



Revista Mexicana de Agroecosistemas
Vol. 7 Núm. 2 Julio – Diciembre, 2020 ISSN: 2007-9559

Revista Mexicana de Agroecosistemas

Oaxaca, Volumen VII, Número 2, 2020



Foto: Monomer of a 3D model

Revista Mexicana de Agroecosistemas



REVISTA MEXICANA DE AGROECOSISTEMAS, Vol. 7, Núm. 2 Julio – Diciembre 2020, es una publicación de la Secretaría de Educación Pública-Tecnológico Nacional de México, editada a través del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca por la División de Estudios de Posgrado e Investigación. Domicilio conocido, Ex hacienda de Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca, México, C.P. 56230, Tel y Fax. 01 (951) 5170444 y 5170788. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2014-060211581800-203 e ISSN 2007-9559, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor.

Responsable de la última actualización de este número en la División de Estudios de Posgrado e Investigación: Dr. Gerardo Rodríguez-Ortiz, Domicilio conocido, Ex hacienda de Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca, México, C.P. 71233, Tel y Fax. 01 (951) 5170444 y 5170788, <http://www.voaxaca.tecnm.mx/revista/>, rmae.itvo@gmail.com. Fecha de última modificación 23 de diciembre de 2020.

Su objetivo principal es difundir los resultados de investigación científica de las áreas agropecuaria, forestal, recursos naturales, considerando la agrobiodiversidad y las disciplinas biológicas, ambientales y socioeconómicas.

Para su publicación, los artículos son sometidos a arbitraje, su contenido es de la exclusiva responsabilidad de los autores y no representa necesariamente el punto de vista de la Institución; 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 Tecnológico del Valle de Oaxaca.



Comité Editorial(DEPI-ITVO)

Dr. Ernesto Castañeda Hidalgo
Dr. Gerardo Rodríguez-Ortiz
Dr. Jaime Calderón Patrón
Dr. José Cruz Carrillo Rodríguez
Dr. José Raymundo Enríquez del Valle
Dr. Salvador Lozano Trejo
Dr. Vicente A. Velasco Velasco
Dr. Yuri Villegas Aparicio
Dra. Gisela M. Santiago Martínez
Dra. Gisela V. Campos Ángeles
Dra. Martha P. Jerez Salas
M.C. Gustavo O. Díaz Zorrilla
M.C. Judith Ruíz Luna
M.C. María Isabel Pérez León

Coordinación editorial

Dr. Gerardo Rodríguez-Ortiz

Diseño de portada

Dr. Gerardo Rodríguez-Ortiz



Comité de arbitraje en este número

Dr. Ernesto Castañeda Hidalgo (DEPI-ITVO)
Dr. Gerardo Rodríguez-Ortiz (DEPI-ITVO)
Dr. Jaime Manuel Calderon Patrón (DEPI-ITVO)
Dr. José C. Carrillo Rodríguez (DEPI-ITVO)
Dr. José R. Enríquez del Valle (DEPI-ITVO)
Dr. Vicente A. Velasco Velasco (DEPI-ITVO)
Dr. Wenceslao Santiago García (UNSIJ)
Dr. Yuri Villegas Aparicio (DEPI-ITVO)
Dra. Gisela M. Santiago Martínez (DEPI-ITVO)
Dra. Gisela V. Campos Angeles (DEPI-ITVO)
Dra. Martha P. Jerez Salas (DEPI-ITVO)
M. C. Ernesto Hernández Santiago (ITVO)
M. C. Gustavo Díaz Zorrilla (DEPI-ITVO)
M. C. Judith Ruíz Luna (DEPI-ITVO)
M.C. María I. Pérez León (DEPI-ITVO)
Ms. Adán Hernández Hernández (INIFAP)



Prólogo

La “Revista Mexicana de Agroecosistemas” (RMAE) surgió de una propuesta del Consejo del Posgrado del Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO). Su objetivo es difundir los resultados generados del esfuerzo de alumnos e investigadores del Programa de Maestría en Ciencias en Productividad de Agroecosistemas que se imparte en este Instituto, y de las Licenciaturas en Biología e ingeniería en Agronomía y Forestal. Esta revista científica (RMAE) contempla las áreas agrícolas, pecuaria, forestal y recursos naturales, considerando la agrobiodiversidad y las disciplinas biológicas ambientales y socioeconómicas.

Por ello, se hace la invitación a alumnos, académicos e investigadores para que utilicen este espacio para publicar sus resultados de investigación relacionados con estas áreas. Los manuscritos se pueden enviar de acuerdo con las normas publicadas en <http://www.voaxaca.tecnm.mx/revista/normas-rmae.html> y pueden ser de tres tipos: artículo científico, nota técnica y ensayo libre (artículos de revisión). Todos los manuscritos se someterán a arbitraje y a edición. Deberán ser originales e inéditos, de alta calidad, acordes con las normas indicadas en este volumen y que no se hayan publicado o se vayan a publicar en otra revista.

En este número presentamos editados como artículos de investigación temáticas referentes a: guayaba, compostas agrícolas, plagas en frijol, estudio edafológico y selección de árboles en sistemas agroforestales.

ATENTAMENTE

Comité editorial



	Contenido	Pág.
	Artículos de investigación	
1	AMINOCICLOPRANO CARBOXILATO OXIDASA DE <i>Psidium guajava</i> L. "MEDIA CHINA": SECUENCIACIÓN PARCIAL DE ADNc / AMINOCYCLOPROPANE CARBOXYLATE OXYDASE FROM <i>Psidium guajava</i> L. "MEDIA CHINA": PARTIAL SEQUENCE FROM cDNA	
	Silvia Flores Benítez ¹ , Aleyna De la Luz Monroy ² , Héctor Silos Espino ¹ , Karla Yuritzi Amador Rodríguez ¹ , Moisés Alberto Cortes Cruz ³ , Catarino Perales-Segovia ¹ , Luis Lorenzo Valera Montero ¹⁸	53 – 63
2	FITOTOXICIDAD DE MATERIALES COMPOSTADOS DESTINADOS PARA USO AGRÍCOLA / PHYTO-TOXICITY OF COMPOSED MATERIALS INTENDED FOR AGRICULTURAL USE	
	Maritza Miguel Martínez ¹ , Lina Pliego Marín ²⁸ , Celerino Robles ³ , Graciela Zárate Altamirano ²	64 – 75
3	MANEJO DEL GORGOJO DE FRIJOL ALMACENADO, CON EXTRACTOS DE PLANTAS ASOCIADAS AL CULTIVO / MANAGEMENT OF STORED BEAN WEEVIL, WITH PLANT EXTRACTS ASSOCIATED WITH THE CROP	
	Liliana Perales-Aguilar ¹ , José Luis Chávez-Servia ³ , Lucila Perales-Aguilar ² , Felipe Tafoya ² , Catarino Perales-Segovia ¹⁸	76 – 84
4	CARACTERIZACIÓN EDAFOLÓGICA DONDE CRECEN <i>Pinus strobus</i> var. <i>chiapensis</i> y <i>Quercus macdougalii</i>, ESPECIES CON ALTO INTERÉS DE CONSERVACIÓN / EDAPHOLOGICAL CHARACTERIZATION WHERE <i>Pinus strobus</i> var. <i>chiapensis</i> and <i>Quercus macdougalii</i> GROWS, SPECIES WITH HIGH CONSERVATION INTEREST	
	Adan Nava-Nava ¹ , Nayely Pérez-Cruz ¹ , Erickson Basave-Villalobos ² , Ramón Trucíos-Caciano ³ , Pablo Antúnez ⁴⁸	85 - 95
5	SELECCIÓN DE FENOTIPOS DE <i>Pinus chiapensis</i> EN RODALES NATURALES BAJO MANEJO FORESTAL AL SUR DE MÉXICO / SELECTION OF <i>Pinus chiapensis</i> FENOTYPES IN NATURAL STANDS UNDER FOREST MANAGEMENT IN SOUTHERN MEXICO	



María Luisa Pascual-López[§], Gerardo Rodríguez-Ortiz, José Raymundo Enríquez-del Valle, Gisela Virginia Campos-Ángeles, José Cruz Carrillo-Rodríguez	96 – 109
---	-----------------



DIRECTORIO

Dr. Enrique Fernández Fassnacht- Director General, Tecnológico Nacional de México (TecNM)

Dr. Jesús Olayo Lortia- Director de Posgrado, Investigación e Innovación (TecNM)

Ing. Sergio F. Garibay Armenta- Director (ITVO)

Dr. Aarón Martínez Gutiérrez - Subdirección Académica (ITVO)

Dr. Salvador Lozano Trejo- Jefe (DEPI-ITVO)

Mayores informes:

Revista Mexicana de Agroecosistemas

Domicilio conocido

Ex-hacienda de Nazareno, Xoxocotlán, Oaxaca, México

C. P. 71233

Tel. y Fax: 01(951) 5170444, 5170788

Correo: rmae.itvo@gmail.com

<http://www.voaxaca.tecnm.mx/revista/>



AMINOCICLOPRANO CARBOXILATO OXIDASA DE *Psidium guajava* L. "MEDIA CHINA": SECUENCIACIÓN PARCIAL DE ADN¹

[AMINOCYCLOPROPANE CARBOXYLATE OXYDASE FROM *Psidium guajava* L. "MEDIA CHINA": PARTIAL SEQUENCE FROM cDNA]

Silvia Flores-Benítez¹, Aleya De la Luz-Monroy², Héctor Silos-Espino¹, Karla Yuritzi Amador-Rodríguez¹, Moisés Alberto Cortes-Cruz³, Catarino Perales-Segovia¹, Luis Lorenzo Valera-Montero^{1§}

¹Tecnológico Nacional de México/I.T. El Llano (ITEL), Km 18, Carretera Aguascalientes-San Luis Potosí, El Llano, Aguascalientes, CP 20330. Aguascalientes, México. ²Estudiante de Maestría en Ciencias en Biotecnología Agropecuaria (ITEL). ³Centro Nacional de Recursos Genéticos-INIFAP, Boulevard de la Biodiversidad 400, CP 47600, Tepatitlán de Morelos Jal., México. [§]Autor para correspondencia: (luis.vm@llano.tecnm.mx).

RESUMEN

La guayaba mexicana denominada comúnmente como "Media China", procedente principalmente de los estados de Michoacán, Aguascalientes y Zacatecas, es uno de los tipos de guayaba con mayor demanda por su calidad. El periodo de vida del fruto es corto debido a su condición climática, que induce la maduración acelerada por la generación endógena de etileno. Esta hormona es producida por la enzima aminociclopropano carboxilato oxidasa o ACC oxidasa (ACO) y su presencia se traduce en una vida de anaquel corta y en una baja calidad de frutos no aptos para el consumo humano. En un esfuerzo por estudiar este fenómeno, se obtuvo una secuencia parcial de ADNc del gen ACO de guayaba (Pg_ACO, 786 nt de longitud) a partir de frutos maduros e inmaduros de guayaba "Media China" recolectados en Calvillo, Aguascalientes. Dicha secuencia se alineó mediante BLASTn y BLASTx en NCBI y los resultados mostraron una gran similitud con las secuencias reportadas para *Psidium guajava* y *Eucalyptus grandis* en ambos casos. La secuencia predicha de aminoácidos de Pg_ACO permitió modelar el ACO en 3D como un monómero. Esta secuencia fue alineada con las secuencias predichas de guayabas y eucaliptos reportados para construir un árbol filogenético que mostró todas las accesiones de guayaba en un solo grupo.

Palabras clave. ACC oxidasa, árbol filogenético, etileno, guayaba, modelo 3D.

ABSTRACT

The Mexican guava "Media China", coming mainly from the states of Michoacán, Aguascalientes and Zacatecas, behaves as a climacteric fruit whose ripening is accelerated by the endogenous generation of ethylene. This hormone is produced by the enzyme ACC oxidase (ACO) and its presence induces a short shelf life and a low quality of fruits not suitable for human consumption. In an effort to study this phenomenon, a partial cDNA sequence of the guava ACO gene (Pg_ACO, 786 nt in length) was obtained from mature and immature fruits of the "Media China" collected in Calvillo, Aguascalientes. That sequence was aligned by BLASTn and BLASTx in NCBI and the results showed great similarity with the sequences reported for *Psidium guajava* and *Eucalyptus grandis* in both cases. The predicted amino acid sequence of the Pg_ACO sequence

¹ Recibido: 07-septiembre-2020
Aceptado: 15-diciembre-2020

allowed ACO to be 3D modeled as a monomer. This sequence was aligned with the reported guava and eucalyptus predicted sequences to construct a phylogenetic tree that showed all guava accessions in a single group.

Index words: ACC oxidase, phylogenetic tree, ethylene, guava, 3D-model.

INTRODUCTION

Guava (*Psidium guajava*) is a well-known fruit worldwide because of its flavor and nutritional properties (Kumari *et al.*, 2017; Naseer *et al.*, 2018; Omayio *et al.*, 2019). It is cultivated in three Mexican states: Michoacán, Zacatecas and Aguascalientes, and these states account for the 93.6% of the national production. In México, during 2019, 22.4 thousand hectares (around 55.4 thousand acres) were cultivated with this species, producing 307,598 t worth \$1827.2 million Mexican pesos, equivalent to \$84.7 million USD (SIAP, 2020). The main problem for this fruit is its highly perishable condition with short shelf life that leads to economic losses and reduces the opportunity for guava export. This is due to its climacteric nature of some cultivars, since injuries from handling increase respiration producing ethylene, and this gas in turn, triggers ripening faster than normal condition (Jain *et al.*, 2003). Furthermore, some other publications mentioned that the classification of guava fruit as climacteric or non-climacteric varies with cultivars due to the fact that maximum respiratory activity as well as ethylene production was observed when the fruits were already ripe (Paul *et al.*, 2012).

1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Oxidase (ACO) is a member of a superfamily of non-heme iron-containing proteins which is known as 2-oxoglutarate-dependent dioxygenase (2OGD), which probably appeared on seed plants during the Devonian period, plays a significant role in angiosperms since this enzyme is responsible for the evolution of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) into ethylene, which in influences seed germination, wound response, flower and leaf abscission, ripening of climacteric fruits and senescence (Iqbal *et al.*, 2017; Dorling and McManus, 2019; Houben and Van de Poel, 2019). The first ACO gene was found in tomato using antisense expression of pTOM13, a clone of unknown function (Holdsworth *et al.*, 1987; Alexander and Grierson, 2002;). Later on, other gene sequences of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate Synthase (ACS) and ACO were found in peanut, papaya, coffee plants, Japanese morning glory, white clover, tomato and zucchini, among others (Sato and Theologis, 1989; López-Gómez *et al.*, 2004; Pereira *et al.*, 2005; Chen and McManus 2006; Jafari *et al.*, 2013; Wilmowicz *et al.*, 2014; Sun *et al.*, 2015).

Signaling of stress and cell damage, were the early function for ethylene release on land plants but differences exist among species. Nowadays, angiosperms show a different biosynthetic pathway from algae and primitive land plants. Phylogenetic analysis of ACO, sorted sequences into polyphyletic clades of dicots, monocots, gymnosperms and mosses/lycophytes indicating separated diversification early in the evolution plants (Clouse and Carraro, 2014).

Knowledge about ethylene production by plants and sequences of involved genes have been used in transgenic plants expressing ACC deaminases (Jonathan *et al.*, 2009) and antisense ACC synthase or ACC oxidase for delaying tomato fruit ripeness (Guittinan and Deikman, 1994) and other climacteric fruits. Guava is considered mostly climacteric with some exemptions (Parra-Coronado, 2014), but Mexican cv. “Media China” was reported as climacteric (Mercado-Silva *et*

al., 1998). This condition makes it a highly perishable fruit with short shelf life that soon become unfit for consumption in fresh (Rana *et al.*, 2015). This way, determining the sequence of the ACO gene, specific to the local germplasm of orchards in production of the guava type "Media China", can help to delay maturation by means of antisense technology, as mentioned by Agüero *et al.* (2003). Therefore, the goal of this work was to obtain a partial cDNA of the ACC oxidase for guava native to the North-Central region of Mexico.

MATERIALS AND METHODS

Plant material and RNA extraction

"Media China" guava fruits were collected from an orchard located in Calvillo, Aguascalientes (Mexico). Fruit tissue was obtained from the exocarp and mesocarp from ripe (soft and yellow in color) and immature fruits (hard and bright green in color), which were placed in liquid nitrogen until required. After several trials with a commercial kit for plants and two more published customized protocols, extraction of good quality RNA was achieved adapting the methodology of López-Gómez and Gómez-Lim (1992). Briefly: Frozen fruits were ground and exposed at room temperature to the lysis buffer (2% SDS, 1% β -mercaptoethanol, 50 mM EDTA, and 150 mM Tris base with pH adjusted to 7.5 with 1 M H_3BO_3 acid; 2 to 3 mL $\cdot g^{-1}$ fresh tissue). The mixture was homogenized adding 0.25 v/v absolute ethanol and 0.11 v/v 5 M potassium acetate and vortexed for 1 minute. After this, extraction was performed with chloroform- Isoamyl alcohol (49:1) and centrifugation at 14,000 rpm for 10 minutes. The supernatant was collected on a fresh tube adding one volume of phenol-chloroform (1:1) and vortexed for 1 minute. The aqueous phase was collected and the chloroform-isoamyl alcohol step was repeated. The aqueous phase was recovered in a fresh tube; RNA was precipitated after 24 hours of exposure to 3 M LiCl at -20 °C and centrifugation for 90 minutes. The pellet was resuspended in sterile water, and potassium acetate was added to a final concentration of 0.3 M. Then the RNA was precipitated adding two volumes of absolute ethanol and centrifugation for 10 minutes. The pellet was washed twice with 75% ethanol and resuspended in sterile water.

ACO cDNA obtained through PCR and its sequencing

Total RNA obtained was used to generate cDNA using the Kit Affinity Script Multiple Temperature cDNA Synthesis (Agilent®) following the procedures specified by the supplier. In order to obtain a ACO fragment amplification, PCR reaction was performed with the following reaction mix: 2 μ l cDNA, 1 μ M of oligonucleotides 5'-AAYTGGGGHTTYTTTGAG-3' and 5'-GCGNAGYTTTCATRTARTCYTC-3' (Agüero *et al.*, 2003) plus 25 μ l of PCR Master mix (Go Taq® Green Master Mix, Promega®). The PCR program (Techne-512® thermocycler) included an initial denaturation at 94 °C for 5 min; 32 cycles (95 °C, 1 min; 50 °C, 1 min; 72 °C, 1 min) and a final extension at 72 °C for 7 minutes. PCR products were visualized on 1.5 % TBE agarose gels run at 120 V for 1 hour. Gels were stained with EtBr for 10 min before visualized under UV light. Sequencing was performed by an ADN 3500XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems) at LANBAMA, IPICYT Research Center (Mexico).

Bioinformatics analyses

BLASTn and BLASTx alignments and virtual translation for the obtained sequences were requested to the NCBI. ACO Sequences having $\geq 90\%$ similarity to the query were considered for further comparisons. BioEdit® software was used to check for consensus among the selected sequences. ClustalX2 was used to align these sequences and to construct a phylogenetic tree. Protein modelling was achieved with both Phyre2 (Protein Fold Recognition Server) and SWISS-MODEL from ExPASy.

