58.14)
<i>Age (Category, Year Range)</i>	
Youths, 18–29	11 (25.58)
Adult, 30–59	15 (34.88)
Elderly, ≥ 60	17 (39.54)
<i>Highest Level of Formal Education</i>	
Elementary Education, incomplete	25 (58.14)
Elementary Education, complete	8 (18.60)
High School	9 (20.93)
Higher Education	1 (2.33)
<i>Monthly Family Income (BRL)</i>	
< 400.00	15 (34.88)
400.00–1,000.00	24 (55.82)
> 1,000.00	4 (9.30)
<i>Length of Residence in the Community (years)</i>	
< 10	3 (6.98)
10–30	14 (32.56)
31–50	11 (25.58)
> 50	15 (34.88)

Data analysis

In order to identify and characterize the cultural transmission process of TEK in the community, the following variables were categorized: transmission modes for the community in general; transmission modes between genders; transmission modes between age categories; and, finally, who were the main transmitters.

This research adopts the cultural transmission model proposed by Cavalli-Sforza and Feldman (1981), which is identified in three fundamental modes: vertical (from parents to their progeny, occurring within the same genealogy), horizontal (among any individuals from a same generation, with limited kinship relationship) and oblique (between members of a generation to members of the subsequent or previous generation, except their children or direct ancestors – teachers, healers, shaman). Relative frequencies (%) of interviewed' responses for all categories are provided. The chi-square tests for adherence and independence test were used to analyze the frequency of the categories ($P < 0.05$) (Conover, 1999). Given that the statistical analysis relied on data obtained through Snowball sampling, we emphasize that the significant differences belong exclusively to the group of participants. Therefore, the results are not generalizable beyond the sample.

Ethics approval

The research was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and its protocol was approved by the Ethics Committee of the Pará State University (CEP–UEPA), Campus XII – Tapajós, Santarém, PA, Brazil (CAAE 86066918.2.0000.5168, April 16th, 2018). All interlocutors were informed about the research goals and gave their informed consent for inclusion and publication before they participated in the study.

The Chico Mendes Institute for Biodiversity Conservation (ICMBio, Brazil) authorized access to the Tapajós–Arapiuns Extractivist Reserve for scientific purposes (code 62993-1, April 30th, 2018). The research was also registered in the National System of Genetic Resource Management and Associated Traditional Knowledge – SisGen, Brazil (code AC3A561, Nov 5th, 2018).

RESULTS

Cultural transmission modes of TEK about medicinal plants

Community members acquire TEK on medicinal plants mainly from parents, that is, vertical mode of cultural transmission (42.86%) was the main one observed in the community (Fig. 3). Oblique transmission represents 35.71% of the responses, demonstrating that the interlocutors also learn from members of a previous generation, excepting their direct ancestors, such as aunt, mother-in-law, and teacher or other older individuals in general. Furthermore, 21.43% of the respondents acquire this knowledge from other individuals of the same generation – horizontal transmission. The three modes of transmission have a significant role in the transmission of TEK on medicinal plants in the interviewed group, as no significant differences were revealed ($\chi^2 = 4$; $P = 0.353$) when compared one to each other.

Vertical, horizontal and oblique transmissions demonstrate to be equivalent in the acquisition of TEK for the three age categories. When such modes of cultural transmission among the age categories are analyzed (Fig. 4), no significant differences are registered ($\chi^2 = 51.832$; $P = 0.269$). For youth, oblique transmission (50%) is the main source of knowledge, followed by vertical transmission (42.86%). Horizontal transmission (7.14%) for this age group is less important in the cultural transmission process. It demonstrates that family members tend to influence younger people from the interviewed group more in the knowledge acquisition process.

For adults, vertical (36.84%) and horizontal (36.84%) transmissions are equivalent in the knowledge acquisition process. Meanwhile, oblique transmission prevailed in 26.32 % of the responses. For the elderly, the main source of knowledge came from vertical transmission (47.83%), followed by oblique (34.78%) and horizontal (17.39%) transmissions.

A proportional relation to the cultural transmission modes between women and men ($\chi^2 = 0.23957$; $P = 0.887$, Fig. 5) was observed. Women and men acquire TEK on medicinal plants mainly by vertical transmission (41.18% and 45.45%, respectively), followed by oblique transmission – 35.29% for women and 36.36% for men. Meanwhile, horizontal transmission seems to be less representative – 23.53% for women and 18.18% for men.

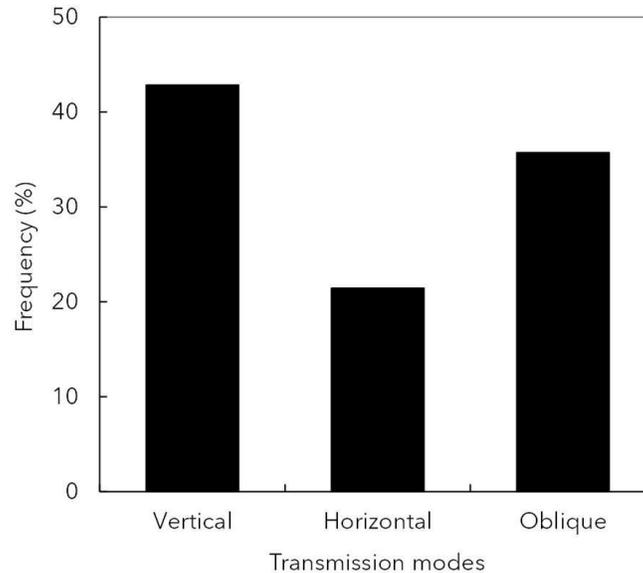


Fig. 3. Cultural transmission modes of Traditional Ecological Knowledge about medicinal plants in Vila Franca.

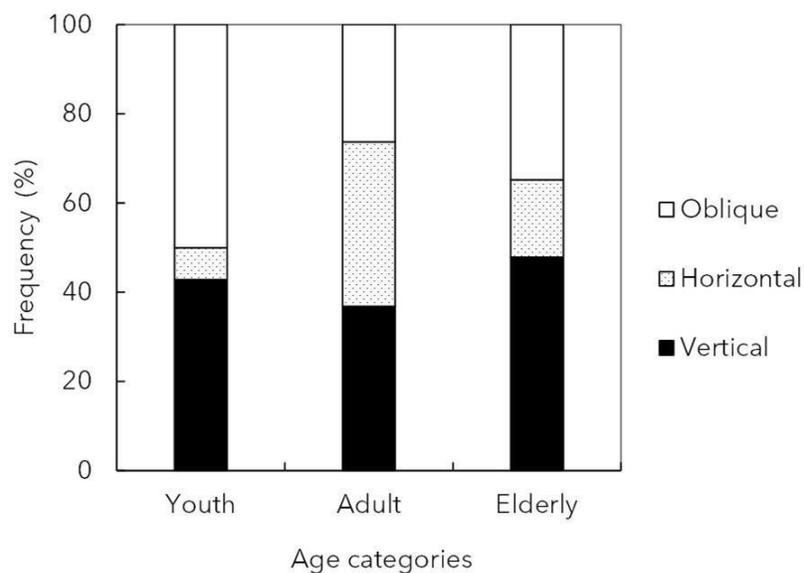


Fig. 4. Cultural transmission modes of Traditional Ecological Knowledge among the age categories in Vila Franca.

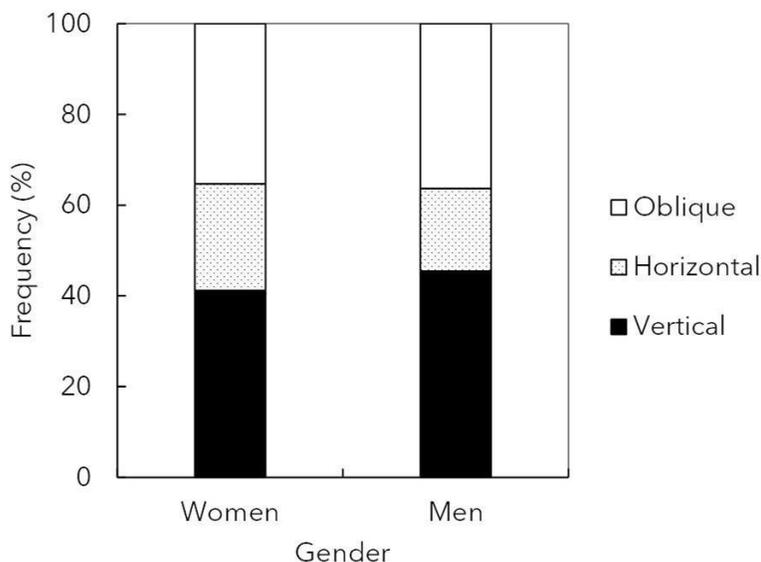


Fig. 5. Cultural transmission modes of Traditional Ecological Knowledge among the gender categories in Vila Franca.

Transmitters of TEK about medicinal plants

For the community in general, the interviewed dwellers mentioned different people related to the transmission of TEK involving medicinal plants, both in familial as in extrafamilial spheres (Fig. 6). Significant differences are registered when comparing the frequencies of the mentioned transmitters ($\chi^2 = 58.016$; $P < 0.01$). 37,71% cited both parents separately, as transmitters of this type of knowledge. However, mothers proved to be the main transmitters in the community, according to 31.15% of the interviewed residents. Then, the main transmitters are the women who participate in the *Projeto de Remédios Naturais* in the community (16.39%).

In the familial context, parents (3.28%), grandparents (3.28%) and aunts (3.28%) were mentioned as transmitters of TEK. 19.67% mentioned, separately, other family members, such as grandfather, grandmother, mother-in-law and wife. In the extrafamilial context, 16.39 % of the interviewees cited women from the *Projeto de Remédios Naturais*. The interlocutors also mentioned the teacher (4.92%) and the elderly category, except those belonging to the family (11.48%). Mothers are the main transmitters of TEK between youth (29.41%), adults (30%) and the elderly (33.33%) (Fig. 7).