RESULTS AND DISCUSSION

ACO cDNA PCR products

Both samples obtained from mature and unripe fruits were good source of RNA. Nevertheless, only RNA obtained from mature fruits yielded cDNA 786 bp that showed a good coincidence with that of 783 bp previously obtained by Aguero *et al.* (2003). Other amplicons higher than 1 kb were obtained from unripe fruits and one of the samples of mature fruit appearing as a faint band (Figure 1); these were discarded. Only the control (a sample of tomato leaf) gave no bands at all probably due to handling and the state of development of the tissue, since only young leaves were collected.

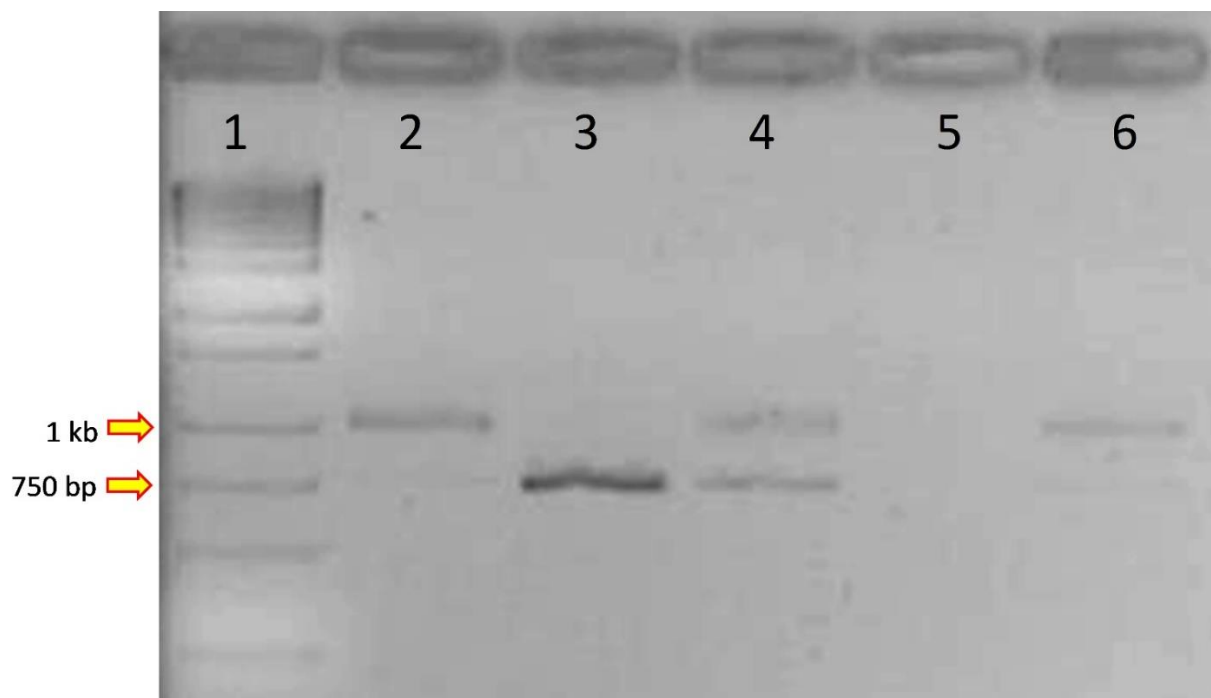


Figure 1. Partial cDNA amplification of guava ACO through PCR. Lane 1: 1 kb Molecular Marker, Lanes 2 and 6: Unripe fruits, Lanes 3 and 4: Mature fruits, Lane 5: Tomato leaf (control).

Figura 1. Amplificación parcial de ADNc del gen ACO de guayaba mediante PCR. Línea 1: Marcador de Peso Molecular 1kb, Líneas 2 y 6: Frutos inmaduros, Líneas 3 y 4: Frutos maduros, Línea 5: Hojas de tomate (control).

Analyses of the ACO sequence through BLASTn and BLASTx

One out of three obtained cDNA sequences was chosen (Pg_ACO) for bioinformatics analyses after checking the respective electropherograms (Figure 2). BLASTn results, restricted to similarity alignments of >90 %, yielded three accessions from *Psidium guajava*: AY123201.1 (98%) from Cuba, HM124457.1 (98%) and HM124456.1 (91%), both from Taiwan (Liu and Wu, 2010). Similarities within the range 80-90% belong to eight accessions of *Eucalyptus grandis* from the NCBI. Other accessions with lower similarity are significantly more distant; while high similarity between guava and eucalyptus is not surprising since these belong to the same family. As matter of comparison, full length ACO cDNA from *Guzmania ruiz* showed 94% similarity to that of pineapple; although, some other homologues were significant such as rice, moso bamboo, Malay banana (seeded), banana ABB (*Musa × paradisiaca*), sugar cane and barley (Liu *et al.*, 2017).

>Pg_ACO

```
AACCTGGGGGCTTCTTTGAGCTGGTGAATCATGGGATTCCTCCCGAGATG
ATGGACACAATCGAGAGAATGACAAAGGGGACACTACAAGAAGTGCATGGA
GCAGAGGTTCAAAGAGCTAGTGGTGAGCAAGGGGCTCGAGTATGTCCAAA
AAGAGGTCCATGACTTGGATTGGGAAAGCACCTTCCACTTGAAGCATCTT
CCTGAATCCAACATCTTTCAAATCTCTGACCTTGATGATGACTATCGAAA
AGTCATGAAGGAGTTTGCAGTGAAATTAGAGAAGCTGGCAGAGCAGCTAT
TGGACCTATTGTGTGAGAACTTGGGGCTAGAGAAACTGTACTTGAAAAAG
GCCTTTTATGGGTCCAACGGGCCGACTTTTCGGCACCAAGGTTAGCAACTA
CCCGCCGTGCCCCGAAGCCGGACCTAATCAAGGGTCTCCGGGCCCACACCG
ACGCCGGTGGCATCATCTTGCTCTTTCAAGATGACAAGGTTAGTGGCTTG
CAGCTTCTCAAGGACGGCCAATGGGTGCGATGTGCCCCCGATGCACCACTC
CATCGTCGTCAACCTCGGCGACCAACTCGAGGTGATAACCAATGGGAAAT
ACAAGAGTGTGCTACATAGGGTGGTGGCCCAGACAGATGGGAATAGGATG
TCCATAGCTTCATTCTACAACCCAAGCACCGACGCTGTGATCTACCCAGC
ACCGGCACTCGTGGAGAGAGAAGAAGAGGAGGCTGGCAAAGGGGACTTATC
CAAAATTTGTGTTTGAGGACTACATGAAACTACGCA
```

Figure 2. Partial cDNA sequence (786 nt) of ACO obtained from ripe guava fruit from Calvillo, Aguascalientes, Mexico.

Figura 2. Secuencia parcial de ADNc (786 nt) de ACO obtenido de fruto maduro de guayaba de Calvillo, Aguascalientes, México.

On the other hand, from the predicted translated sequence BLASTx revealed two putative conserved overlapped domains. The first domain, Oxidoreductase 20G-Fe(II) from the oxygenase superfamily (20G-FeII_Oxy), related to the iron/ascorbate-dependent oxidoreductase family and was ubiquitously present, as mentioned by Clouse and Carraro (2014). The family also includes lysyl hydrolases, isopenicillin synthases. The second one was a domain for Isopenicillin N synthase (PcbC) related to the dioxygenase superfamily, also present from bacteria to eukaryotes

(Figure 3). The presence of both conserved domains were confirmed with the help of PRODOM tool from ExPASy.

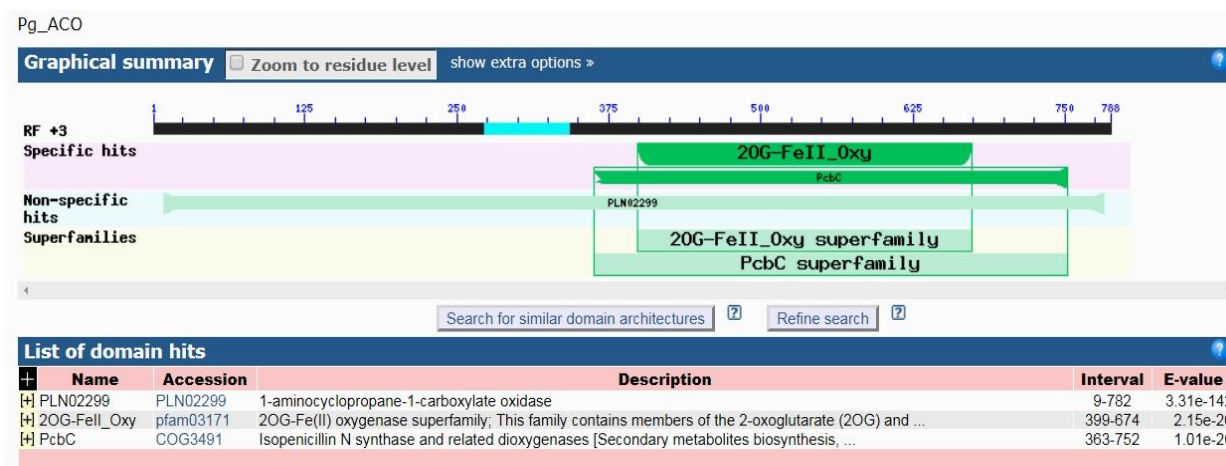


Figure 3. Putative conserved domains found on the Pg_ACO cDNA from *Psidium guajava* cv. “Media China”.

Figura 3. Dominios putativos conservados en un ADNc de Pg_ACO de *Psidium guajava* cv. “Media China”.

The blast of predicted protein showed higher number of accessions having similarities >90 %. Still, the highest values were for guava (AAM74522.1, AEC32838.1 and AEC32837.1) and eucalyptus accessions (XP_010035506.1, XP_010035507.1, XP_010035510.1, KCW46927.1, KCW46928.1 and XP_010035513.1). Alignment with the BioEdit software of these sequences showed remarkable consensus, especially where the putative domains are located (Figure 4). Furthermore, guava ACOs cluster together since they were very similar, and that cluster lies apart from eucalyptus ACOs (Figure 5). In spite of the similarity observed between the guava sequences, it is important to highlight that our sequence presents at least twelve amino acid residues that differ from those previously reported for guava (AAM74522.1, AEC32838.1 and AEC32837.1, Figure 4), which makes it a new contribution to the knowledge of this enzyme. Reyes Silva *et al.*, (2003) reported the partial sequence of this gene (PgAC01, accession JQ639887.1) of 320 bp that encodes a partial protein of 106 aa. This sequence was not included in the alignment of our sequence due to the reduced number of residues compared to those that were used in the average had 300 aa. These are good results considering that for sugar cane ACO, the highest similarity, reached about 86% (amino acid sequence) for close monocot species such as bamboo and rice. Lower percentages were found when compared to dicots such as banana, tomato, potato, melon and carnation (Wang *et al.*, 2003). Furthermore, BLASTp of ACO deduced amino acid from *Guzmania ruiz* showed the maximum similarity (76%) to ACO of Malay banana (seeded); on the other hand, kiwifruit, moso bamboo and others showed lower values (Liu *et al.*, 2017).

3D Protein model

The predicted protein sequence was sent to Phyre² (Protein Fold Recognition Server) which was used to model the 3D monomer of ACO of guava cv. “Media China” (Figure 6). Among others, two template molecules were used by the server with a 100% confidence: the crystal structure of

Arabidopsis thaliana ACCo2 and a Penicillin synthase-like, having 73% and 80% identity, respectively. This model originally was shown as a tetramer when using ExpASY software. Zhang *et al.* (2004) described a model for ACO from *Petunia hybrida* as a tetramer and a monomer with similar shape to that obtained for this work.

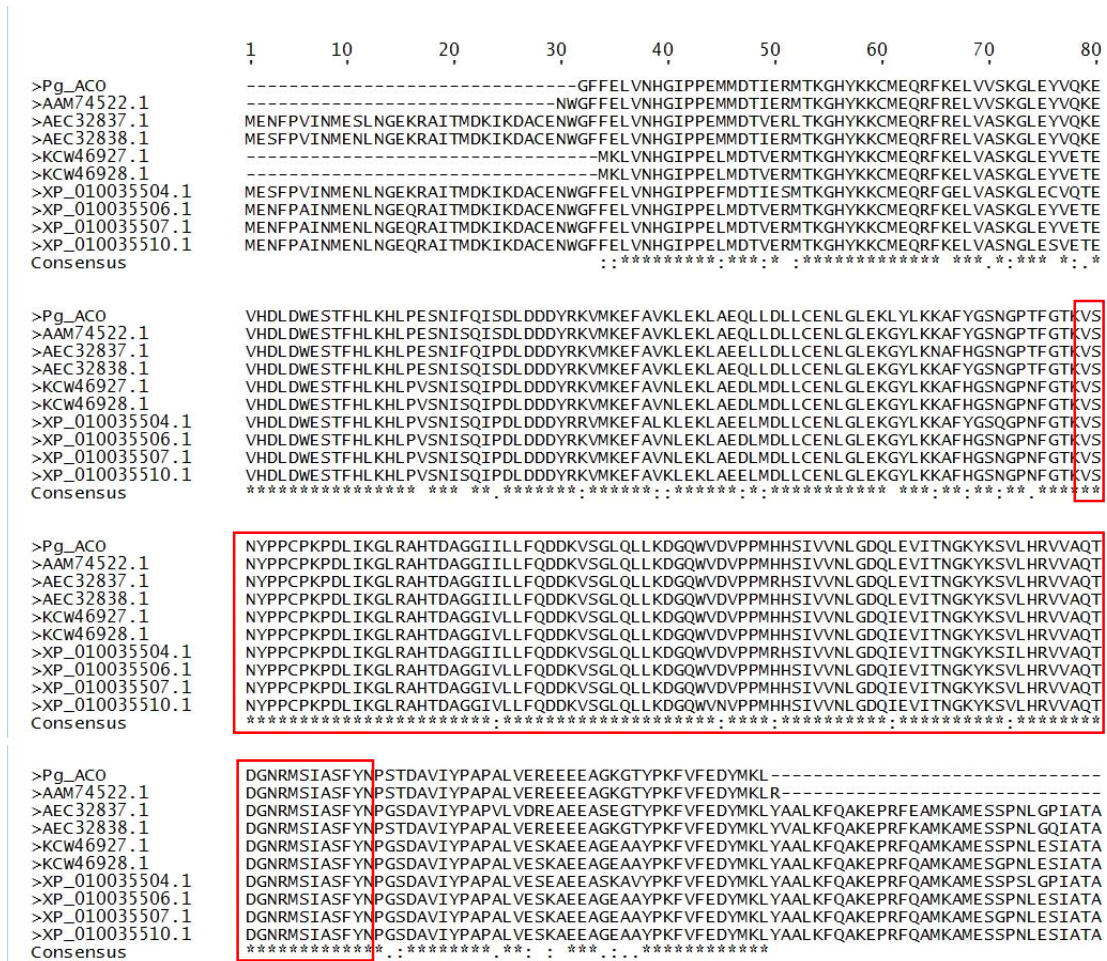


Figure 4. Alignment of the translated cDNA sequence Pg_ACO from guava and those from accessions whose sequences are annotated at the NCBI as guava (AAM and AEC accessions) and eucalyptus (XP and KCW accessions). Linking the three boxes together include the placement of the putative domains of 20G-FeII_Oxy superfamily and PcbC superfamily.

Figura 4. Alineamiento de la secuencia ADNc traducido de Pg_ACO con accesiones disponibles en el NCBI de guayaba (AAM y AEC) y de eucalipto (XP y KCW). Los recuadros incluyen los dominios putativos de las superfamilias 20G-FeII_Oxy y PcbC.

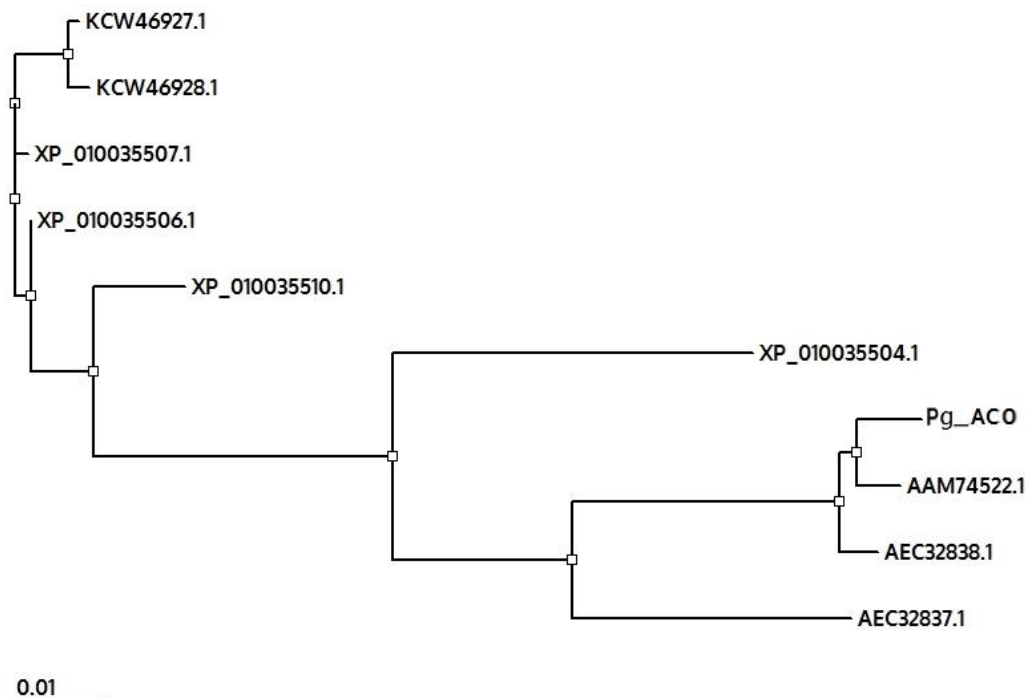


Figure 5. Phylogenetic tree constructed with the Pg_ACO predicted amino acid sequence and nine ACO sequences annotated in the NCBI Data Bank. These sequences have >90 % similarity and were obtained from guava (AAM and AEC accessions) and eucalyptus (XP and KCW accessions).

Figura 5. Árbol filogenético construido con la secuencia traducida de Pg_ACO y nueve secuencias del Banco de Datos del NCBI. Estas secuencias tienen >90 % de similitud y fueron obtenidas de accesiones de guayaba (AAM y AEC) de eucalipto (XP y KCW).

CONCLUSIONS

This work reports a partial fragment (786 nucleotides) of cDNA from ACO, showing the conserved domains present in most of the species related. BLASTn of “Media China” ACO cDNA showed the characteristic domains of Oxidoreductase 20G-Fe(II) and Isopenicillin N synthase (PcbC). Translated ACO sequence obtained from Mexican guava cv. “Media China” is very similar to that published from a Cuban guava by Aguero *et al.* (2003). Also, these two sequences cluster together with their guava Asian counterparts (Liu and Wu, 2010). Furthermore, modelling this sequence into a 3D image showed the characteristic shape of the ACO monomer. Our results confirm the isolation of an ACO sequence involved in the ripening of guava fruits of the “Media China” type from orchards in Calvillo, Aguascalientes. Unlike the previous reports of ACO in guava, in this study native plants were taken as the source of plant material. This is of great importance for the future improvement of this germplasm, since this type of creole guava known as “Media China”, having great economic importance, it is also considered the genetic base of the different cultivars recently registered by INIFAP (Mexico). We hope these results will be a contribution to the knowledge of the sequence of ACO gen in guava and its expression during the ripening of the fruit.

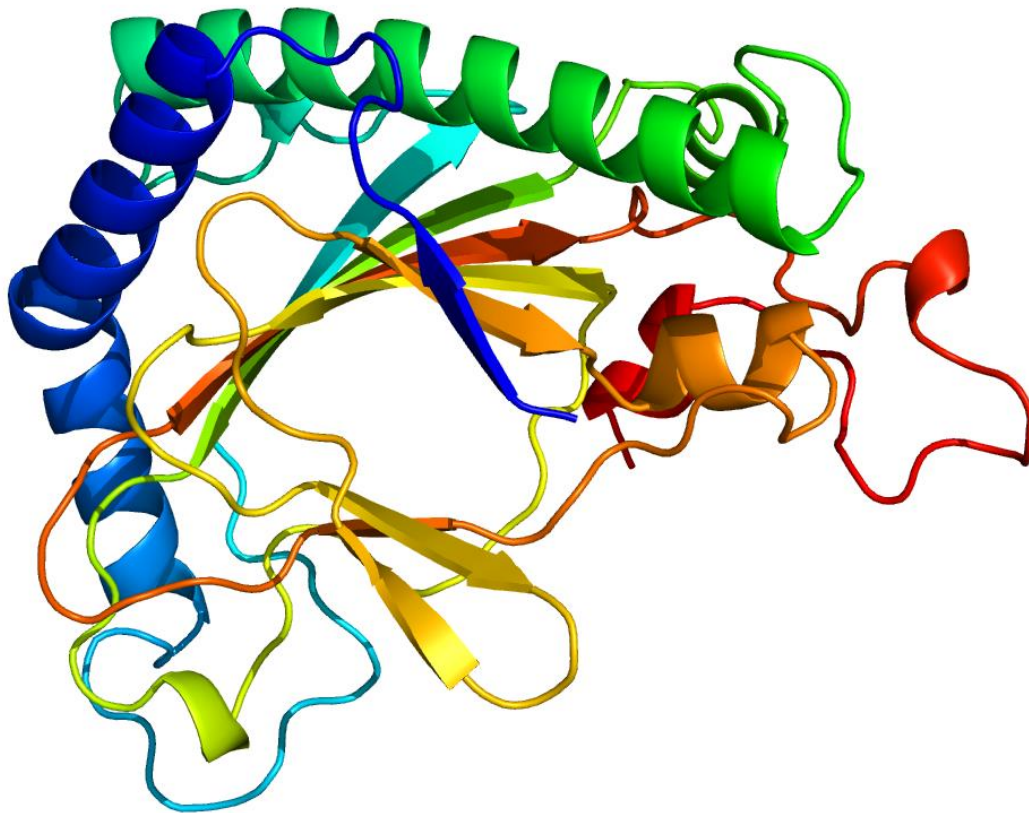


Figure 6. Monomer of a 3D model of “Media China” guava ACO built using Phyre² (Protein Fold Recognition Server).

Figura 6. Monómero de un modelo 3D de ACO de guayaba “Media China” generado con Phyre² (Protein Fold Recognition Server).

LITERATURE CITED

- Aguero, G., E. Rodríguez, L. Díaz, N. Bacallao y E. Jiménez. 2003. Aislamiento de un fragmento del ADNc ACC oxidasa expresado durante la maduración del fruto de Guayaba Enana. *Biotecnología Vegetal* 2:187-189.
- Alexander, L. and D. Grierson. 2002. Ethylene biosynthesis and action in tomato: a model for climacteric fruit ripening. *Journal of Experimental Botany, Fruit Development and Ripening Special Issue* 53:2039–2055.
- Chen, B.C.M. and M.T. McManus. 2006. Expression of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) oxidase genes during the development of vegetative tissues in white clover (*Trifolium repens* L.) is regulated by ontological cues. *Plant Molecular Biology* 60:451–467. DOI 10.1007/s11103-005-4813-3.
- Clouse, R.M. and N. Carraro. 2014. A novel phylogeny and morphological reconstruction of the PIN genes and first phylogeny of the ACC-oxidases (ACOs). *Frontiers in Plant Science* 5:1-15.
- Dorling, S. J. and M.T. McManus. 2012. The fate of ACC in higher plants. *In: McManus MT (ed) Annual Plant Reviews: the plant hormone ethylene*, vol 44. Wiley, Chichester. pp 83–115.

- Guittinan, M.J. and J. Deikman. 1994. Molecular and genetic approaches to the study of plant hormone action. *In: Horticultural Reviews*, J. Janick (Ed.), Wiley & Sons, Inc., N.J. pp: 1-32.
- Holdsworth, M.J., C.R. Bird, J. Ray, W. Schuch and D. Grierson. 1987. Structure and expression of an ethylene-related mRNA from tomato. *Nucleic Acids Research* 15:731–739.
- Houben, M. and B. Van de Poel. 2019. 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Oxidase (ACO): The enzyme that makes the plant hormone ethylene. *Frontiers in Plant Science* 10 :695, 15 pages. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00695>.
- Iqbal, N., A. K. Nafees, A. Ferrante, A. Trivellini, A. Francini and M. I. R. Khan. 2017. Ethylene role in plant growth, development and senescence: Interaction with other phytohormones. *Frontiers in Plant Science* 8: 19 pages. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00475>.
- Jafari, Z., R. Haddad, R. Hosseini and G. Garoosi. 2013. Cloning, identification and expression analysis of ACC oxidase gene involved in ethylene production pathway. *Molecular Biology Reports* 40:1341–1350. DOI 10.1007/s11033-012-2178-7.
- Jain N., K. Dhawan, S. Malhotra and R. Singh. 2003. Biochemistry of fruit ripening of guava (*Psidium guajava* L.): compositional and enzymatic changes. *Plant Foods for Human Nutrition* 58: 309-315.
- Jonathan, M., L. McDonnell and S. Regan. 2009. Plant encoded 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity implicated in different aspects of plant development. *Plant Signaling & Behavior* 4:1186-1189.
- Kumari, K. U., G. Rishitha, K. Rajendra and P.S. Kumar. 2017. Value added products of guava. *Agriculture Update* 12: 2171-2177. doi:10.15740/HAS/AU/12.TECHSEAR(8)2017/2270-2276.
- Liu, J., H. Ding, W. Wang, H. Liu and D. Tian. 2017. Molecular characterisation and expression analysis of ACC oxidase gene from *Guzmania* Ruiz & Pav. *Pakistan Journal of Botany* 49:147-154.
- Liu, T.C. and C.T. Wu. 2010. Cloning and analysis of the cDNA clones encoding ACC oxidase in guava. Direct submission to NCBI. Retrieved on 11/22/2017 from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AEC32838.1>
- López-Gómez, R. and M. Gómez-Lim. 1992. A method for extracting intact RNA from fruits rich in polysaccharides using ripe mango mesocarp. *Journal of Horticultural Science* 27: 440-442.
- López-Gómez, R., F. Morales-Domínguez, O. Mendoza-Alcázar, and M.A. Gómez-Lim. 2004. Identification of a genomic clone to ACC Oxidase from papaya (*Carica papaya* L.) and Expression Studies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:794–800.
- Mercado-Silva, E., P.B. Bautista and M.A. Garcia-Velasco. 1998. Fruit development, harvest index ripening changes of guavas produced in Central Mexico. *Postharvest Biology and Technology* 13: 143-150.
- Naseer, S., Hussain, S., Naeem, N., Pervaiz M. and Rahman, M. 2018. The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clinical Phytoscience* 4: 32. <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0093-8>.
- Omayio, D. G, G.O. Abong, M. W. Okoth, C. K. Gachuri and A. W. Mwang'ombe. 2019. Current status of guava (*Psidium Guajava* L) Production, Utilization, Processing and Preservation in Kenya: A Review. *Current Agriculture Research* 7(3). doi: <http://dx.doi.org/10.12944/CARJ.7.3.07>
- Paul, V., R. Pandey and G.C. Srivastava. 2012. The fading distinctions between classical patterns of ripening in climacteric and non-climacteric fruit and the ubiquity of ethylene—An overview. *J. Food Sci. Technol.* 49:1–21.
- Parra-Coronado, A. 2014. Ripening and postharvest behavior in guava (*Psidium guajava* L.): A review. *Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas* 8: 314-327.

- Pereira, L.F.P., R.M. Galvão, A.K. Kobayashi, S.M.B. Cação and L.G. Esteves-Vieira. 2005. Ethylene production and ACC oxidase gene expression during fruit ripening of *Coffea arabica* L. Braz. J. Plant Physiol. 17: 282-289.
- Rana, S., S. Siddiqui and A. Goyal. 2015. Extension of the shelf life of guava by individual packaging with cling and shrink films. Journal of Food Science and Technology 52: 8148–8155.
- Reyes Silva, A. I., H. G. Núñez Palenius, G. Hernández Guzmán, A. G. Alpuche Solís, C. Garcidueñas Piña, y J. F. Morales Domínguez. 2013. ADNc relacionados con la maduración del fruto de guayaba (*Psidium guajava* L.): Caracterización y análisis de expresión. Revista Fitotecnica Mexicana 36: 117-125.
- Sato, T. and A. Theologis. 1989. Cloning mRNA encoding 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, the key enzyme for ethylene biosynthesis in plants. Proceedings of the National Academy of Sciences 86: 6621-6625.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2020. SIACON-NG. Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, D.F. (Consultado: 07/09/2020). Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/acciones-y-programas/produccion-agricola-33119>.
- Sun, Q., X. Wang, Y. Tang, Q. Wu, Y. Wang, Q. Zhang, G. Cao, S. Meng and C. Wang. 2015. Cloning and sequence analysis of a novel ACC Oxidase gene from peanut (*Arachis hypogaea* L.). In: T.C. Zhang & M. Nakajima (eds.), Advances in Applied Biotechnology, Lecture Notes in Electrical Engineering 333. DOI 10.1007/978-3-662-46318-5_10.
- Wang, Z.Z., Y.R. Li, S.Z. Zhang, J.F. Lin and L.Q. Guo. 2003. Cloning and sequencing of ACC oxidase gene from sugarcane [Article in Chinese]. Yi Chuan Xue Bao 30: 62-69.
- Wilmowicz, E., K. Frankowski, A. Kućko, J. Kęsy, and J. Kopcewicz. 2014. Involvement of the IAA-regulated ACC oxidase gene *PnACO₃* in *Pharbitis nil* flower inhibition. Acta Biologica Cracoviensia. Series Botanica 56: 90–96. DOI: 10.2478/abcsb-2014-0013.
- Zhang, Z., J.-S. Ren, I.J. Clifton and C.J. Schofield. 2004. Crystal structure and mechanistic implications of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid oxidase-The ethylene-forming enzyme. Chemistry & Biology 11:1383–1394.

FITOTOXICIDAD DE MATERIALES COMPOSTADOS DESTINADOS PARA USO AGRÍCOLA¹

[PHYTO-TOXICITY OF COMPOSED MATERIALS INTENDED FOR AGRICULTURAL USE]

Maritza Miguel Martínez¹, Lina Pliego Marín^{2§}, Celerino Robles³, Graciela Zárate Altamirano²

¹Tesista-Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO). Tecnológico Nacional de México. ²Ex Hacienda Nazareno s/n, Xoxocotlán, Oax., México. C.P. 71230. ³Instituto Politécnico Nacional. CIIDIR Oaxaca [§]Autor para correspondencia: (linapliego@hotmail.com).

RESUMEN

El compostaje de desechos agrícolas y forestales para su aprovechamiento en la agricultura es una práctica ampliamente difundida hoy en día, siendo necesario que los productos obtenidos de esta transformación presenten madurez y estabilidad. Una forma de evaluar estos productos es determinar su fitotoxicidad. El objetivo del trabajo fue determinar la posible toxicidad de compostas utilizadas como sustrato, en la germinación de semillas de cuatro especies hortícolas. Se establecieron dos experimentos de germinación de semillas de cuatro especies hortícolas, el primero utilizando sustratos sólidos, el segundo aplicando extractos acuosos de los tratamientos. Los datos colectados cumplieron con los criterios de normalidad y homogeneidad de varianzas. Se les aplicó un análisis de varianza y las medias se separaron por la prueba de Tukey ($p = 0.05$). En sustratos puros, el rábano y la lechuga con aserrín mezclado y vermicomposta sola y combinada presentaron el mayor porcentaje de germinación, mientras que el tomate fue la especie más sensible a los materiales evaluados. Los IG determinados indican que la mayoría de los sustratos acuosos presentaron nula o moderada fitotoxicidad en rábano, lechuga y tomate, en tanto que en chile en sustrato puro en las mezclas de aserrín tuvieron una toxicidad alta. El uso de materiales compostados deberá condicionarse a pruebas de fitotoxicidad en las especies vegetales a utilizar, ya que la susceptibilidad interespecífica es variable.

Palabras clave: composta, índice de germinación, porcentaje de germinación, vermicomposta.

ABSTRACT

Composting agricultural and forestry waste for its use in agriculture is a widely spread practice today, and it is necessary that the products obtained from this transformation present maturity and stability. One way to evaluate these products is to determine their phytotoxicity. The objective of the work was to determine the possible toxicity of compost used as substrate, in the germination of seeds of four horticultural species. Two seed germination experiments of four horticultural species were established, the first using solid substrates, the second applying aqueous extracts of the treatments. The data collected met the criteria of normality and homogeneity of variances. An analysis of variance was applied, and the means were separated by Tukey's test ($p = 0.05$). In pure substrates, radish and lettuce with mixed sawdust and vermicompost alone and combined presented the highest germination percentage, while tomato was the species most sensitive to the evaluated

¹ Recibido: 09-septiembre-2020
Aceptado: 20-diciembre-2020

materials. The determined GI indicate that most of the aqueous extracts presented null or moderate phytotoxicity in radish, lettuce, and tomato, while in chili in pure substrate of the sawdust mixtures they had a high toxicity. The use of composted materials should be conditioned to phytotoxicity tests in the plant species to be used, since interspecific susceptibility is variable.

Index words: compost, germination index, germination percentage, vermicompost.

INTRODUCCIÓN

Los residuos procedentes de la actividad humana en la obtención de productos agrícolas, pecuarios y forestales generan una gran acumulación de desechos que, si no se les da un manejo adecuado y seguro, impactan de manera negativa al medio ambiente. El uso eficiente de estos residuos sin que se produzcan daños al ambiente y a la salud de los consumidores, es objetivo prioritario de muchas investigaciones (Bernal *et al.*, 2009). En las últimas décadas se ha puesto mucha atención para el manejo de los desechos orgánicos por medio de procesos cuyo impacto negativo en el ambiente sea mínimo, haciendo uso de procesos ecoamigables como lo es el compostaje (Lazcano *et al.*, 2009).

Como todo proceso, el compostaje requiere el control de las condiciones que prevalecen durante el desarrollo del mismo, como son temperatura, aireación y humedad, con la finalidad de tener una adecuada descomposición y estabilización de la materia orgánica (Crojen *et al.*, 2003). Esta es la principal diferencia entre el compostaje y los procesos naturales no controlados que suelen desembocar en anaerobiosis más o menos acusadas (Bueno *et al.*, 2008).

El vermicompostaje es un proceso de biooxidación, degradación y estabilización de residuos orgánicos por acción combinada de lombrices y microorganismos, que aceleran el proceso de descomposición y humificación de la materia orgánica (Edwards y Arancón, 2004), bien sea por su desplazamiento a través de las galerías formadas o por el tipo de alimentación propia de la lombriz (detritívora). Las lombrices mejoran el producto final al ingerirlo, reduciendo su tamaño y formando agregados estables (Elvira *et al.*, 1998). El producto final es homogéneo y de granulometría fina y con un valor agregado (Nogales *et al.*, 2008; Suthar y Singh, 2008). Adicionalmente, estos organismos incrementan el contenido de nutrientes, convirtiéndolos a formas solubles y asimilables (Elvira *et al.*, 1998; Ndegwa y Thompson, 2001; Garg *et al.*, 2006).

Independientemente del proceso de compostaje utilizado, el uso de las compostas en agricultura deberá contar previamente con un control de la calidad. La caracterización de estos materiales debe incluir, además de las propiedades físicas y químicas, las características biológicas.

La obtención de compostas inmaduras o inestables puede deberse a condiciones anaeróbicas, liberándose compuestos que resultan tóxicos bien sea durante la germinación de la semilla o el crecimiento o desarrollo de los vegetales. La forma más efectiva para establecer si las compostas son seguras para utilizarlas con fines agrícolas, en invernadero o vivero, es determinar su fitotoxicidad. Esta evalúa la madurez y estabilidad biológica de los materiales producidos, así como la presencia de componentes que pueden actuar como estimuladores o inhibidores del crecimiento vegetal (Hu *et al.*, 2008; Paradelo *et al.*, 2010).

La germinación es una etapa crítica en el establecimiento de cualquier especie vegetal independientemente de las condiciones generadas para un cultivo determinado. La capacidad de

crecimiento y desarrollo de la plántula también son determinantes para el establecimiento de cualquier material vegetal y aunque ambas etapas son consecutivas en ocasiones alguna de ellas resulta ser más sensible a determinadas condiciones que prevalecen en su entorno de crecimiento.

Si bien se han establecido diferentes metodologías para determinar de la madurez y estabilidad de los materiales compostados, entre las que destacan pruebas físico-químicas, se han utilizado test de germinación de semillas o de cultivo de plantas (Zucconi *et al.*, 1981; Iannotti *et al.*, 1993; Wu *et al.*, 2000). El objetivo de este estudio fue determinar la fitotoxicidad de materiales compostados, solos o en combinación con suelo agrícola, en cuatro especies hortícolas, con la finalidad de ser usados en el cultivo del chile de agua.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del área de estudio

La investigación se llevó a cabo en las instalaciones del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca (CIIDIR-IPN-OAX) durante el periodo marzo a diciembre del 2013. Los trabajos relacionados con la evaluación de la fitotoxicidad de los materiales compostados se realizaron en el laboratorio de suelos del CIIDIR.

Tratamientos

Los tratamientos fueron generados a partir de los sustratos: aserrín compostado, turba y vermicomposta, mezclados en diferentes proporciones con suelo agrícola, con un total de 13 tratamientos para el caso del uso de sustrato sólido y 14 cuando se utilizaron extractos acuosos, ya que se consideró un control con agua (Cuadro 1). Los tratamientos se aplicaron a semillas de las especies: rábano, lechuga, tomate y chile.

Cuadro 1. Tratamientos de materiales compostados, sólidos y extractos acuosos, aplicados para determinar sus efectos en la germinación de cuatro especies hortícolas.