Statistically comparing the transmitters mentioned by the youth, no significant differences were registered ($\chi^2 = 7$; $P = 0.429$). For youth, besides mothers (29.41% of responses), the categories grandmother (17.65%) and teacher (17.65%) were also representative, showing that they are important transmitters for this age group. The adults interviewed, as well as the young people, mentioned mothers (30%) as the main transmitters of TEK, followed by women from the *Projeto de Remédios Naturais* (25%). No significant differences were recorded in this group ($\chi^2 = 10.4$; $P = 0.167$). Finally, the elderly also mentioned mothers (33.33%) as the main sources of knowledge, followed by the elderly category (20.83%) and women from the *Projeto de Remédios Naturais* (16.67%), without significant differences ($\chi^2 = 11$; $P = 0.884$).

Regarding the cultural transmission of TEK on medicinal plants between genders (Fig. 8), when we compare the transmitters mentioned by men, statistically significant differences were observed ($\chi^2 = 20$; $P = 0.001$), as well as among the transmitters categorized by women ($\chi^2 = 24$; $P = 0.004$).

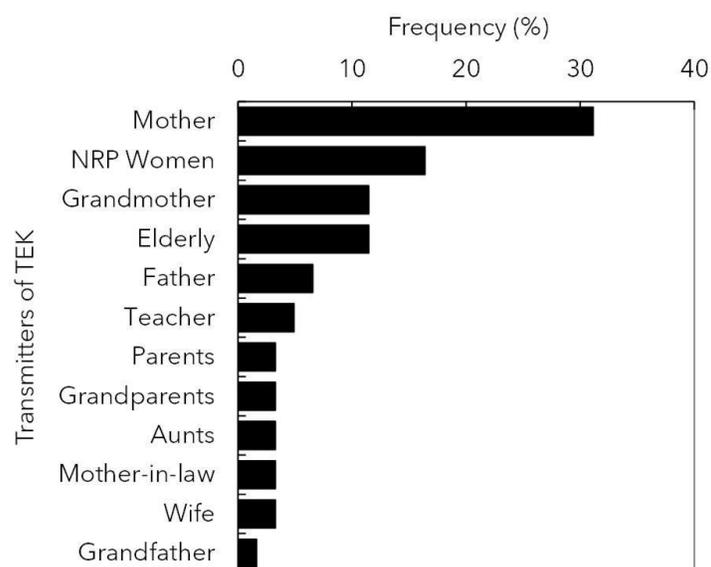


Fig. 6. Transmitters of Traditional Ecological Knowledge (TEK) on medicinal plants at Vila Franca. Caption: NRP: Natural Remedies Project (*Projeto de Remédios Naturais*). TEK: Traditional Ecological Knowledge.

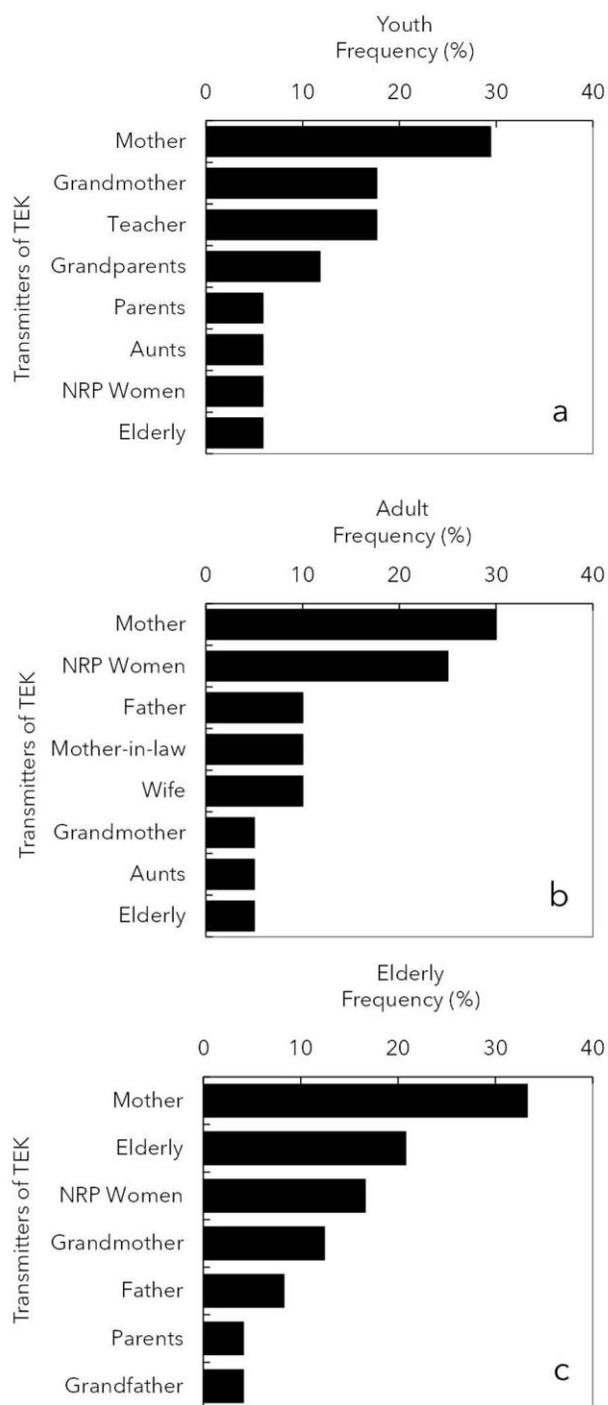


Fig. 7. Transmitters of Traditional Ecological Knowledge (TEK) on medicinal plants for the youth (A), adult (B) and elderly (C) age categories in Vila Franca. Caption: NRP: Natural Remedies Project (*Projeto de Remédios Naturais*). TEK: Traditional Ecological Knowledge.

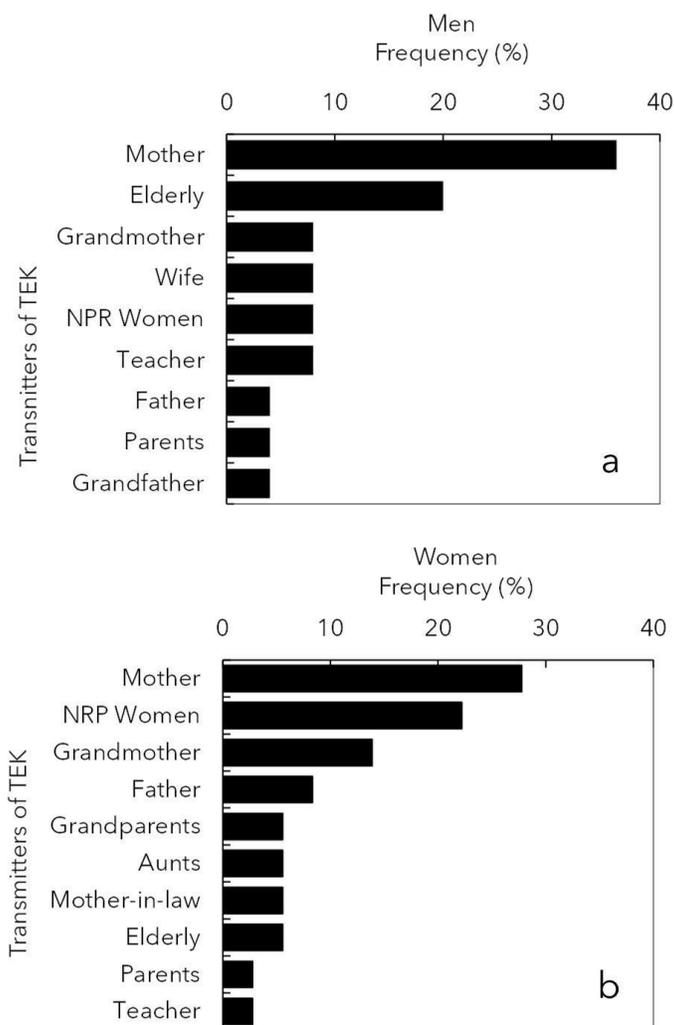


Fig. 8. Transmitters of Traditional Ecological Knowledge (TEK) on medicinal plants between men (A) and women (B) in Vila Franca. Caption: NRP: Natural Remedies Project (*Projeto de Remédios Naturais*). TEK: Traditional Ecological Knowledge.

The men interviewed mentioned mothers (36%) as the main transmitters of knowledge in the community, followed by people from older generations who are not relatives, the elderly (20%). Other transmitters were mentioned, such as father, parents and grandfather, ranging from 4% to 8% among men. The women interviewed also have mothers (27.78%) as the main transmitters; however, the women from the *Projeto de Remédios Naturais* (22.22%) are the second transmitter. The grandmother category (13.89%) also proved to be important in cultural transmission to women.

DISCUSSION

The three modes of transmission disseminate traditional knowledge on medicinal plants in the interviewed group from the Vila Franca community, which demonstrate equivalent importance in possibly maintaining this knowledge. Calvet-Mir *et al.* (2016) observed equal proportions between vertical and horizontal transmission modes to the sources of knowledge acquisition on

medicinal plants in four rural villages. Copying from peers is advantageous, in certain situations, because it allows acquiring apparently useful information, freeing the person from individual production of knowledge, a highly expensive alternative process (Laland, 2004; Mesoudi, 2011). However, we consider that everyday innovations can be driven by both internal and external factors within a community, such as resource scarcity, restrictive costs, among others. The participants in this study possess recognized knowledge about medicinal plants, according to community members. This prevents us from asserting that a lack of innovation is not the norm among the general population. Additionally, Cavalli-Sforza and Feldman (1981) discuss the probability that a person can adopt a trait as a result of its contacts with other individuals of the social group. The interviewed dwellers in Vila Franca acquire their TEK about medicinal plants from different social sources.