Tratamiento	Descripción	Tratamiento	Descripción
1	Aserrín 100 %	8	Turba 25%+ suelo 75%
2	Aserrín 75%+ suelo 25%	9	Vermicomposta 100%
3	Aserrín 50%+ suelo 25%	10	Vermicomposta 75%+ suelo 25%
4	Aserrín 25%+ Suelo 75%	11	Vermicomposta 50%+ suelo 50%
5	Turba 100%	12	Vermicomposta 25%+ suelo 75%
6	Turba 75%+suelo 25%	13	Suelo 100% (Testigo)
7	Turba 50% + suelo 50%	14	Agua

En el caso de extractos acuosos, se obtuvo un extracto de saturación de cada uno de materiales evaluados (1:10 p/v) utilizando agua destilada como extractante, la suspensión obtenida se filtró y diluyó en una proporción de 50 % de agua destilada y 50 % del extracto obtenido.

Para establecer el nivel de fitotoxicidad de los materiales evaluados se realizaron bioensayos de germinación siguiendo el procedimiento propuesto por Zucconi *et al.* (1981), con ligeras modificaciones, utilizando semillas de rábano (*Raphanus sativus*), lechuga (*Lactuca sativa* L.), tomate (*Solanum lycopersicum*) y chile de agua (*Capsicum annuum* L.). En las especies evaluadas, los ensayos de germinación se efectuaron en extractos acuosos y en sustratos sólidos.

Para la evaluación de sustratos sólidos, estos fueron colocados en cajas Petri sobre papel filtro Whatman® y se les agregó 10 mL de agua destilada colocando 10 semillas de las especies a evaluar, se sellaron con parafilm y se dejaron por espacio de 5 días, después del cual se determinó el porcentaje de semillas germinadas. Para el caso de chile, el tiempo de incubación fue de 3 semanas hasta la germinación. Se consideraron tres repeticiones por tratamiento aplicado.

En el establecimiento del bioensayo se utilizaron cajas de Petri de 9 cm de diámetro, sobre las que se colocó papel filtro y se agregaron 10 mL de extracto diluido (50%), enseguida se depositaron 10 semillas de las especies a evaluar, y sobre estas se colocó papel filtro humedecido con el mismo extracto de cada uno de los materiales diluidos. A partir de los datos de germinación de los dos experimentos se calculó el porcentaje de germinación (%G) e índice de germinación (IG), con las siguientes ecuaciones:

$$\%G = \frac{\text{Número de semillas germinadas}}{\text{Número de semillas sembradas}} \cdot 100$$

$$IG = \frac{\text{Germ extracto}}{\text{Germ agua}} \cdot \frac{\text{Lm extracto}}{\text{Lm agua}} \cdot 100$$

Donde: % G = porcentaje de germinación; IG (%) = índice de germinación; Germ extracto = % germinación del extracto; Germ agua= % germinación en agua destilada; Lm extracto = longitud media de la raíz en el extracto; Lm agua = longitud media de la raíz en agua destilada

El grado de fitotoxicidad detectado en los extractos, de acuerdo lo interpretado por Emino y Warman (2004), fue: valores menores a 50, fitotoxicidad alta; valores entre 50 y 80, fitotoxicidad moderada; valores mayores a 100, ausencia de fitotoxicidad.

Análisis estadístico

El establecimiento de cada experimento se hizo bajo un diseño experimental completamente al azar, con un total de 13 y14 tratamientos para el uso de sustratos sólidos o extractos acuosos, respectivamente. Los datos de la variable % de germinación fueron transformados por la función Arcsen para el cumplimiento del comportamiento normal. Se verificó la homogeneidad de varianzas aplicando la prueba de Levene. Una vez cumplidas ambas condiciones, a las variables se les realizó un análisis de varianza y la prueba de Tukey (p <0.05) para la comparación de medias. Para la realización del análisis estadístico se utilizó el software SAS v.9.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Porcentaje de germinación en sustratos puros

En *R. sativus*, los porcentajes de germinación más bajos se registraron con los tratamientos conteniendo vermicomposta, sola o en cualquier combinación con suelo, así como con el aserrín compostado solo (36-60%). Una respuesta similar fue observada en *L. sativa*, en la cuál los porcentajes de germinación más bajos se registraron en el tratamiento control, suelo sin combinar y con las mezclas de vermicomposta en alta proporción y el aserrín sin combinar (Cuadro 2). En *S. lycopersicum* se registró un valor promedio de germinación menor en comparación a las otras especies evaluadas, los sustratos sin combinar promovieron de manera significativa la germinación en esta especie (T1, T5, T9, T13), mientras que con los tratamientos de turba:suelo en proporción 1:1, y varias combinaciones de aserrín:suelo y vermicomposta:suelo se registraron los valores más bajos. La capacidad germinativa de *C. annuum* fue similar a la detectada en lechuga, el más alto porcentaje se registró en turba sola (85%). Una respuesta diferencial entre ambas especies es que el uso de vermicomposta sola y suelo agrícola (T9 y T13) provocaron un incremento en el porcentaje de germinación de chile en tanto que para lechuga este parámetro decreció. Los valores más bajos se registraron en aserrín solo y combinado 1:3 con suelo, y con la mezcla vermicomposta:suelo 1:1 (Cuadro 2).

Cuadro 2. Porcentaje de germinación en semillas de rábano, lechuga, tomate y chile en los diferentes sustratos evaluados.

Tratamiento	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Capsicum annuum</i>
T1	60±19.04 ^e	59±13.36 ^f	70±7.79 ^{ab}	62±10.39 ^{cdef}
T2	80±19.04 ^{cd}	87±13.36 ^{ab}	56±7.79 ^c	72±10.39 ^{bc}
T3	86±19.04 ^{abcd}	72±13.36 ^{cd}	61±7.79 ^{abc}	65±10.39 ^{bcd}
T4	90±19.04 ^{ab}	60±13.36 ^{ef}	55±7.79 ^c	52±10.39 ^f
T5	93±19.04 ^a	90±13.36 ^a	71±7.79 ^{ab}	85±10.39 ^a
T6	89±19.04 ^{abc}	85±13.36 ^{ab}	65±7.79 ^{abc}	70±10.39 ^{bcd}
T7	79±19.04 ^d	78±13.36 ^{bc}	52±7.79 ^c	75±10.39 ^{ab}
T8	82±19.04 ^{bcd}	85±13.36 ^{ab}	59±7.79 ^{bc}	85±10.39 ^a
T9	55±19.04 ^e	61±13.36 ^{def}	79±7.79 ^a	71±10.39 ^{bcd}
T10	58±19.04 ^e	59±13.36 ^f	53±7.79 ^c	63±10.39 ^{cde}
T11	36±19.04 ^f	55±13.36 ^f	58±7.79 ^{bc}	54±10.39 ^{ef}
T12	42±19.04 ^f	71±13.36 ^{cde}	70±7.79 ^{ab}	60±10.39 ^{def}
T13	80±19.04 ^{cd}	53±13.36 ^f	71±7.79 ^{ab}	61±10.39 ^{cde}

Valores muestran la media de seis repeticiones ± desviación estándar. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Durante la evaluación de compostas procedentes de desechos agroindustriales, Varnero *et al.* (2014) detectaron porcentajes de germinación menores al 80 % en rábano. De igual forma, la germinación de esta especie se vio inhibida por acción de vermicomposta en altas proporciones, por lo que estos materiales fueron considerados como inmaduros. Estos mismos materiales

resultaron adecuados para la germinación de lechuga. El efecto inhibitorio en el número de semillas germinadas detectado en rábano fue también observado con el uso de vermicomposta y sus mezclas en la presente investigación desarrollada. Por otro lado, Ortega-Martínez *et al.* (2010) determinaron que el uso de aserrín y vermicomposta como sustratos en la germinación de tomate presentaron valores comparables al obtenido con turba, y fueron mayores a los detectados bajo las condiciones de este trabajo. La capacidad germinativa de 15 especies hortícolas fue evaluada en compostas mezcladas en diferentes proporciones con arena, de ese estudio destaca que las semillas de lechuga y tomate alcanzaron porcentajes de germinación de 97% y 50% respectivamente (Velasco-Velasco *et al.*, 2004). Similares tendencias fueron observadas en el presente estudio, donde la lechuga mostró altos porcentajes de germinación y el tomate fue la especie con el número de semillas germinadas más bajo. Si bien existe una variabilidad en cuanto al tiempo de germinación del chile como material biológico, se considera que una germinación del 80-90%, es adecuado para este cultivo. Al respecto, López-Baltazar *et al.* (2013) reportan que la mezcla de vermicomposta y composta sola presentaron valores de germinación dentro de este rango. De igual manera, la vermicomposta con bocashi presentaron los mayores porcentajes de germinación (David-Santoya *et al.*, 2018). Estas pruebas corroboran que la sensibilidad de la especie vegetal evaluada es diferenciada y que depende también del tipo de material utilizado como suministro para la generación de los materiales compostados.

Porcentaje de germinación en extractos acuosos

La prueba de fitotoxicidad que incluye la adición de extractos acuosos a las semillas de las especies evaluadas, dan muestra de que *R. sativus* es sensible a la mayoría de las mezclas, ya que únicamente el aserrín solo y en baja proporción promovieron la germinación (81.7-80.0%) en comparación al testigo (T14: agua). Para el caso de *L. sativa* se constató que esta especie presentó los más altos porcentajes de germinación (80%-90%), y que en la vermicomposta y la composta de aserrín en baja proporción, así como la turba y el suelo sin combinar promovieron de manera significativa ($p \leq 0.05$) ya que los porcentajes de germinación que presentaron oscilaron entre 80-90%, indicativos de una moderada fitotoxicidad. Además, la vermicomposta y el aserrín sin combinar, y en media y alta proporción condujeron a bajos porcentajes de germinación. En *S. lycopersicum* una tendencia similar fue observada en el que los extractos de vermicomposta, turba y sus mezclas promovieron la germinación. En *C. annuum*, a excepción de T6 y T8, todos los extractos acuosos inhibieron la germinación (Cuadro 3).

Gutiérrez-Miceli *et al.* (2011), al probar diferentes mezclas de vermicompostas y lixiviados de las mismas, encontraron que para rábano el máximo valor (54:2 %) del porcentaje de germinación se tuvo con bajas proporciones de ambas componentes.

Al evaluar compostas procedentes de estiércol de ganado vacuno y conejo, así como una composta comercial y su efecto en la germinación de lechuga, se comprobó que ninguna proporción de los extractos de estas mezclas y el tipo de las mismas afectaron de manera significativa la germinación (Huerta-Muñoz *et al.*, 2015). Es importante destacar lo enunciado por Paradelo *et al.* (2010) en relación a los diferentes índices de fitotoxicidad establecidos, como es el caso del porcentaje de germinación, de que es poco conveniente contrastar resultados de materiales compostados de diferente naturaleza, ya que pueden llevar a resultados contradictorios. La mayor sensibilidad de *R. sativus* al efecto fitotóxico de los extractos acuosos con respecto a *L. sativa* se

ha corroborado en otros trabajos, independientemente del tipo de material compostado evaluado (Varnero *et al.*, 2007; Huerta-Muñoz *et al.*, 2015).

Cuadro 3. Porcentaje de germinación en semillas de rábano, lechuga, tomate y chile en los diferentes extractos acuosos evaluados.

Tratamiento	<i>Raphanus sativus</i>	<i>Lactuca sativa</i>	<i>Solanum lycopersicum</i>	<i>Capsicum annum</i>
T1	81.7±17.99 ^d	67.0±13.62 ^{fg}	63.0±13.64 ^{hi}	69.7±11.06 ^d
T2	72.0±17.99 ^a	45.0±13.62 ^{fg}	49.0±13.64 ^j	52.0±11.06 ^{fgh}
T3	75.3±17.99 ^{bc}	60.3±13.62 ^h	63.0±13.64 ^{hi}	58.0±11.06 ^{ef}
T4	80.0±17.99 ^{ab}	85.0±13.62 ^c	5.0±13.64 ^{ef}	70.3±11.06 ^d
T5	73.3±17.99 ^c	90.0±13.62 ^{ab}	91.0±13.62 ^{abc}	85.3±11.06 ^a
T6	40.3±17.99 ^g	80.0±13.62 ^d	92.0±13.62 ^{ab}	70.0±11.06 ^d
T7	30.0±17.99 ^h	70.0±13.62 ^f	87.0±13.62 ^{bc}	84.0±11.06 ^{ab}
T8	47.3±17.99 ^f	75.0±13.62 ^e	94.0±13.62 ^a	73.0±11.06 ^{cd}
T9	38.7±17.99 ^g	55.0±13.62 ⁱ	80.0±13.62 ^{de}	77.3±11.06 ^{bc}
T10	37.7±17.99 ^g	71.0±13.62 ^{ef}	68.0±13.62 ^{gh}	54.0±11.06 ^{efg}
T11	55.3±17.99 ^e	65.0±13.62 ^g	75.0±13.62 ^{ef}	50.7±11.06 ^{gh}
T12	38.0±17.99 ^g	91.0±13.62 ^a	80.0±13.62 ^{de}	46.3±11.06 ^{gh}
T13	55.3±17.99 ^e	86.0±13.62 ^{bc}	72.0±13.62 ^{fg}	59.0±11.06 ^e
T14	65.7±17.99 ^d	80.0±13.62 ^d	60.0±13.62 ⁱ	70.3±11.06 ^d

Valores muestran la media de seis repeticiones. ± desviación estandar. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Índices de germinación

En rábano sobresalieron los tratamientos de extractos acuosos procedentes de aserrín con altos valores de índices de germinación (93-175) y sus combinaciones (T4 y T5), la turba combinada en mediana y alta proporción tuvieron valores de 85 y 116; de igual manera la vermicomposta sola y en altas proporciones presentaron índices de germinación por encima de 85, lo que los cataloga como extractos sin fitotoxicidad y moderada fitotoxicidad (Figura 1). El uso de sustratos sólidos muestra que la composta de aserrín, la turba y sus combinaciones, y el suelo en general no presentaron indicios de fitotoxicidad. Para ambos casos, se indican diferencias significativas de los tratamientos sobresalientes con el resto de los evaluados.

Para el caso de la lechuga, la mayoría de los tratamientos mostraron altos IG por encima de 80, que de acuerdo con Emino y Warman (2004) estos valores son indicativos de la presencia de nutrientes y/o de promotores de la germinación en los materiales evaluados, solo el extracto acuoso del suelo solo y puro mostraron IG por debajo del 80%. Todos los sustratos sólidos mostraron IG por encima de 100, la única excepción fue el suelo (49) lo que muestra que tiene altos niveles de fitotoxicidad.

Si bien se ha demostrado una mayor sensibilidad del rábano en comparación a otras especies hortícolas respecto a valores de IG, en el presente estudio el mayor efecto se pudo establecer en el porcentaje de germinación. Trabajando con compostas Ofosu-Budu *et al.* (2010) establecen que la prueba de IG es capaz de discriminar entre compostas maduras de inmaduras. Por otro lado, García-

Ramírez *et al.* (2016) confirman que el IG es un parámetro más sensible para determinar el potencial fitotóxico en materiales compostados en comparación al porcentaje de germinación, tratándose además de una técnica rápida, sencilla y poco costosa.

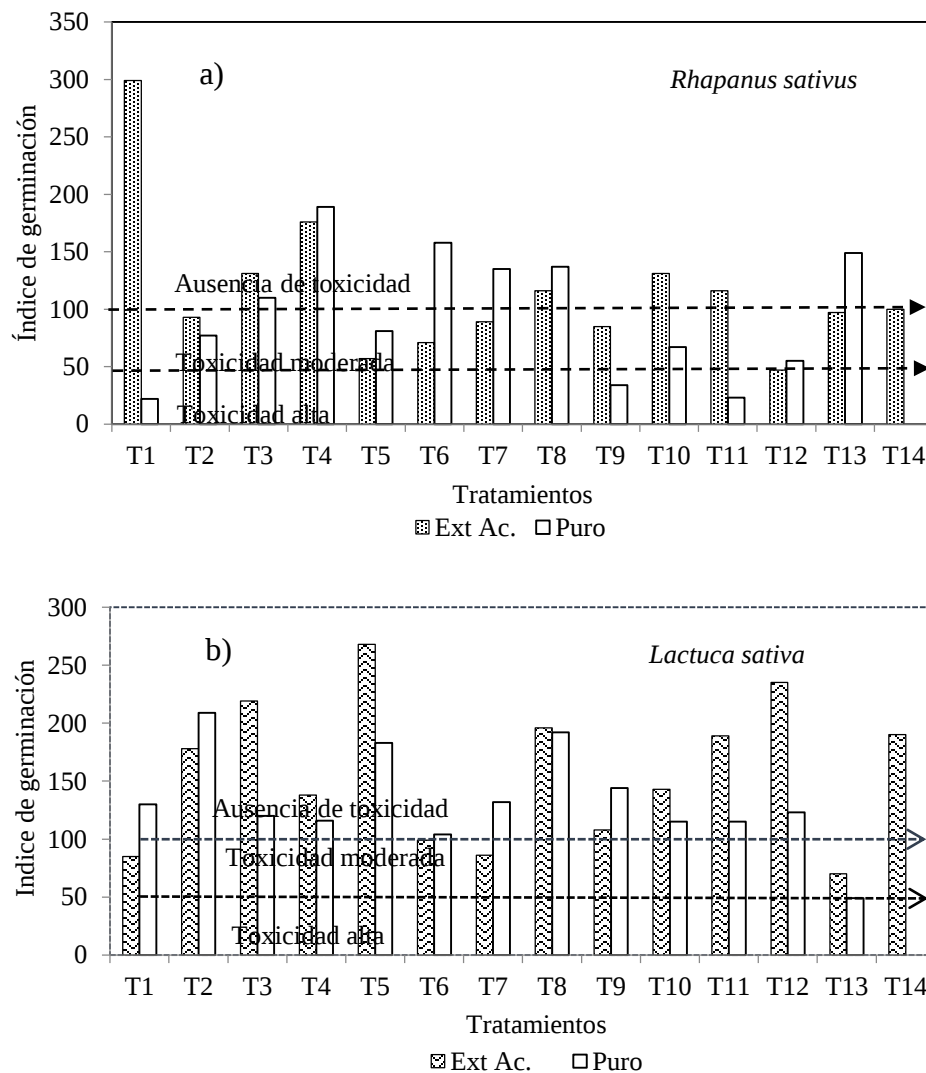


Figura 1. Índices de germinación en semillas de *Rhaparus sativus* (a) y *Lactuca sativa* (b) en extractos acuosos (Ext Ac.) procedentes de materiales compostados solos o combinados y sustratos sólidos con suelo agrícola.

Los índices de germinación en *S. lycopersicum* fueron los más altos y, a excepción de la composta de aserrín en baja proporción, todos los tratamientos no mostraron fitotoxicidad. Cuando se evaluaron los sustratos puros, la composta de aserrín y turba en baja proporción, así como el suelo presentaron los más bajos índices de germinación (Figura 2).