Regarding the interviewed sample in Vila Franca, TEK is most often transmitted vertically through the family, mainly by mothers. In this family aspect, mothers play a predominant role as transmitters. Similarly, Eyssartier *et al.* (2008) also reported mothers as the main sources of transmission in two communities in northwestern of Argentine Patagonia. In a semiarid region in Minas Gerais, Soldati *et al.* (2015, p. 1) also observed mothers as "the most common models (knowledge sources)" in knowledge vertical transmission strategy.

Several researchers have shown that TEK is transmitted mainly by the vertical mode, since parental generations play a very important role in disseminating knowledge, since the proportion of knowledge transmitted within this group is higher and contact is more frequent (Calvet-Mir *et al.*, 2016; Haselmair *et al.*, 2014; Hewlett *et al.*, 2002; Turreira-García *et al.*, 2015). However, Brito *et al.* (2019) suggest that other factors than just vertical transmission may favor cultural transmission between relatives of the same generation.

Apart from family members acting as transmitters, the extrafamilial sphere was also important. In addition to family relationships, adults tend to be influenced by other people of the same generation, such as friends, neighbors or other community members who exchange knowledge related to medicinal plants, on a daily basis. Here, the horizontal transmission by women who manufacture natural remedies based on medicinal plants deserves to be highlighted in the Vila Franca community.

Other studies emphasize women's participation in projects and practices that aims natural resources management, due to their high knowledge of the theme (Bingeman, 2001). Therefore, the present work emphasizes that learning continues into adulthood through horizontal transmission. This shows that extrafamilial contributions are important for the interviewed participants from Vila Franca, in addition to indicate that TEK is acquired within the family, at the first moment, and subsequently it goes through transformations, as a consequence of relations with other local residents, who exchange knowledge and practices on the use of medicinal plants on a daily basis. This knowledge acquired horizontally may or may not agree with what they learned from their families. Horizontal transmission has also been observed in other communities, such as those surveyed by Calvet-Mir *et al.* (2016).

The knowledge acquired by the oldest, through older generations, by means of oblique transmission was also important for the interviewed local residents. The elderly people in the community end up limiting the exchange of knowledge with people from the same generation by staying longer in their homes. This results in less horizontal transmission observed in this group. Generally, older dwellers have greater knowledge about local biodiversity.

Women – mother, grandmother, aunts, mother-in-law, wife, and *Projeto de Remédios Naturais* women – have been described by the interviewees as the main transmitters of TEK in the community. These results demonstrate the closeness of relationships among women, resulting in a greater flow of TEK among them. This occurs both within the family and in the community relations, such as, for example, in the work with natural remedies performed by women.

According to the literature, women have been described as having more knowledge than men in relation to some natural resources, as in the case of medicinal and food plants (Torres-Avilez *et al.*, 2014). Additionally, Costa *et al.* (2021) found greater network connection and information sharing among women in a Brazilian suburban community. The authors assume that several central individuals probably "provide the cohesion and maintenance of TEK in the community" (Costa *et al.*, 2021, p. 1). From the interviewer dwellers, the data indicate a trend in which women contribute to transmitting and preserving TEK within the family context through vertical transmission, as well as in the daily activities of the community.

This can be explained through the existing local labor division. Women have greater contact with medicinal plants due to the care provided by them in cases of illness in the family and in the management of these resources present in the backyards of their homes. Historically, medicinal knowledge and practices belonging to groups deemed subordinate, such as indigenous peoples and *quilombolas*, have been discredited as part of a hegemonic colonial process that seeks to undermine local traditional knowledge in favor of dominant exogenous models. This becomes more pronounced when it comes to the gender perspective for women and represents a threat to the preservation of cultural identity and the knowledge held by this group, in addition to ignoring that women may contribute to the self-management of local medical and therapeutic systems (Cano Contreras & Salazar Guarán, 2022). In this study, we assume that the *Projeto de Remédios Naturais* can favor or amplify the TEK in the Vila Franca community, grounded in women's local knowledge. That project constitutes an interesting object for further ethnobiological research.

According to Calvet-Mir *et al.* (2016, p. 567), "simultaneous reliance on different modes of transmission (i.e., vertical, oblique, horizontal, and retroactive) ensures flexibility in multiple learning pathways, giving the opportunity to shift learning from one source to another, according to the need". Additionally, this dependency expands the basis of collective knowledge and increases the capacity to innovate and maintain different knowledge systems and structures of interpretation. For future research, qualitative evidence may provide a more comprehensive understanding of the importance of each type of transmission and age group dynamics in the local cultural transmission modes of TEK concerning medicinal plants in Vila Franca.

CONCLUSIONS

The findings point out the transmission process of TEK on medicinal plants in the Vila Franca community, specifically from the perspective of the interviewed group in this study. In this context, knowledge about medicinal plants is present and it seems to be influenced by familial and extrafamilial relationships, as through the *Projeto de Remédios Naturais*. However, we refrain from stating that statistically non-significant differences in certain analyses explicitly indicate their nonexistence, as they may stem from the small sample size resulting from the Snowball technique.