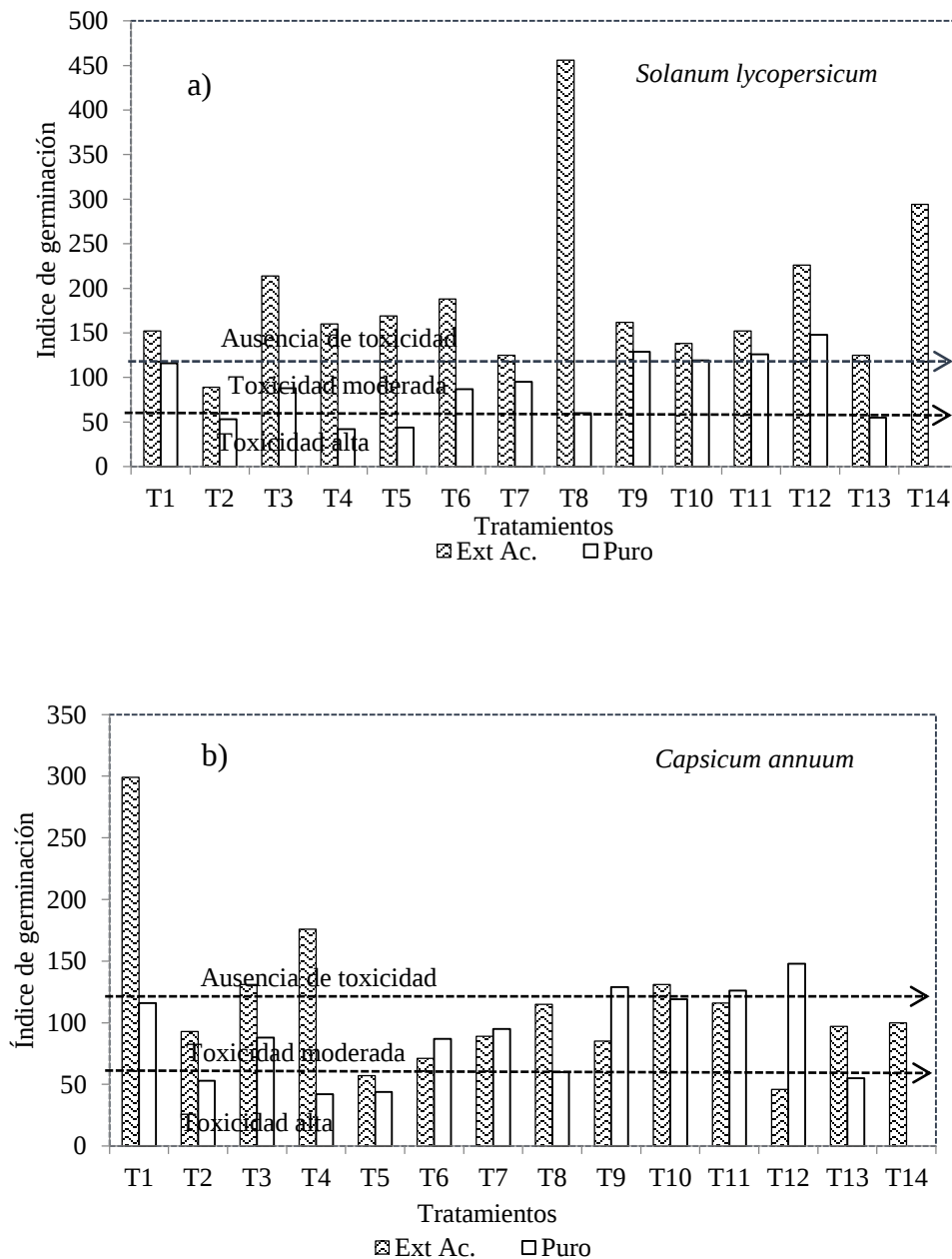


Figura 2. Índices de germinación en semillas de *Solanum lycopersicum* (a) y *Capsicum annuum* (b) para extractos acuosos (Ext. Ac.) procedentes de materiales compostados solos o combinados con suelo agrícola.

El uso de extractos acuosos en semillas de *C. annuum*, en general en todos los tratamientos generaron índices de germinación con valores que denotan ausencia de fitotoxicidad (Figura 2). Para esta especie, los sustratos puros de la vermicomposta y sus mezclas dieron como resultado los valores más altos de IG para esta especie (119-148).

De los resultados obtenidos en el presente estudio y de los reportados en otras investigaciones, se infiere que los valores de IG en las especies valoradas varían dependiendo de los materiales utilizados, por lo que se recomienda realizar las pruebas de fitotoxicidad con aquellas especies que se desea trabajar si se pretende hacer uso de materiales compostados (Cano *et al.*, 2011). Por otro lado, es posible que las razones de la fitotoxicidad de los compost para cada especie evaluada se deban a causas diversas y en cada caso en particular intervienen distintos componentes (Zubillaga *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

Las tasas de germinación en las mezclas de los materiales evaluados variaron de acuerdo con la especie vegetal valorada, corroborándose la sensibilidad del rábano con relación a su capacidad germinativa tanto en sustratos puros como en los extractos de las mezclas de los materiales compostados evaluados; se evidencia también su afinidad a la composta de aserrín. La lechuga también mostró sensibilidad a la vermicomposta. Las semillas de tomate y chile fueron muy sensibles a casi todos los materiales evaluados. Los índices de germinación determinados muestran que la fitotoxicidad de los materiales evaluados en las especies vegetales probadas fue en su mayoría ligeramente tóxicos o sin fitotoxicidad presente. Esto indica que el uso del porcentaje de germinación fue más discriminativo para establecer la sensibilidad de las especies evaluadas. Dada la sensibilidad diferencial de las especies vegetales es necesario realizar pruebas que permitan establecer la presencia de sustancias promotoras de la germinación y crecimiento, o bien de sustancias con capacidad para inhibir estos procesos.

LITERATURA CITADA

- Bernal, M.P., J.A. Albuquerque and R. Moral. 2009. Composting of animal manures and chemical criteria for compost maturity assessment: A review. *Bioresource Technology* 100(22): 5444-5453. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.027>.
- Bueno P., R. Tapias, F. López y M. J. Díaz. 2008. Optimizing composting parameters for 36 nitrogen conservation in composting. *Bioresource Technology* 99: 5069-5077. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.087>
- Cano, R.P., R.A. Moreno, C.H. Marquéz y D.N. Rodríguez. 2004. Producción orgánica de tomate bajo invernadero en la Comarca Lagunera. Memorias del cuarto Simposio Nacional de Horticultura. Invernaderos: Diseño, Manejo y Producción. Torreón, Coahuila, México. In: Agricultura Orgánica. Cuarta parte. M Fortis, E Salazar, J Dimas, P Preciado (Eds.). Universidad Juárez del Estado de Durango. México.
- Cano, R.P., V.U. Figueroa, M.J.M. Cruz, E.I.A. Araiza y A. Moreno-Reséndez. 2011. Determinación del requerimiento de lavado y fitotoxicidad en compostas y sustratos para la producción en invernadero. In: Agricultura Orgánica. Cuarta parte. M Fortis, E Salazar, J Dimas, P Preciado (Eds.). Universidad Juárez del Estado de Durango. México. pp: 320-334.
- Crojen, A., C. Turner, A. Williams, A. Barker and S. Guy. 2003. Composting under controlled conditions. *Environmental Technology* 24: 1221-1234. <https://doi.org/10.1080/09593330309385664>
- David-Santoya, J.J.E., R. Gómez-Álvarez, A. Jarquín-Sánchez y A. Villanueva-López. 2018. Caracterización de vermicompostas y su efecto en la germinación y crecimiento de *Capsicum chinense* Jacquin. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 5(14): 181-190. <http://dx.doi.org/10.19136/era.a5n14.1465>

- Edwards, C.A. and N.Q. Arancón. 2004. The use of earthworms in the breakdown of organic wastes to produce vermicomposts and animal feed protein. In: Edwards, C.A. (Ed) *Earthworms Ecology* CRC Press, Boca Raton, Florida, London, New York, Washington. pp. 345-379.
- Elvira, C., L. Sampedro, E. Benitez and R. Nogales. 1998. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eisenia andrei*: A pilot scale study. *Bioresource Technology* 63: 205-211.
- Emino, E. and P. Warman. 2004. Biological assay for compost quality. *Compost, Science&Utilization* 12: 342-348. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2004.10702203>.
- García-Ramírez, G., F. Martínez-Rodríguez, N. Chávez-González, M. Hernández-Guillen, M. Dantín-Martínez y J.A. Pascual-Amaro. 2016. Prueba de fitotoxicidad para evaluar el grado de madurez en abonos orgánicos. *Agrotecnia de Cuba* 40(1): 47-52.
- Ofori-Budu, G.K., J.N. Hogarh, J.N. Fobil, A. Quaye, S.K.A. Danso and D. Carbo. 2010. Harmonizing procedures for the evaluation of compost maturity in two compost types in Ghana. *Resources Conservation and Recycling* 54(3): 205-209. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2009.08.001>
- Garg, P., A. Gupta and S. Satya. 2006. Vermicomposting of different types of waste using *Eisenia foetida*: A comparative study. *Bioresource Technology* 97: 391-395. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.009>
- Gutiérrez-Miceli, F.A., M.A. Oliva-Llaven, P. Mendoza-Nazar, B.J.D. Ruíz-Sesma, L. Álvarez-Solís and L. Dendooven. 2011. Optimization of vermicompost and worm-bed leachate for the organic cultivation of radish. *Journal of Plant Nutrition* 34:1642–1653. <https://doi.org/10.1080/01904167.2011.592561>
- Huerta-Muñoz, E., J. Cruz-Hernández, L. Aguirre-Álvarez, R. Caballero-Mata y L.F. Pérez-Hidalgo. 2015. Toxicidad de fertilizantes orgánicos estimada con bioensayo de germinación de lechuga. *Terra Latinoamericana* 33: 179-185.
- Hu, Z., R. Lane and Z. Wen. 2008. Composting clam processing wastes in a laboratory and pilot-scale in-vessel system. *Waste Management* 29(1):180–185. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2008.02.016>.
- Ianotti, D.A., T. Pang, B.L. Toth, D.L. Elwell, H.M. Keener and H.A.J. Hoitink. 1993. A quantitative respirometric method for monitoring compost stability. *Compost Science & Utilization* 1(3): 52-65. <https://doi.org/10.1080/1065657X.1993.10757890>.
- Lazcano, C., J. Arnold, A. Tato, J.G. Zaller and J. Domínguez. 2009. Compost and vermicompost as nursery pot components: effects on tomato plant growth and morphology. *Spanish Journal of Agricultural Research* 4: 944-951.
- López-Baltazar, J., A. Méndez-Matías, L. Pliego-Marín, E. Aragón-Robles y M.L. Robles-Martínez 2013. Evaluación agronómica de sustratos en plántulas de chile ‘onza’ (*Capsicum annuum*) en invernadero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6: 1139-1150.
- Ndegwa, P.M. and S.A. Thompson. 2001. Integrating composting and vermicomposting in the treatment and bioconversion of biosolids. *Bioresource Technology* 76: 107-112. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00104-8).
- Nogales, R., J. Domínguez y S. Mato. 2008. Vermicompostaje. En: Moreno, J y Moral, R. (Eds). *Compostaje*. Ed. Mundi-Prensa, Madrid. pp. 189-207.
- Ortega-Martínez, L.D., J. Sánchez-Olarte, R. Díaz-Ruiz y J. Ocampo-Mendoza. 2010. Efecto de diferentes sustratos en el crecimiento de plántulas de tomate (*Solanum esculentum* L.). *Ra Ximhai* 6(3): 365-372.

- Paradelo, R., A.B. Prieto, R.G. Sandu and M.T. Barral. 2010. Can stability and maturity be evaluated in finished composts from different sources? *Compost, Science & Utilization* 18: 22-31. <https://doi.org/10.1080/1065657X.2010.10736930>.
- Suthar, S. and S. Singh. 2008. Vermicomposting of domestic waste by using two epigeic earthworms (*Perionyx excavatus* and *Peryonyc sansibarius*). *International Journal Enviromental Science and Tecnology* 5(1): 99-106.
- Varnero, M.T., C. Rojas y R. Orellana. 2007. Índices de fitotoxicidad en residuos orgánicos durante el compostaje. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 7 (1) 2007 (28-37). <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-27912007000100003>.
- Varnero, M.T., K. Galleguillos, D. Guerrero y J. Suárez. 2014. Producción de biogás y enmiendas orgánicas a partir del residuo olivícola (alperujo). *Información Tecnológica* 25(5): 73-78. doi: 10.4067/S0718-07642014000500011.
- Velasco-Velasco, J., B. Figueroa-Sandoval, R. Ferrera-Cerrato, A. Trinidad-Santos y J. Gallegos-Sánchez. 2004. CO₂ and Microbial Population Dynamics in Manure and Straw Compost under Aeration. *Terra Latinoamericana*. 22(3):307-316.
- Wu, L., Q. Ma and G. A. Martínez. 2000. Comparison of Methods for Evaluating Stability and Maturity of Biosolids. *Compost. Journal of Environmental Quality*. 29(2): 424-429.
- Zubillaga, M., A. Branzini y R. Lavado. 2008. Problemas de fitotoxicidad en compost. *Revista Pilquen* 9: 1-5.
- Zucconi, F., A. Pera, M. Forte and M. De Bertoli. 1981. Evaluating toxicity in immature compost. *Biocycle* 22: 54-57.

MANEJO DEL GORGOJO DE FRIJOL ALMACENADO, CON EXTRACTOS DE PLANTAS ASOCIADAS AL CULTIVO¹

[MANAGEMENT OF STORED BEAN WEEVIL, WITH PLANT EXTRACTS ASSOCIATED WITH THE CROP]

Liliana Perales-Aguilar¹, José Luis Chávez-Servia³, Lucila Perales-Aguilar², Felipe Tafoya², Catarino Perales-Segovia^{1§}

¹Tecnológico Nacional de México / Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes (ITEL), km 18 de la carretera Ags. - SLP, El Llano, Ags., México. CP. 20330. ²Universidad Autónoma de Aguascalientes (UAA), Ciencias Básicas, Avenida Universidad 940, C.U., Aguascalientes, Ags., México. CP. 20130. ³CIIDIR-IPN, calle Hornos 1003, Santa Cruz Xoxocotlán, Oax., México. CP. 71230. [§]Autor para correspondencia: (cperales55@hotmail.com)

RESUMEN

Se analizaron extractos etanólicos y en infusión de las plantas *Cyclospium leptophyllum*, *Tithonia tubaeformis*, *Reseda luteola*, *Salvia microphylla* y *Solanum rostratum* contra el gorgojo del frijol almacenado *Acanthoscelides obtectus*. Con pruebas de olfatometría se seleccionaron los mejores extractos vegetales y un mediante un bioensayo con frascos con frijol, a los que se les aplicaron extractos de las plantas, se determinaron los mejores extractos para el manejo de la plaga. Los resultados del olfatómetro mostraron que la mayor respuesta repelente fue de los extractos de *C. leptophyllum* etanólico (89%), *S. rostratum* y *S. microphylla* en infusión (83%). Los extractos que mostraron mejor respuesta en la mortalidad fueron los extractos etanólicos de *C. leptophyllum* (100%), *S. microphylla* y *S. rostratum* (93.25%), al igual que los extractos en infusión de *C. leptophyllum* y *T. tubaeformis* (93.25%). Todas las plantas arvenses probadas mostraron actividad de repelencia y mortalidad, por lo que se propone su uso para el manejo de la plaga de *A. obtectus* en frijol almacenado, siendo una alternativa con menor impacto ambiental.

Palabras clave: *Acanthoscelides obtectus*, *Cyclospium leptophyllum*, *Solanum rostratum*, *Salvia microphylla*, manejo, arvenses.

ABSTRACT

Ethanollic and infusion extracts of the plants *Cyclospium leptophyllum*, *Tithonia tubaeformis*, *Reseda luteola*, *Salvia microphylla* and *Solanum rostratum* were analyzed. Olfactometry tests were performed to which plant extracts were applied and a bioassay with stored beans, to determine the more effective plant extracts. The olfactometer results showed that the greatest repellent response was from the extracts of *C. leptophyllum* ethanollic (89%), *S. rostratum* and *S. microphylla* in infusion (83%). The extracts that showed the best response in mortality were the ethanol extracts of *C. leptophyllum* (100%), *S. microphylla* and *S. rostratum* (93.25%), as well as the infusion extracts of *C. leptophyllum* and *T. tubaeformis* (93.25%). All tested weed plants showed repellency and mortality activity, so their use is proposed for the management of the *A. obtectus* pest in stored beans, being an alternative with less environment impact.

¹ Recibido: 07-septiembre-2020
Aceptado: 22-diciembre-2020

Index words: *Acanthoscelides obtectus*, *Cyclospermum leptophyllum*, *Solanum rostratum*, *Salvia microphylla*, management, weed plants.

INTRODUCCIÓN

El frijol, *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae), tiene un gran valor nutricional ya que contiene altos niveles de proteínas y aminoácidos esenciales, así como propiedades antioxidantes, antes y después del procedimiento de cocción (Landi *et al.*, 2017). Su consumo y producción han aumentado en los últimos años, ya que se estimaba en 17 millones de toneladas en el 2016. En México, ocupa la cuarta posición en importancia por su superficie de cultivo, después del maíz, pastos y sorgo (Banco de México, 2016). El almacenamiento es una de las etapas de producción más expuesta a las plagas, debido a esto los rendimientos anuales de la producción de frijol pueden sufrir pérdidas del 40%, si no se tratan los depósitos infectados (Savković *et al.*, 2019).

Las principales plagas del frijol durante su almacenamiento son los insectos coleópteros conocidos como gorgojos del frijol, *Zabrotes subfasciatus* y *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) (Rodríguez, 2018). La especie *Z. subfasciatus*, infesta granos sanos, los cubren de huevos y las larvas hacen perforaciones al alimentarse, lo cual causa la disminución del peso del grano y la cantidad de nutrientes (Cárdenas *et al.*, 2019). Mientras que *Acanthoscelides obtectus*, posee características fisiológicas como su adaptabilidad (Fogang *et al.*, 2012), ya que puede desarrollarse en temperaturas entre los 11 y 36 °C, aunque su tasa de desarrollo óptima es de aproximadamente 30 °C (Soares *et al.*, 2015). Se alimenta comúnmente de *P. vulgaris*, pero son capaces de asegurar la supervivencia de sus poblaciones en especies alternativas como el garbanzo, *Cicer arietinum* L. (Fabaceae) (Vuts *et al.*, 2018; Savković *et al.*, 2019). Su capacidad reproductiva es alta, y pueden alcanzar grandes poblaciones en períodos cortos (Baldin *et al.*, 2017). Debido a esto es una de las plagas más graves del frijol almacenado, ocasionando pérdidas de entre un 30 a 40% de la semilla (Duan *et al.*, 2017), reduciendo su calidad y tasa de germinación (Wille *et al.*, 2019).

La práctica más frecuente para el control de *A. obtectus* es mediante el uso de insecticidas sintéticos, como son los organofosforados y piretroides, al igual que fumigantes con fosfina (Baldin *et al.*, 2017). Algunos de sus efectos adversos son la rápida evolución de la resistencia a los insecticidas, la contaminación de los ecosistemas y el efecto en la salud humana (Lazarević *et al.*, 2018). Por lo que es de vital importancia buscar alternativas menos perjudiciales como el uso de agentes de control biológico y trampas con feromonas (Soares *et al.*, 2015). Estudios recientes que se han enfocado a controlar la plaga del gorgojo con el uso de herramientas con menor impacto ambiental y en la salud, incluyen el uso de polvos inertes (Lazarević *et al.*, 2018), tierra de diatomeas (Wille *et al.*, 2019), compuestos orgánicos volátiles (Rodríguez-González *et al.*, 2018) y el uso de ingeniería genética (Baldin *et al.*, 2017; Jiménez *et al.*, 2017). El polvo de alúmina mostró una alta eficacia insecticida debido a su capacidad de adsorber lípidos cuticulares del gorgojo con una toxicidad limitada para los humanos (Lazarević *et al.*, 2018).