The different paths through which the information about medicinal plants is transmitted contribute to making local socio-ecological systems more resilient. Therefore, supporting and promoting the maintenance of these practices seems to be a priority, including vegetable gardens and other types of activities, informally and officially. Medicinal plants comprise a heterogeneous group because of the diseases they treat and who treats them, the places where they grow, their biological type, the fact that they are planted or spontaneous, domesticated or wild, etc. Therefore, further ethnographic studies will most likely reveal nuances of which categories of these medicinal plants are being lost or transformed under the influence of factors such as urbanization, schooling, trade, and changes in interpersonal networks.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are deeply grateful to the community of Vila Franca for participating in the research, especially to M. C. B. Corrêa, M. N. A. Assunção and J. J. S. Conceição for their kind hospitality and help throughout all the fieldwork. This research was funded by the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq–Brazil), grant number 131371/2017-7 awarded to the first author. We are also indebted to both anonymous reviewers who provided valuable suggestions regarding this manuscript through the *Polibotánica* peer review process.

LITERATURA CITADA

- Albuquerque, U. P., Lucena, R. F. P., & Cunha, L. V. F. C. (2010). *Métodos e Técnicas na Pesquisa Etnobiológica e Etnoecológica*. Nupeca.
- Amorozo, M. C. M., & Gély, A. (1988). Uso de plantas medicinais por caboclos do Baixo Amazonas, Barcarena, PA, Brasil. *Boletim Do Museu Paraense Emílio Goeldi. Série Botânica*, 4, 47–131. <https://repositorio.museu-goeldi.br/handle/mgoeldi/310>
- Arruda, J. C. de, Silva, C. J. da, Sander, N. L., & Pulido, M. T. (2018). Conhecimento ecológico tradicional da ictiofauna pelos quilombolas no Alto Guaporé, Mato Grosso, Amazônia meridional, Brasil. *Boletim Do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas*, 13(2), 315–329. <https://doi.org/10.1590/1981.81222018000200004>
- Bailey, K. (1994). *Methods of Social Research* (4th ed.). The Free Press.
- Berkes, F. (2008). *Sacred Ecology* (2nd ed.). Routledge.
- Bingeman, K. (2001). Women's participation in forest management decisions in the Upper Kullu valley, Himachal Pradesh, India. *Himalaya*, 21, 53–61. <https://core.ac.uk/download/pdf/46723128.pdf>
- Brito, C. de C. de, Ferreira-Júnior, W. S., Albuquerque, U. P., Ramos, M. A., Silva, T. C. da, Costa-Neto, E. M., & Medeiros, P. M. de. (2019). The role of kinship in knowledge about medicinal plants: evidence for context-dependent model-based biases in cultural transmission? *Acta Botanica Brasilica*, 33(2), 370–375. <https://doi.org/10.1590/0102-33062018abb0340>
- Brookfield, H., Parsons, H., & Brookfield, M. (2003). *Agrodiversity: Learning from Farmers across the World*. United Nations University Press.
- Calvet-Mir, L., Riu-Bosoms, C., González-Puente, M., Ruiz-Mallén, I., Reyes-García, V., & Molina, J. L. (2016). The transmission of home garden knowledge: safeguarding biocultural diversity and enhancing social-ecological resilience. *Society & Natural Resources*, 29(5), 556–571. <https://doi.org/10.1080/08941920.2015.1094711>
- Cámara-Leret, R., Paniagua-Zambrana, N., Svenning, J.-C., Balslev, H., & Macía, M. J. (2014). Geospatial patterns in traditional knowledge serve in assessing intellectual property rights and benefit-sharing in northwest South America. *Journal of Ethnopharmacology*, 158, 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.10.009>
- Cano Contreras, E. J., & Salazar Guarán, G. F. (2022). Diálogo de saberes para la revitalización endógena: mujeres y Medicina Maya Kaqchikel en Guatemala. In J. Rosero & A. Cerón (Eds.), *Aproximaciones culturales: una forma de ver y entender la naturaleza* (pp. 25–47). Corporación Universitaria Minuto de Dios - UNIMINUTO. <https://doi.org/10.26620/uniminuto/978-958-763-568-3.cap.1>
- Cavalli-Sforza, L. L., & Feldman, M. W. (1981). *Cultural Transmission and Evolution: A Quantitative Approach*. Princeton University Press.
- Cavalli-Sforza, L. L., Feldman, M. W., Chen, K. H., & Dornbusch, S. M. (1982). Theory and observation in cultural transmission. *Science*, 218(4567), 19–27. <https://doi.org/10.1126/science.7123211>
- Coelho-Ferreira, M. (2009). Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). *Journal of Ethnopharmacology*, 126(1), 159–175. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.07.016>

- Conover, W. J. (1999). *Practical Nonparametric Statistics*. John Wiley & Sons.
- Costa, F. V., Guimarães, M. F. M., & Messias, M. C. T. B. (2021). Gender differences in traditional knowledge of useful plants in a Brazilian community. *PLOS ONE*, *16*(7), e0253820. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0253820>
- Couly, C. (2013). Perception des végétaux chez les Ribeirinhos d'Amazonie brésilienne. *Revue d'ethnoécologie*, *3*. <https://doi.org/10.4000/ethnoecologie.1420>
- Cristancho, S., & Vining, J. (2009). Perceived intergenerational differences in the transmission of traditional ecological knowledge (TEK) in two indigenous groups from Colombia and Guatemala. *Culture & Psychology*, *15*(2), 229–254. <https://doi.org/10.1177/1354067X09102892>
- Da Silva, B. J. M., Hage, A. A. P., Silva, E. O., & Rodrigues, A. P. D. (2018). Medicinal plants from the Brazilian Amazonian region and their antileishmanial activity: a review. *Journal of Integrative Medicine*, *16*(4), 211–222. <https://doi.org/10.1016/j.joim.2018.04.004>
- Doyle, B. J., Asiala, C. M., & Fernández, D. M. (2017). Relative importance and knowledge distribution of medicinal plants in a Kichwa community in the Ecuadorian Amazon. *Ethnobiology Letters*, *8*(1). <https://doi.org/10.14237/ebl.8.1.2017.777>
- Eyssartier, C., Ladio, A. H., & Lozada, M. (2008). Cultural transmission of traditional knowledge in two populations of North-western Patagonia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, *4*(1), 25. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-4-25>
- Gómez-Baggethun, E., & Reyes-García, V. (2013). Reinterpreting change in traditional ecological knowledge. *Human Ecology*, *41*(4), 643–647. <https://doi.org/10.1007/s10745-013-9577-9>
- Haselmair, R., Pirker, H., Kuhn, E., & Vogl, C. R. (2014). Personal networks: a tool for gaining insight into the transmission of knowledge about food and medicinal plants among Tyrolean (Austrian) migrants in Australia, Brazil and Peru. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, *10*(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-10-1>
- Hewlett, B. S., De Silvestri, A., & Guglielmino, C. R. (2002). Semes and genes in Africa. *Current Anthropology*, *43*(2), 313–321. <https://doi.org/10.1086/339379>
- Hosen, N., Nakamura, H., & Hamzah, A. (2020). Adaptation to climate change: Does traditional ecological knowledge hold the key? *Sustainability*, *12*(2), 676. <https://doi.org/10.3390/su12020676>
- Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. (2014). *Plano de Manejo da Reserva Extrativista Tapajós-Arapiuns*. https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/biodiversidade/unidade-de-conservacao/unidades-de-biomas/amazonia/lista-de-ucs/resex-tapajos/arquivos/resex_tapajos_arapiuns_pm_voll.pdf
- Laland, K. N. (2004). Social learning strategies. *Animal Learning & Behavior*, *32*(1), 4–14. <https://doi.org/10.3758/BF03196002>
- McAlvay, A. C., Armstrong, C. G., Baker, J., Elk, L. B., Bosco, S., Hanazaki, N., Joseph, L., Martínez-Cruz, T. E., Nesbitt, M., Palmer, M. A., Priprá de Almeida, W. C., Anderson, J., Asfaw, Z., Borokini, I. T., Cano-Contreras, E. J., Hoyte, S., Hudson, M., Ladio, A. H., Odone, G., ... Vandebroek, I. (2021). Ethnobiology Phase VI: Decolonizing Institutions, Projects, and Scholarship. *Journal of Ethnobiology*, *41*(2). <https://doi.org/10.2993/0278-0771-41.2.170>
- McMillen, H., Ticktin, T., & Springer, H. K. (2017). The future is behind us: traditional ecological knowledge and resilience over time on Hawai'i Island. *Regional Environmental Change*, *17*(2), 579–592. <https://doi.org/10.1007/s10113-016-1032-1>
- Menendez-Baceta, G., Aceituno-Mata, L., Reyes-García, V., Tardío, J., Salpeteur, M., & Pardo-de-Santayana, M. (2015). The importance of cultural factors in the distribution of medicinal plant knowledge: A case study in four Basque regions. *Journal of Ethnopharmacology*, *161*, 116–127. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.007>
- Mesoudi, A. (2011). *Cultural Evolution: How Darwinian Theory Can Explain Human Culture & Synthesize the Social Sciences*. The University of Chicago Press.