La tierra de diatomeas tuvo buenos valores en mortalidad y disminución del número de insectos en la progenie (Wille *et al.*, 2019). Se ha demostrado que los genotipos de frijol resistentes identificados pueden usarse en programas de mejoramiento para desarrollar líneas comunes de frijol con resistencia a *A. obtectus* (Baldin *et al.*, 2017), como es el caso de la especie *Phaseolus acutifolius*, la cual tiene resistencia a la plaga, por lo que se podría transferir este rasgo resistente a

variedades comerciales de forma barata y segura (Jiménez *et al.*, 2017). Los compuestos orgánicos volátiles fúngicos, en especial las emisiones de terpenos, inhiben el crecimiento de otros organismos en su entorno inmediato, también se ha demostrado que la presencia de estos compuestos en las plantas puede repeler insectos dañinos o atraer insectos benéficos para el biocontrol de las plagas (Rodríguez-González *et al.*, 2018).

Por lo regular las plantas combaten los ataques patogénicos con estrategias estructurales o barreras físicas que impiden la penetración y propagación del patógeno dentro de la planta. Además, las células y los tejidos vegetales sintetizan y acumulan barreras bioquímicas que son tóxicas para el patógeno, creando condiciones inhibitorias para su desarrollo, debido a los metabolitos secundarios presentes en la planta, los cuales se pueden obtener mediante extracción con solventes orgánicos neutros o ácidos (Céspedes *et al.*, 2016). Recientemente han aumentado los estudios sobre el uso de plantas para controlar plagas, en el caso de *A. obtectus* se han usado especies como *Calceolaria integrifolia* (Calceolariaceae) (Céspedes *et al.*, 2016); la albahaca, *Ocimum basilicum* (Lamiaceae) y la citronela, *Cymbopogon winterianus* (Poaceae) (Rodríguez-González *et al.*, 2015). En donde se encontró que los extractos de *C. integrifolia* mostraron actividad fumigante, repelente y bioinsecticida de contacto contra el gorgojo (Céspedes *et al.*, 2016). Por su parte, *O. basilicum* y *C. winterianus* mostraron capacidad insecticida y potencial con sustancias activas contra *A. obtectus* (Rodríguez-González *et al.*, 2015). Otro tipo de plantas son las plantas arvenses, las cuales crecen en lugares no deseados, pero que también poseen metabolitos que pueden llegar a ser de gran valor industrial (Corneo *et al.*, 2019).

Por todo lo anterior el objetivo del presente trabajo fue evaluar extractos etanólicos e infusiones de cinco diferentes plantas arvenses nativas del estado de Aguascalientes, *Cyclosperrun leptophyllum*, *Tithonia tubaeformis*, *Reseda luteola*, *Salvia microphylla* y *Solanum rostratum*, preparados de manera artesanal, para el manejo de *A. obtectus* en frijol almacenado.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron 17 plantas asociadas al agroecosistema frijol, de las cuales se utilizaron siete para la prueba de olfatometría: cilantro de zopilote, *Cyclosperrun leptophyllum* (Apiaceae); polocote, *Tithonia tubaeformis* (Asteraceae); acelguilla, *Reseda luteola* (Resedaceae); mirto de monte, *Salvia microphylla* (Lamiaceae); mancamula, *Solanum rostratum* (Solanaceae); hierba carnícera, *Erigerum bonariensis* (Asteraceae); y neem, *Azadirachta indica* (Meliaceae). De estas se seleccionaron las primeras cinco para la realización del bioensayo, ya que fueron las que tuvieron valores superiores al 60% de repelencia en la prueba de olfatometría.

Preparación de extractos etanólicos

Se cortaron en pequeños trozos de cada una de las plantas arvenses completas. Después se colocaron 500 g del material vegetal en un recipiente de vidrio y se le puso un litro de etanol al 96%, se dejó reposar por 72 horas. Esta solución base con etanol se coló y el líquido restante se aforó a un litro con etanol al 96%. Por último, se hicieron diluciones de la solución base al 50%, colocando 6 mL de cada extracto en frascos de vidrio y se aforó a un litro de etanol, se almacenaron a 24 °C. La concentración final fue de 3 g L⁻¹ (3000 ppm).

Preparación de extractos en infusión

Se colocaron 500 g del material vegetal en trozos en un litro de agua, se colocó en un recipiente y se hirvió por 10 minutos, posteriormente, se coló y se aforó a 1 litro de agua. Por último, se hicieron diluciones de la solución base al 50%, colocando seis mL de cada extracto en frascos de vidrio en un litro de agua, se almacenaron a 4° C para su posterior uso, a una concentración de 3 g L⁻¹ (3000 ppm).

Cría de *Acanthoscelides obtectus*

El material biológico fue proporcionado por el Instituto Tecnológico El Llano Aguascalientes (ITEL). Se seleccionaron los gorgojos vivos y se les colocó en un frasco de vidrio con una tela mosquitera para permitir el acceso de oxígeno. Se dejaron 24 h sin alimento, previo a la primera aplicación, en condiciones de temperatura de 22.5 ± 2.5° C y humedad relativa de 25 - 30%.

Bioensayos con el olfatómetro

Para el bioensayo los gorgojos se introdujeron individualmente en el área central de la base del tubo Y de un olfatómetro (Vástago de 4 cm, brazos de 12 cm), conectado a una bomba de vacío Barnant Co. Modelo 400-3901, en cada uno de los brazos se colocó un tubo de plástico transparente de 15 cm con un matraz de 50 mL en el extremo, instalado en un laboratorio oscuro, con condiciones de temperatura de 22.5 ± 2.5° C y humedad relativa de 25 - 30%.

Para evaluar los efectos de las señales olfativas de forma individual, se depositaron 2 mL de los extractos en un papel filtro de 3 cm² y se introdujo en uno de los matraces, como control para extractos en alcohol se usó etanol al 50% con agua destilada y para extractos en infusión se usó agua destilada. Se registró el comportamiento de movilidad de los gorgojos durante 5 min, se anotó el tiempo y la elección del insecto. Se realizaron las repeticiones necesarias hasta tener 18 respuestas con cada extracto, renovando cada extracto después de cuatro repeticiones, todos los componentes del olfatómetro se lavaron con etanol al 70% y con agua destilada para evitar cualquier efecto potencial de las señales olfativas residuales.

Experimento con frijol almacenado

Se seleccionaron los granos de frijol que estuvieran en mejor estado y que no presentaran alguna cavidad en su superficie. Se pesaron y se colocaron 100 g en frascos transparentes de plástico con tapa. Después, se colocaron diez gorgojos vivos en cada uno de los frascos, donde la unidad experimental fue un frasco de 100 mL, en un diseño completamente al azar con 11 tratamientos, cinco extractos en alcohol, cinco en infusión y un testigo al que solo se le aplicó agua. De las diluciones realizadas se tomaron 5 µl de cada una y se hicieron tres aplicaciones, una cada tres días, con atomizador a los frascos con frijol y gorgojos, se registraron los frascos cada semana y cuando la mortalidad en uno de los tratamientos llegó al 100% (4 semanas), se registraron los datos de todos los tratamientos para realizar los análisis estadísticos, con los datos obtenidos y con los datos corregidos de acuerdo a la fórmula de mortalidad de Abbott (Abbott, 1925).

El análisis de los datos se realizó usando el paquete estadístico y software, SAS University Edition versión 1.12. Se realizaron análisis de varianza (ANOVA) para determinar las diferencias significativas entre tratamientos, así como una prueba de comparación de medias usando el método

de Tukey ($p > 0.05$), para conocer el mejor tratamiento para los dos tipos de extractos usados en el experimento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos de la prueba de olfatometría se muestran en la Figura 1, la mayor respuesta repelente fue de los extractos de *C. leptophyllum* en extracto etanólico (89%), *S. rostratum* y *S. microphylla* en extracto en infusión (83%), así como *R. luteola* en extracto etanólico (80%). Mientras que los extractos que mostraron mayor atracción fueron los de *C. leptophyllum* en infusión (83%), y *S. rostratum* etanólico (78%).

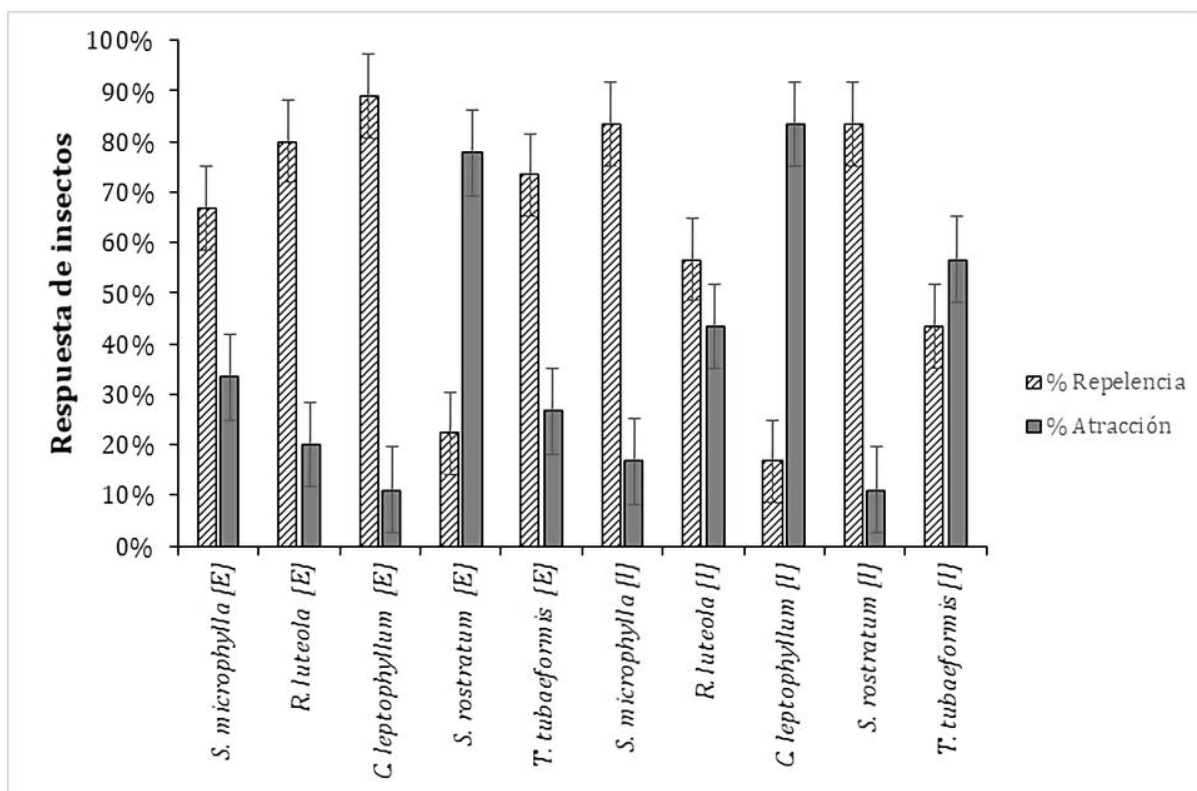


Figura 1. Respuesta del movimiento en el olfatómetro de *A. obtectus* por el efecto de extractos de plantas arvenses. [E] = Etanólico, [I] = Infusión.

De acuerdo con el análisis de varianza se determinó que todos los tratamientos mostraron mortalidad alta del gorgojo. Los resultados de la prueba Tukey se muestran en el Cuadro 1.

Los extractos que mostraron mejor respuesta en la mortalidad fueron los extractos etanólicos de las plantas *C. leptophyllum* (100%), *S. microphylla* y *S. rostratum* (93.25%), al igual que los extractos en infusión de *C. leptophyllum* y *T. tubaeformis* (93.25%). *S. microphylla* en infusión tuvo el valor más bajo de mortalidad (60%), mientras que los demás extractos mostraron una buena respuesta con 80% de mortalidad.

Cuadro 1 Resultados de la prueba de comparación de medias Tukey (5%) de la mortalidad de *A. obtectus* en extractos etanólicos y en infusión de plantas arvenses.

Tratamiento	Mortalidad (%)	Mortalidad corregida (%) (Abbott, 1925)
<i>S. microphylla</i> (E)	97.50 a*	93.25 a
<i>R. luteola</i> (E)	92.50 a	80.00 ab
<i>C. leptophyllum</i> (E)	100.00 a	100.00 a
<i>S. rostratum</i> (E)	97.50 a	93.25 a
<i>T. tubaeiformis</i> (E)	92.50 a	80.00 ab
<i>S. microphylla</i> (I)	85.00 a	60.00 ab
<i>R. luteola</i> (I)	92.50 a	80.00 ab
<i>C. leptophyllum</i> (I)	97.50 a	93.25 a
<i>S. rostratum</i> (I)	92.50 a	80.00 ab
<i>T. tubaeiformis</i> (I)	97.50 a	93.25 a
Testigo (agua)	62.50 b	42.50 b

Promedios con la misma letra no difieren significativamente (Tukey, $p < 0.05$). [E] = Etanólico, [I] = Infusión.

Estudios recientes muestran un incremento en el uso de plantas para el control de plagas, para el caso de *A. obtectus* se han probado extractos de *Calceolaria integrifolia*, los cuales causaron una mortalidad significativa entre el 40 y 81% en concentraciones iguales a 500 ug cm⁻² (Cespedes *et al.*, 2016); los valores de mortalidad obtenidos oscilan entre el 60 y 100%, mostrando mayor mortalidad que los extractos de *C. integrifolia*, lo que se puede deber a diferencias en las concentraciones. También se han probado aceites esenciales de *O. basilicum*, y *C. winterianus*, los cuales redujeron significativamente la población de *A. obtectus*, así como las pérdidas de peso del frijol y el número de frijoles dañados. Para ambas plantas se logró el mejor control para la dosis de 120 µl matando a $74.94 \pm 3.19\%$ y $70.25 \pm 4.58\%$, para *O. basilicum* y *C. winterianus* respectivamente, a los 15 días (Rodríguez-González *et al.*, 2015); los extractos de *C. leptophyllum*, *S. rostratum*, *S. microphylla* y *T. tubaeiformis* obtuvieron valores mayores de mortalidad a una dosis menor (5 ul), por lo que representan una alternativa rentable para el control del gorgojo. De igual forma, se han usado aceites esenciales y vegetales de *Zanthoxylum xanthoxyloides* (Rutaceae) contra el gorgojo, los cuales fueron fuertemente repelentes y altamente tóxicos, redujeron en gran medida la reproducción, la pérdida de peso del frijol y no afectaron negativamente la viabilidad de la semilla. El porcentaje promedio de repelencia fue del 92.5% para el aceite esencial a 0.501 mL cm⁻² y del 90.3% para el aceite vegetal a 3.144 mL cm⁻² (Fogang *et al.*, 2012); valores mayores a los obtenidos que van del 17 al 89%, lo cual se puede deber a la presencia de otros compuestos en los aceites por el método de extracción utilizado, o a la concentración usada, la cual fue ligeramente mayor en el caso del aceite esencial y menor en el aceite vegetal.

Sobre las plantas arvenses analizadas, no se tiene registro de su actividad contra plagas como *A. obtectus*, pero se ha logrado establecer que presentan metabolitos como alcaloides, glicósidos del sitosterol, diterpenos, triterpenos y compuestos fenólicos (Singh *et al.*, 2013; Del Vitto *et al.*, 2015; Romo-Asunción *et al.*, 2016), que tienen actividades contra ciertos patógenos. Por ejemplo, aceites esenciales de *C. leptophyllum* provocan una fuerte actividad antifúngica contra *Candida albicans* (Saccharomycetaceae) y una actividad moderada contra bacterias Gram-positivas y Gram-

negativas, como *Staphylococcus aureus* (Staphylococcaceae) y *Erwinia herbicola* (Erwiniaceae) (Singh *et al.*, 2013), es por esto que mostró los valores más altos en porcentaje de repelencia y mortalidad, siendo el mejor tratamiento de todos los analizados. Por su parte, *S. rostratum* también ha mostrado actividad antimicótica, antioxidante y antiinflamatoria (Del Vitto *et al.*, 2015), es por esto que esta planta tuvo buena respuesta en el olfatómetro y en el bioensayo, el extracto etanólico tuvo 93.25% de mortalidad y la infusión 83% de repelencia. Extractos de *S. microphylla* ya han sido analizados por su potencial para controlar larvas del primer estadio del cogollero del maíz, *Spodoptera frugiperda* (Noctuidae), debido a sus propiedades insecticidas, a concentraciones de 550 ppm, causaron una mortalidad de larvas de 65% y una mortalidad de pupas de 82.5%. (Romo-Asunción *et al.*, 2016), con una concentración de 3000 ppm del extracto etanólico de *S. microphylla* se obtuvo una mortalidad del 93.25% contra *A. obtectus*, por lo que puede ser usado en el manejo de esta plaga. En el caso de *T. tubaeformis* y *R. luteola* se sabe que también sintetizan flavonoides de interés comercial (López-Caamal *et al.*, 2018). Esto sustenta la premisa de que se pueden controlar de manera efectiva algunas plagas y enfermedades, aprovechando recursos que se encuentran en el agroecosistema, con base en procedimientos artesanales accesibles para productores de bajos recursos, ya que las cinco especies de arvenses probadas en este trabajo mostraron gran efectividad, y que preparadas con solventes baratos y accesibles, como el agua y el alcohol, se pueden emplear de manera efectiva para proteger el frijol almacenado contra *A. obtectus*.

CONCLUSIONES

El mejor tratamiento tanto en porcentaje de mortalidad, como de repelencia, fue el extracto etanólico de *C. leptophyllum*. *S. microphylla* con mejor respuesta en porcentaje de repelencia, pero menor respuesta en mortalidad. Mientras que *S. rostratum* y *T. tubaeformis* también tuvieron buena respuesta en ambas variables. En general, todas las plantas arvenses mostraron buenos resultados para combatir la plaga del gorgojo, por lo que se propone el uso de extractos de plantas arvenses como repelentes y bioinsecticidas de contacto contra plagas de productos almacenados para cultivos de importancia económica.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Baldin, E. L. L., S. Camargo R., E. R. Pannuti, L. and M. Lara, F. 2017. Characterization of resistance to the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say, 1831 (Coleoptera: Bruchidae) in common bean genotypes. Arthropod-Plant Interactions 11: 861-870. <https://doi.org/10.1007/s11829-017-9540-6>
- Banco de México. 2016. Panorama Agroalimentario: Frijol 2016. [Consultado: 25 de noviembre de 2019] https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200638/Panorama_Agroalimentario_Frijol_2016.pdf.
- Céspedes, C. L., L. Luna-García, I. Kubo, R. Salazar J., A. Ariza-Castolo, J. Alarcón, and D. S. Seigler, 2016. *Calceolaria integrifolia* s.l. complex, reduces feeding and growth of *Acanthoscelides obtectus*, and *Epilachna varivestis*. A new source of bioactive compounds against dry bean pests. Industrial Crops & Products 89: 257-267. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.05.026>

- Cárdenas M., M., M. Lavastida-Pérez, R. Rodríguez-Rojas, E. Pozo-Velázquez y R. Valdés-Herrera. 2019. Incremento poblacional de *Zabrotes subfasciatus* en cultivares de frijol común. *Revista Centro Agrícola* 46: 38–45. [Consultado: 20 de noviembre de 2019] http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852019000200038&lng=en&tlng=es.
- Corneo, P. E., A. Pellegrini, L. Cappellin, C. Gessler and I. Pertot. 2013. Weeds influence soil bacterial and fungal communities. *Plant and Soil* 373: 107. <https://doi.org/10.1007/s11104-013-1754-5>
- Del Vitto, L. A. y E. M. Petenatti. 2015. Sobre la presencia de *Solanum rostratum* (Solanaceae) en Sudamérica: una neófita tóxica de gran potencial como maleza. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias* 47: 109–121.
- Duan, C., Z. Zhu, X. Wang, W. Li and S. Bao. 2017. Genetic diversity and differentiation of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) populations in China. *Agricultural and Forest Entomology* 19: 113–121. [10.1111/afe.12187](https://doi.org/10.1111/afe.12187)
- Fogang, H. P. D., H. M. Womeni, G. Piombo, N. Barouh and L. A. Tapondjou. 2012. Bioefficacy of Essential and Vegetable Oils of *Zanthoxylum xanthoxyloides* Seeds against *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Food Protection* 75: 547–555. 10.4315/0362-028X.JFP-11-136
- Jiménez, J. C., M. de la Fuente, B. Ordás, L. E. García-Domínguez and R. A. Malvar. 2017. Resistance categories to *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae) in tepary bean (*Phaseolus acutifolius*), new sources of resistance for dry bean (*Phaseolus vulgaris*) breeding. *Crop Protection* 98: 255–266. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.04.011>
- Lazarević, J., A. Radojković, I. Kostić, S. Krnjajić, J. Mitrović, M. B. Kostić and G. Branković. 2018. Insecticidal impact of alumina powders against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research* 77: 45–54. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2018.02.006>
- Landi, N., S. Ragucci, M. Fiorentino, V. Guida and A. Di Maro. 2017. Nutritional Values and Metabolic Profile with and without Boiled Treatment of “Gallo Matese” Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.), a Landrace from Southern Italy. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentaria* 16: 331–344. <https://doi.org/10.17306/J.AFS.2017.0510>
- López-Caamal, A., E. Tovar-Sánchez and R. Reyes-Chilpa. 2018. Hybridization between *Tithonia tubaeformis* and *T. rotundifolia* (Asteraceae) evidenced by nSSR and secondary metabolites. *Plant Systematics and Evolution* 304: 313–326. 10.1007/s00606-017-1478-8
- Rodríguez, S. A. 2018. Semiochemistry of the Bruchidae species. *Journal of Stored Products Research* 77: 148–155. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2018.04.011>
- Rodríguez-González, A., S. Álvarez-García, O. González-López, P. A. Casquero and F. Da Silva. 2015. Insecticidal properties of *Ocimum basilicum* and *Cymbopogon winterianus* against *Acanthoscelides obtectus*, insect pest of the common bean (*Phaseolus vulgaris*, L.). *Insects* 10: 151. <https://doi.org/10.3390/insects10050151>
- Rodríguez-González, A., P. A. Casquero, V. Suárez-Villanueva, G. Carro-Huerga, S. Álvarez-García, S. Mayo-Prieto and S. Gutiérrez. 2018. Effect of trichodiene production by *Trichoderma harzianum* on *Acanthoscelides obtectus*. *Journal of Stored Products Research* 77: 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2018.05.001>
- Romo-Asunción, D., M. A. Ávila-Calderón, M.A. Ramos-López, J. E. Barranco-Florido, S. Rodríguez-Navarro, S. Romero-Gómez and M. A. Rico-Rodríguez. 2016. Juvenomimetic and insecticidal activities of *Senecio salignus* (Asteraceae) and *Salvia microphylla* (Lamiaceae) on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *The Florida Entomologist* 99: 345. <https://doi.org/10.1653/024.099.0301>

- Singh, C., S. Singh, C. Pande, G. Tewari, V. Pande and P. Sharma. 2013. Exploration of antimicrobial potential of essential oils of *Cinnamomum glanduliferum*, *Feronia elephantum*, *Bupleurum hamiltonii* and *Cyclospermum leptophyllum* against foodborne pathogens. *Pharmaceutical Biology* 51: 1607–1610. 10.3109/13880209.2013.805234
- Savković, U., M. Đorđević and B. Stojković. 2019. Potential for *Acanthoscelides obtectus* to Adapt to New Hosts Seen in Laboratory Selection Experiments. *Insects* 10: 153. <https://doi.org/10.3390/insects10060153>
- Soares, M. A., E. D. Quintela, G. M. Mascarín and S. P. Arthurs. 2015. Effect of temperature on the development and feeding behavior of *Acanthoscelides obtectus* (Chrysomelidae: Bruchinae) on dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Stored Products Research* 61: 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.12.005>
- Vuts, J., C. M. Woodcock, L. König, S. J. Powers, J.A. Pickett, A. Szentesi and M. A. Birkett. 2018. Host shift induces changes in mate choice of the seed predator *Acanthoscelides obtectus* via altered chemical signalling. *PLOS ONE* 13: 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206144>
- Wille, C. L., P.E. Wille, J. M. Da Rosa, M. I. C. Boff and C. R. Franco, C. R. 2019. Efficacy of recovered diatomaceous earth from brewery to control *Sitophilus zeamais* and *Acanthoscelides obtectus*. *Journal of Stored Products Research* 83: 254–260. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.07.004>

CARACTERIZACIÓN EDAFOLÓGICA DONDE CRECEN *Pinus strobus* var. *chiapensis* y *Quercus macdougalii*, ESPECIES CON ALTO INTERÉS DE CONSERVACIÓN¹

[EDAPHOLOGICAL CHARACTERIZATION WHERE *Pinus strobus* var. *chiapensis* and *Quercus macdougalii* GROWS, SPECIES WITH HIGH CONSERVATION INTEREST]

Adan Nava-Nava¹, Nayely Pérez-Cruz¹, Erickson Basave-Villalobos², Ramón Trucíos-Caciano³, Pablo Antúnez^{4§}

¹Universidad de la Sierra Juárez, Avenida Universidad S/N, Ixtlán de Juárez, Oaxaca, México, 68725. ²Campo Experimental Valle del Guadiana, CIRNOC, INIFAP. Carretera federal Durango-El Mezquital Km. 36.5, Durango, México. C. P. 34170. ³CENID-RASPA. Km. 6.5, Margen derecho Canal Sacramento, Gómez Palacio, Durango, México, 35140. ⁴División de Estudios de Posgrado, Universidad de la Sierra Juárez, Avenida Universidad S/N, Ixtlán de Juárez, Oaxaca, México, 68725. [§]Autor para correspondencia: (p.antunez4@unsij.edu.mx)

RESUMEN

Las propiedades físicas y químicas de los suelos son factores importantes que determinan la distribución y abundancia de las especies arbóreas. En este estudio se determinaron los intervalos óptimos de propiedades físicas y químicas de suelos en los que hay presencia de *Pinus strobus* var. *chiapensis* y *Quercus macdougalii*, especies en categoría de riesgo. El estudio se realizó en la Sierra Norte de Oaxaca, en sitios de los predios de Ixtlán de Juárez, Santiago Comaltepec y San Pedro Yólox. Las propiedades analizadas fueron el pH, conductividad eléctrica, carbono orgánico, textura, materia orgánica, y cationes como calcio, potasio, magnesio y sodio. Se utilizó la curva de densidad de Kernel, con un intervalo de confianza de 95 %, para delimitar el intervalo de presencia máxima de cada especie para las propiedades del suelo analizadas. Los intervalos óptimos para ambas especies coincidieron en varias propiedades, cuyos valores fueron: pH 4.1-4.6, conductividad eléctrica 0.03-0.06 dS m⁻¹, carbono orgánico 10-12 kg m⁻², textura franco arenosa, contenido de materia orgánica 4.3-4.8%. Definir los intervalos óptimos reportados en este estudio contribuye en la caracterización edafológica de los sitios donde crecen *Pinus strobus* var. *chiapensis* y *Quercus macdougalii* mismos que podrían servir al implementar estrategias de manejo y conservación de las especies.

Palabras claves: Kernel, rango óptimo, modelo suavizados, grado de incertidumbre.

ABSTRACT

The physical and chemical properties of forest soils are important factors that determine both the distribution and abundance of tree species. In this study, several physical and chemical properties of the soils were analyzed to determine the optimal intervals for the presence of *Pinus strobus* var. *chiapensis* and *Quercus macdougalii*, species under risk category. This study took place in the

¹ Recibido: 01-julio-2020
Aceptado: 10-diciembre-2020

Sierra Norte of Oaxaca, involving areas of Ixtlán de Juárez, Santiago Comaltepec, and San Pedro Yólox. The properties analyzed were pH, electrical conductivity, organic carbon, texture, organic matter, and cations such as calcium, potassium, magnesium, and sodium. The Kernel density curve with a 95 % confidence interval was used to delimit the range of maximum presence of each species for the soil properties examined. The optimal interval for both species were similar in several properties, whose values were: pH 4.1-4.6, electrical conductivity 0.03-0.06 dS m⁻¹, organic carbon 10-12 kg m⁻², loamy sand texture, organic matter content 4.3-4.8%. Defining the optimal intervals on the soil characteristics where *Pinus strobus* var. *chiapensis* and *Quercus macdougalii* grow contribute to the edaphological characterization of the sites to implement better management and conservation strategies for the species.

Index words: Kernel, optimal range, smoothed model, degree of uncertainty.

INTRODUCCIÓN

El estado de Oaxaca presenta la mayor diversidad vegetal de México al poseer un total de 251 familias de plantas vasculares, 1824 géneros, 8431 especies y 8600 taxones, lo que constituye el 40% de la flora vascular de México (García-Mendoza, 2004). Las angiospermas constituyen el mayor porcentaje con 217 familias, 1700 géneros y 7725 especies, mientras que se registran seis familias de gimnospermas, 12 géneros y 52 especies que representa el 32.5 % del total de la flora vascular registrada en el país (García-Mendoza, 2004).

En el estado convergen continentes florísticos característicos de la Sierra Madre del Sur, la Sierra Madre de Chiapas y el Eje Volcánico Transversal, lo que incrementa el número de especies principalmente de los géneros *Quercus* y *Pinus*, por encima de otros géneros. En la Sierra Norte de Oaxaca, se presenta la mayor distribución de especies de dichos géneros (Valencia y Nixon, 2004).

Esta diversidad está relacionada con la fisiografía de las cadenas montañosas, sustratos de la región y de la composición de los tipos de suelo (Centeno-García, 2004). El suelo es de los recursos más importantes debido a sus propiedades físicas, químicas y biológicas, lo que genera variadas condiciones para una diversidad alta de organismos (Reyes y Valery, 2007). Las propiedades físicas y químicas del suelo juegan un papel importante en la distribución y abundancia de las especies arbóreas, además son consideradas como indicadores de la salud del suelo (Rucks *et al.*, 2004; Julca-Otiniano *et al.*, 2006; Sainz-Rozas *et al.*, 2011).

Para entender y estudiar los espacios en el cual crecen y prosperan las especies, existen herramientas que ayudan a conocer la distribución de estas al predecir el hábitat óptimo para el desarrollo de poblaciones de una especie en una localidad (Ferrier y Guisan, 2006). La estimación se realiza a partir de observaciones de campo y una serie de variables que actúan como condicionantes (Benito de Pando y Peñas de Giles, 2007).

En este sentido, las funciones de densidad de probabilidad (*fdp*); por ejemplo, la función de Weibull ha sido utilizada en muchas áreas para modelar conjuntos de datos complejos, debido a su flexibilidad para representar varias formas en la curva de densidad, esta se caracteriza por sus parámetros de forma, escala y localización (Rigby y Stasinopoulos, 2005; Martínez-Antúnez *et al.*, 2015).

Por otro lado, la función de densidad de Kernel propuesta por primera vez por Rosenblatt (1956), es una función no paramétrica cuya ventaja sobre la Weibull, radica en que posee mayor flexibilidad definida por una densidad simétrica y un parámetro positivo, que determina el tamaño del entorno de cada punto de estimación denominado ancho de banda o parámetro de suavizado, dado que define la suavidad de la estimación resultante (Parra-Murciego, 2011). Esta última *fdp* ha sido empleada ampliamente en las áreas de interés social y económico (Jiménez, 1991; Brufman *et al.*, 2005), y muy poco en el campo de la ecología o las ciencias forestales.

Tomando en cuenta lo anterior, el objetivo del presente estudio fue caracterizar las propiedades físicas y químicas del suelo y determinar los intervalos óptimos en los cuales ocurre la presencia de *Pinus strobus* var. *chiapensis* Martínez y *Quercus macdougalii* Martínez, en la Sierra Norte de Oaxaca, especies de alto valor de conservación en la región.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó al norte del estado Oaxaca, abarcando diferentes áreas de los municipios de Ixtlán de Juárez (17°32'-17°44' LN y 96°16'-96°36' LO), Santiago Comaltepec (17°17'-17°41' LN y 96°07'-96°32' LO) y San Pedro Yólox (17°35' LN y 96°33' LO) (Figura 1).

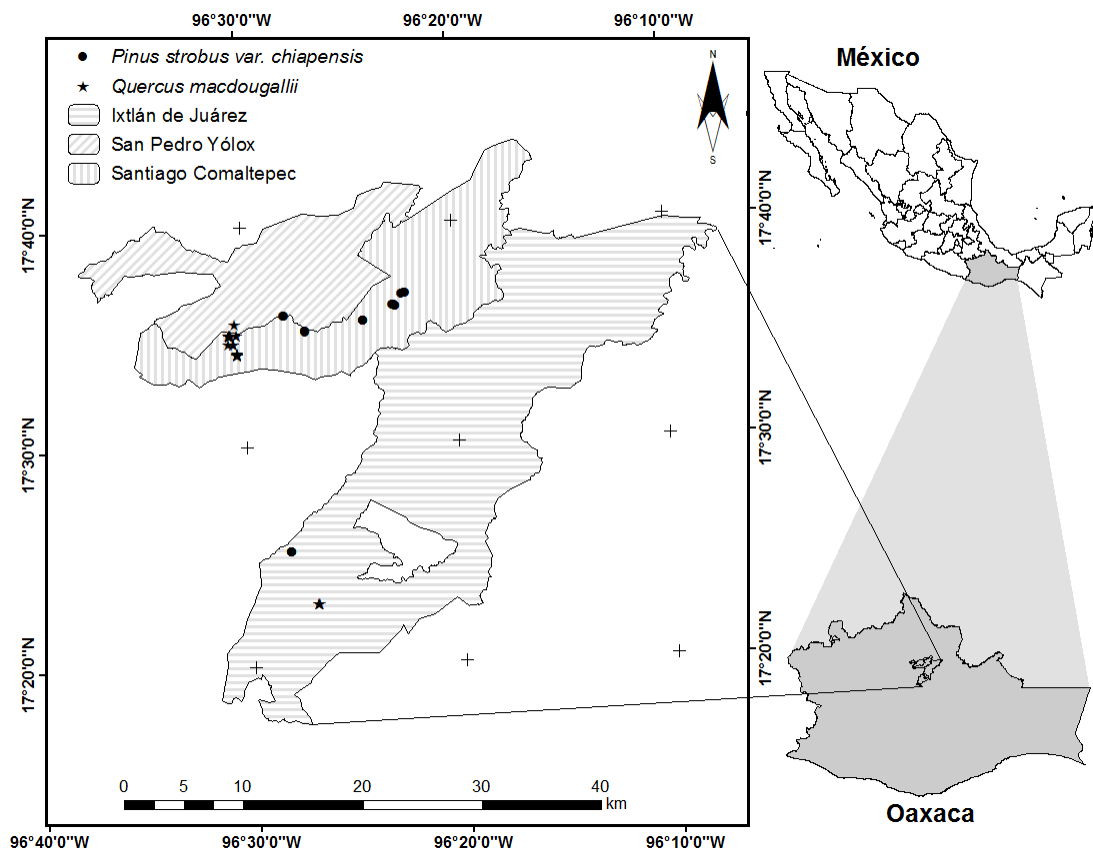


Figura 1. Distribución geográfica de los sitios de muestreo en el área de estudio.

Las dos especies que se estudiaron tienen una distribución limitada en la región: Por un lado, *Quercus macdougalii*, es una especie endémica con una distribución restringida en la Sierra Norte de Oaxaca, aparece en la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza en la categoría de vulnerable (VU) (UICN, 2019). Recientemente, existen registros de presencia en los municipios de San Pedro Yólox, San Juan Quiotepec y Santiago Comaltepec (UNIBIO, 2019).

Por otro lado, *Pinus strobus* var. *chiapensis*, especie nativa de México y América Central; se distribuye en México en los estados de Chiapas, Guerrero, Puebla, Oaxaca y Veracruz (Eguiluz-Piedra, 1988). Constituye uno de los recursos forestales con importancia ecológica, así como económica por la calidad alta de su madera (López-Gijón, 2007). La especie está enlistada en la NOM-059-SEMARNAT-2010 (NOM-059, 2010) en la categoría de protección especial; no obstante, es catalogada como una especie en peligro de extinción (EN) por la UICN (2019).

Muestreo y obtención de datos

Para determinar el pH, la conductividad eléctrica, carbono orgánico, y la textura del suelo, se colectaron muestras de suelo en la base de los árboles seleccionando 30 individuos de cada especie, para lo cual se usó un muestreo sistemático aleatorio para abarcar las distintas condiciones locales del hábitat de las especies como cercanía de arroyos, orientación geográfica, pendiente del terreno y variación de la cubierta vegetal.

En la base de cada individuo seleccionado, se tomó una muestra compuesta (cuatro submuestras) de 800 a 1000 g, a una profundidad de 30-60 cm, hasta localizar una capa de suelo sin indicios visibles de materia orgánica. Posteriormente se etiquetaron para luego trasladarlas al laboratorio del Instituto de Estudios Ambientales de la Universidad de la Sierra Juárez, donde se hicieron los análisis del pH, conductividad y cantidad de carbono orgánico descritos en la Norma Oficial Mexicana NOM-021-RECNAT-2000 (NOM-021, 2002). La textura del suelo se determinó con los procedimientos sugeridos por la Unión Internacional de Ciencias del Suelo (IUSS) y la Organización para la Agricultura y la Alimentación de las Naciones Unidas (FAO) (Base Referencial Mundial del Recurso Suelo, 2007).

De manera adicional, se calcularon cinco propiedades del suelo para cada sitio de muestreo, a partir de un mapa de suelos obtenido por Cruz-Cárdenas *et al.* (2014), siguiendo los procedimientos descritos por los mismos autores. Las propiedades calculadas con este último procedimiento fueron: contenido de materia orgánica (MO) y cuatro cationes solubles: calcio (Ca), potasio (K), magnesio (Mg) y sodio (Na).