- Milles, M. B., & Huberman, M. A. (1984). *Qualitative Data Analysis: A Sourcebook of New Methods*. Sage Publications.
- Morais, F. F. de, Morais, R. F. de, & Silva, C. J. da. (2009). Conhecimento ecológico tradicional sobre plantas cultivadas pelos pescadores da comunidade Estirão Comprido, Pantanal matogrossense, Brasil. *Boletim Do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas*, 4(2), 277–294. <https://doi.org/10.1590/S1981-81222009000200005>
- Morais, R. F. de, Serrano, C. S., & Morais, F. F. de. (2015). Conhecimento ecológico tradicional da comunidade de Limpo Grande sobre a vegetação, Várzea Grande, Mato Grosso, Brasil. *Boletim Do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas*, 10(1), 65–83. <https://doi.org/10.1590/1981-81222015000100004>
- Mota, M. R. L., Lauer-Leite, I. D., & Novais, J. S. (2021). Distribution of traditional ecological knowledge about medicinal plants in an Amazonian community. *Etnobiología*, 19, 29–40. <https://revistaetnobiologia.mx/index.php/etno/article/view/380>
- Muller-Schwarze, N. (2006). Antes and hoy día: plant knowledge and categorization as adaptations to life in Panama in the twenty-first century. *Economic Botany*, 60, 321–334. [https://doi.org/https://doi.org/10.1663/0013-0001\(2006\)60\[321:AAHDPK\]2.0.CO;2](https://doi.org/https://doi.org/10.1663/0013-0001(2006)60[321:AAHDPK]2.0.CO;2)
- Paniagua-Zambrana, N., Cámara-Leret, R., Bussmann, R. W., & Macía, M. J. (2016). Understanding transmission of traditional knowledge across north-western South America: a cross-cultural study in palms (Arecaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 182(2), 480–504. <https://doi.org/10.1111/boj.12418>
- Pearce, T., Ford, J., Willox, A. C., & Smit, B. (2015). Inuit Traditional Ecological Knowledge (TEK) Subsistence Hunting and Adaptation to Climate Change in the Canadian Arctic. *ARCTIC*, 68(2), 233. <https://doi.org/10.14430/arctic4475>
- Projeto Saúde e Alegria. (2012). *Prazer em Conhecer Vila Franca: O Encontro dos Encontros*. CEAPS–Projeto Saúde e Alegria. <https://saudeealegria.org.br/wp-content/uploads/2020/01/Cartilha-Vila-Franca-1.pdf>
- Rodrigues, E. (2006). Plants and animals utilized as medicines in the Jaú National Park (JNP), Brazilian Amazon. *Phytotherapy Research*, 20(5), 378–391. <https://doi.org/10.1002/ptr.1866>
- Roersch, C. M. F. B. (2010). Piper umbellatum L.: A comparative cross-cultural analysis of its medicinal uses and an ethnopharmacological evaluation. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(3), 522–537. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.045>
- Ruiz-Mallén, I., & Corbera, E. (2013). Community-Based Conservation and Traditional Ecological Knowledge: Implications for Social-Ecological Resilience. *Ecology and Society*, 18(4), art12. <https://doi.org/10.5751/ES-05867-180412>
- Saltos, R. V. A., Vásquez, T. E. R., Lazo, J. A., Banguera, D. V., Guayasamín, P. D. R., Vargas, J. K. A., & Peñas, I. V. (2016). The use of medicinal plants by rural populations of the Pastaza province in the Ecuadorian Amazon. *Acta Amazonica*, 46(4), 355–366. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201600305>
- Sarquis, R. do S. F. R., Sarquis, Í. R., Sarquis, I. R., Fernandes, C. P., Silva, G. A. da, Silva, R. B. L. e, Jardim, M. A. G., Sánchez-Ortíz, B. L., & Carvalho, J. C. T. (2019). The use of medicinal plants in the riverside community of the Mazagão River in the Brazilian Amazon, Amapá, Brazil: Ethnobotanical and ethnopharmacological studies. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019, 1–25. <https://doi.org/10.1155/2019/6087509>
- Soldati, G. T. (2016). Local or Traditional Knowledge Transmission and Natural Resource Use. In U. P. Albuquerque & R. R. N. Alves (Eds.), *Introduction to Ethnobiology* (pp. 235–238). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-28155-1_34
- Soldati, G. T., Hanazaki, N., Crivos, M., & Albuquerque, U. P. (2015). Does environmental instability favor the production and horizontal transmission of knowledge regarding medicinal plants? A study in Southeast Brazil. *PLOS ONE*, 10(5), e0126389. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126389>
- Stori, F. T., Peres, C. M., Turra, A., & Pressey, R. L. (2019). Traditional ecological knowledge supports ecosystem-based management in disturbed coastal marine social-ecological

Recibido:
11/marzo/2023

Aceptado:
30/junio/2023

- systems. *Frontiers in Marine Science*, 6, 571. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00571>
- Tokarnia, R. (2016, December 23). *Projetos levam renda extra a moradores de reserva extrativista no Pará*. Agência Brasil. <https://agenciabrasil.ebc.com.br/geral/noticia/2016-12/projetos-levam-renda-extra-moradores-de-reserva-extrativista-no-para>
- Torres-Avilez, W., Nascimento, A. L. B., Campos, L. Z. O., Silva, F. S. S., & Albuquerque, U. P. (2014). Gênero e idade. In U. P. Albuquerque (Ed.), *Introdução à Etnobiologia* (pp. 249–256). Nupeea.
- Turreira-García, N., Theilade, I., Meilby, H., & Sørensen, M. (2015). Wild edible plant knowledge, distribution and transmission: a case study of the Achí Mayans of Guatemala. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 11(1), 52. <https://doi.org/10.1186/s13002-015-0024-4>
- Vásquez, S. P. F., Mendonça, M. S. de, & Noda, S. do N. (2014). Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 44(4), 457–472. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201400423>