Determinación de intervalos de presencia máxima

Para determinar los valores de las variables edafológicas donde habita cada especie en mayor proporción, se utilizó la función de Kernel que es una forma no paramétrica de estimar la función de densidad de probabilidad de una variable aleatoria (Parzen, 1962; Terrell, y Scott, 1992) en virtud de que las especies estudiadas en el área de estudio, no mostraron una distribución normal ni uniforme ante la variación unitaria de las variables edafológicas, sino distribuciones discontinuas con fluctuantes fuertes, dificultando el uso de alguna función paramétrica teórica. Entre las ventajas de esta función incluye la alta flexibilidad que lo caracteriza, comparada con las funciones paramétricas; además de identificar la asimetría y la multimodalidad de los datos analizados (Parzen, 1962; Worton, 1989). Esta función, ha sido adaptada exitosamente en estudios

relacionados con la caracterización del hábitat de algunas especies de plantas (e.g. Broennimann *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2018)

Para cada una de las variables y especies, las curvas de densidad de probabilidad se construyeron utilizando el modelo de Kernel. Después, se determinó el rango de presencia máxima para cada especie en función de cada variable del suelo, para lo cual, cada función se dividió en cuatro bloques (cuartiles), siendo el límite inferior del rango máximo el cuantil 0.25 y el límite superior el cuantil 0.75. El análisis se hizo en el programa estadístico R (R Development Core Team, 2012).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La función de densidad de Kernel proyectó apropiadamente el óptimo de cada especie, al mostrar los límites entre los cuales ocurre la presencia máxima de las mismas. El valor óptimo, así como el límite superior e inferior del intervalo óptimo, se muestran en el Cuadro 1 y en los gráficos de las Figuras 2, 3 y 4.

Cuadro 1. Intervalos óptimos de la tasa de abundancia por variable para cada especie.

	Variables							
	pH	CE (dS m ⁻¹)	Ca (cmol L ⁻¹)	OC (kg m ⁻²)	K (cmol L ⁻¹)	Mg (cmol L ⁻¹)	Na (cmol L ⁻¹)	MO (%)
<i>Quercus macdougalii</i>								
LI	3.6	0.02	0.50	11	0.060	0.31	0.028	4.23
Óptimo	4.1-4.5	0.04-0.06	0.54-0.55	11.1	0.060-0.062	0.31-0.32	0.028-0.029	4.30-4.37
LS	4.8	0.08	0.58	11.2	0.063	0.32	0.029	4.38
<i>Pinus strobus</i> var. <i>chiapensis</i>								
LI	3.5	0.02	0.45	10	0.045	0.25	0.221	3.9
Óptimo	4.2-4.6	0.03-0.04	0.52-0.66	10.70-12	0.053-0.066	0.27-0.30	0.222-0.227	4.3-4.8
LS	4.9	0.05	0.7	12.5	0.071	0.32	0.228	4.9

LI= límite inferior; LS= límite superior; CE= conductividad eléctrica; dS m⁻¹= decisiemens por metro, Ca= calcio; cmol L⁻¹= centimoles por litro; OC= carbono orgánico; kg m⁻²= kilogramo por metro cuadrado; K= potasio, Mg: magnesio, Na= sodio; MO= materia orgánica.

El intervalo óptimo del pH del suelo para las dos especies varió entre 4.1 y 4.6, siendo menor en *Quercus macdougalii* (Figura 2a, Cuadro 1), mientras que los intervalos de conductividad eléctrica oscilaron en 0.03 y 0.06 dS/m (Figura 2b, Cuadro 1).

Los valores de pH reportados en estudios previos para *Pinus strobus* var. *chiapensis* difieren con los resultados obtenidos en este estudio; por ejemplo, Álvarez (1996) reporta valores de 5.0, Chávez (2000) reporta valores entre 5.5 a 6.5, Rodríguez-Acosta y Arteaga-Martínez (2005) valores de 4.5 a 5.5 y López-Gijón (2007) reporta valores de 5.75 a 7.4, en tanto que los resultados de este estudio mostraron valores de pH entre 4.2 y 4.6 (Cuadro 1), aunque en general los valores refieren a suelos ácidos.

Por otro lado, en la Sierra Norte de Oaxaca no se encontraron estudios relacionados con el pH del suelo para *Quercus macdougalii*; sin embargo, de acuerdo con los resultados obtenidos esta especie tuvo un rango en pH de 3.6 a 4.8 con un intervalo óptimo de 4.1 a 4.5 (Cuadro 1), lo que indica que esta especie podría prosperar en suelos más ácidos comparado con *Pinus strobus* var. *chiapensis*.

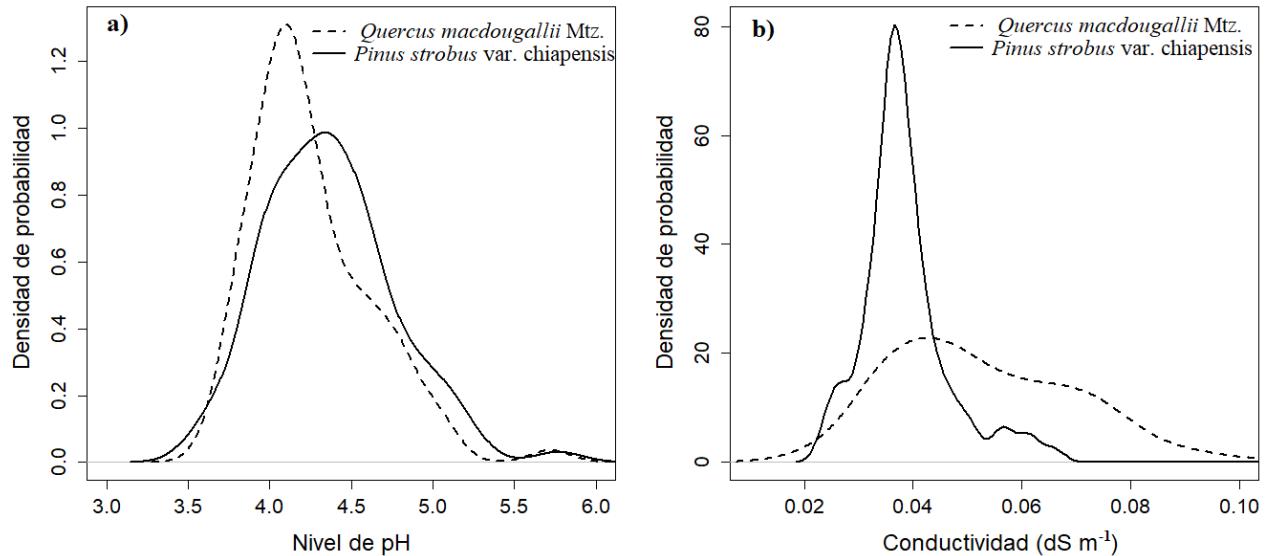


Figura 2. Rangos óptimos obtenidos con la función de densidad de Kernel para las dos especies, en función del (a) pH y (b) conductividad eléctrica.

La textura de los suelos muestreados fue de franco-arcillo-arenosa a franco-arenosa, pero predominó una textura franco-arenosa en el hábitat de las especies en estudio. *Quercus macdougalii* tuvo un pico secundario en menor escala en la curva de densidad, donde la textura del suelo es arcillo-arenosa; así mismo, *Pinus strobus* var. *chiapensis* también mostró un vértice secundario en suelos con textura franca (Figura 3). De acuerdo con los resultados, las dos especies estudiadas se distribuyen en suelos con textura franco-arenosa que podría estar relacionada con las condiciones topográficas las cuales cambian en escasos kilómetros en el área de estudio (Antúnez *et al.*, 2017b).

Los suelos muestreados tuvieron concentraciones por encima del 3 % de MO, sin superar el límite de 5 % sugerido por Molina (2007) que corresponde a un suelo rico en MO. El intervalo de presencia óptimo de MO para *Quercus macdougalii* varió de 4.30 a 4.37 %, mientras que para *Pinus strobus* var. *chiapensis* presentó valores más altos de 4.3-4.8 % (Figura 3a, Cuadro 1).

El porcentaje de MO y textura son importantes debido a que la MO aumenta la estabilidad y fortalece el tamaño de los agregados del suelo (Martínez *et al.*, 2008), así como ambas propiedades juegan un papel esencial para las reacciones físicas y químicas del suelo (Muñoz *et al.*, 2006), además la textura es una variable importante para el suministro de agua y aire (Martínez *et al.*, 2008). Los resultados del estudio sugieren que los suelos preferidos por ambas especies tienen de mediana a alta aireación con agregados relativamente estables por la alta concentración de limo y arena, esto contribuye a la mayor disponibilidad de agua y favorece el sistema radicular de las especies.

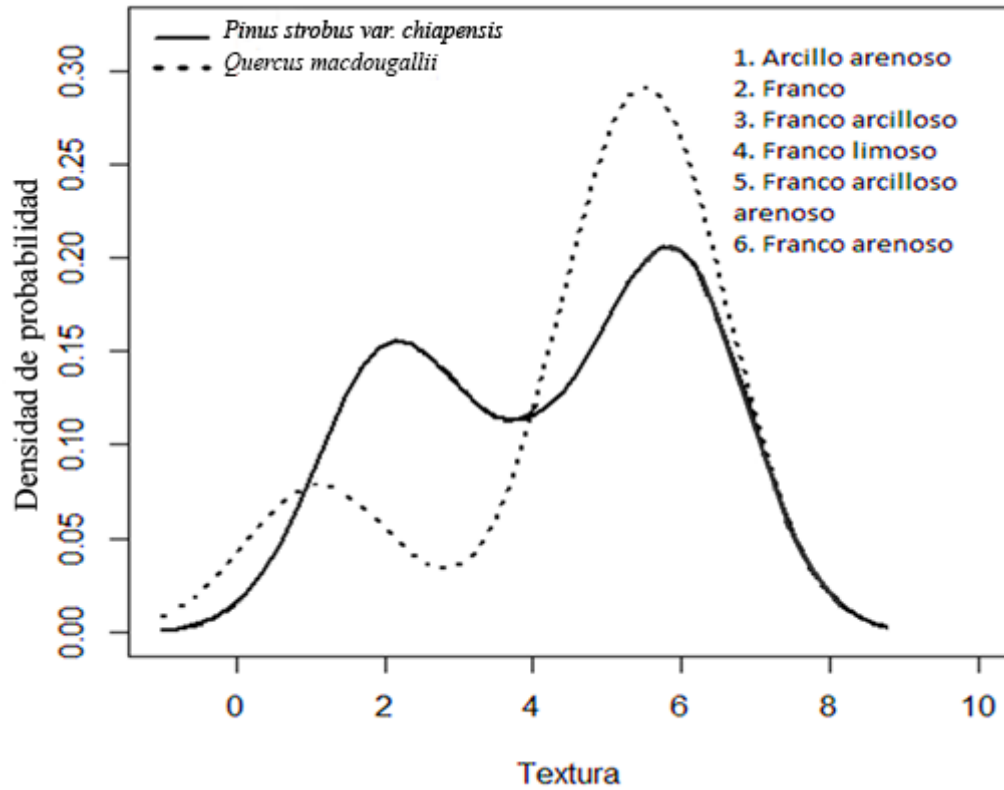


Figura 3. Textura del suelo en sitios con presencia de *Pinus strobus* var. *chiapensis* y *Quercus macdougalii*.

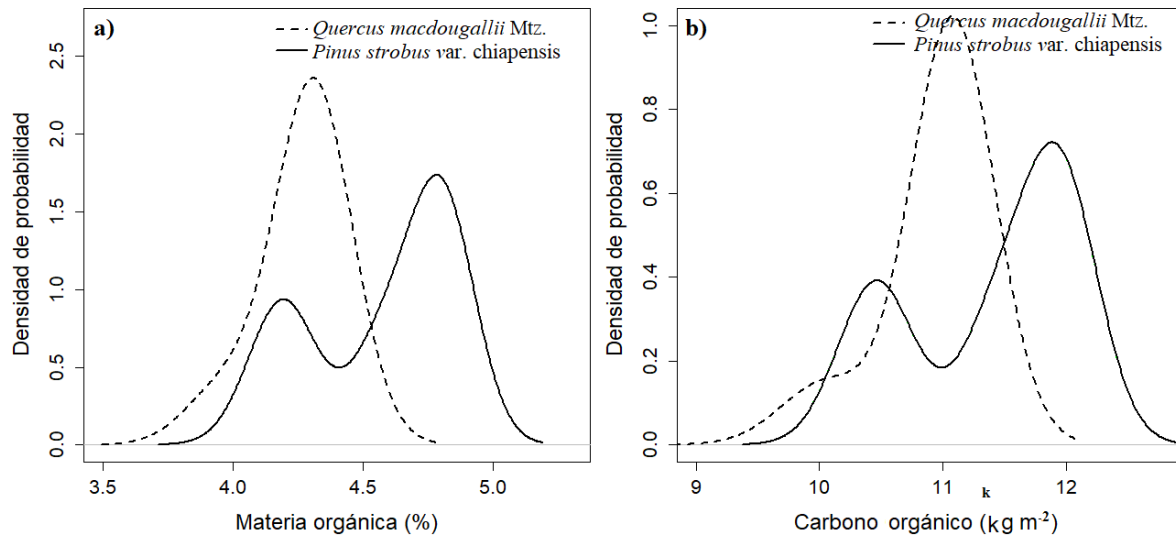


Figura 4. Rango óptimo de a) materia orgánica en el suelo y b) carbono orgánico para *Pinus strobus* var. *chiapensis* y *Quercus macdougalii*.

Por otro lado, los valores de carbono orgánico para las dos especies variaron de 9.6 a 11.1 kg m⁻² (Cuadro 1). El óptimo de distribución para *Quercus macdougalii* fue de 11.1 kg m⁻², mientras que *Pinus strobus* var. *chiapensis* presentó mayor variabilidad al abarcar un intervalo de 10.70 a 12 kg m⁻² (Cuadro 1, Figura 3b). Esta variable juega un papel esencial para las reacciones físicas, químicas y biológicas del suelo (Bentley, 1985; Muñoz *et al.*, 2006), además las concentraciones de carbono orgánico sugieren acumulaciones altas de MO en el suelo (Martínez *et al.*, 2008). No obstante, existe poca información sobre la contribución de esta variable en las especies estudiadas.

De igual forma, la presencia de las especies está relacionada con la movilidad que tiene los cationes solubles en el suelo (Garrido-Valero, 1993). Los valores de Ca, K, Na y Mg se encontraron en concentraciones muy bajas (Cuadro 1), de acuerdo con lo establecido por Molina y Meléndez (2002). Lo anterior coincide con lo reportado por Molina (2007), donde los suelos ácidos suelen presentar deficiencias de estos macronutrientes (Rojas-Garcidueñas, 1993). Por otro lado, un exceso de Ca intercambiable puede afectar la asimilación del Mg y de K, la relación de K/Mg debe estar comprendida entre 0.2 y 0.3 cmol L⁻¹, y si esta relación se excede existirá una deficiencia de K, lo mismo ocurre con el exceso de Na (Molina y Meléndez, 2002).

La determinación de la presencia máxima en las especies estudiadas, constituyen una importante base para analizar su capacidad de prosperar en entornos diferentes. También puede ser útil para hacer una mejor planificación y toma de decisiones en las localidades donde crecen dichas especies (Sáenz-Romero *et al.*, 2010; Martínez-Antúnez *et al.*, 2013; Silva-Flores *et al.*, 2014; Cruz-Paz, 2016; Antúnez *et al.*, 2017a).

Al respecto, el conocimiento de los requerimientos del hábitat para *Quercus macdougalii* y *Pinus strobus* var. *chiapensis* es clave en el área de estudio, al cohabitar con especies de fauna endémicas de la región como el roedor *Habromys chinanteco* (Robertson y Musser, 1976; Briones-Salas *et al.*, 2012) y flora como la hierba *Maianthemum comaltepecense* (Espejo *et al.*, 1996); esta información es necesaria para la conservación de las especies estudiadas.

CONCLUSIONES

La función de densidad de Kernel es una herramienta útil para determinar los intervalos óptimos de las propiedades físicas y químicas del suelo en los cuales ocurre la presencia de cada especie. Las dos especies en el área estudiada parecen preferir suelos ácidos con altas concentraciones de iones de hidrógeno. Los resultados también sugieren que ambas especies tienen un traslape significativo de “*nicho edáfico*”; por ejemplo, en el pH del suelo, materia orgánica, carbono orgánico y en las concentraciones de cationes (Ca, K, Mg y Na). Los resultados aquí reportados, podrían ser útiles al diseñar programas de conservación o implementar programas de propagación artificial o para realizar una migración asistida de estas especies en el futuro.

LITERATURA CITADA

- Álvarez F., A. D. 1996. *Pinus chiapensis* (Martínez) Andresen: Nuevo registro para Oaxaca, México. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 21: 131-137.
- Antúnez, P., C. Wehenkel, C. A. López-Sánchez y J. C. Hernández-Díaz. 2017a. The role of climatic variables for estimating probability of abundance of tree species. *Polish Journal of Ecology* 65: 324-338.
- Antúnez, P., J. C. Hernández-Díaz, C. Wehenkel y R. Clark-Tapia. 2017b. Generalized models: An application to identify environmental variables that significantly affect the abundance of three tree species. *Forests* 8: 59.

- Base Referencial Mundial Del Recurso Suelo. 2007. IUSS grupo de Trabajo WRB. Primera actualización. Informes sobre Recursos Mundiales de Suelos No. 103. FAO, Roma. 117 p.
- Benito de Pando, B. y J. Peñas de Giles. 2007. Aplicación de modelos de distribución de especies a la conservación de la biodiversidad en el sureste de la Península Ibérica. *GeoFocus* 7: 100-119.
- Bentley, O. G. 1985. Soil erosion and crop productivity: A call for action. *In*: Follett, R. F. y B. A. Stewart. (Eds.). Soil erosion and crop productivity. American Society of Agronomy. Madison, WI: pp. 1-7.
- Briones-Salas, M., A. Hernández-Allende, M. M. Coronel y G. G. Pérez. 2012. New records of the endemic Chinanteco deermouse *Habromys chinanteco* (Rodentia: Cricetidae) in the Sierra Madre de Oaxaca, Mexico. *The Southwestern Naturalist* 57: 221-222.
- Broennimann, O., M. C. Fitzpatrick, P. B. Pearman, B. Petitpierre, L. Pellissier, N. G. Yoccoz, W. Thuiller, M. J. Fortin, C. Randin, N. E. Zimmermann, C. H. Graham y A. Guisan. 2012. Measuring ecological niche overlap from occurrence and spatial environmental data. *Global Ecology and Biogeography* 21: 481-497.
- Brufman, J. Z., H. L. Urbisaia y L. A. Trajtenberg. 2005. Distribución del ingreso según género: un enfoque no paramétrico. *Cuadernos del CIMBAGE* 8: 129-168.
- Centeno-García, E., 2004. Configuración geológica del estado. *In*: García-Mendoza, A. J., M. J. Ordoñez y M. Briones-Salas (Eds.). Biodiversidad de Oaxaca. México D. F., México: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza and World Wildlife. pp. 29-42.
- Chávez, M. 2000. Edad de transición de la madera juvenil a la madera madura de *Pinus chiapensis* (Martínez) Andresen de Tanetze de Zaragoza, Oaxaca. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo.
- Cruz-Cárdenas, G., L. López-Mata, C. A. Ortiz-Solorio, J. L. Villaseñor, E. Ortiz, J. T. Silva y F. Estrada-Godoy. 2014. Interpolation of Mexican soil properties at a scale of 1: 1,000,000. *Geoderma* 213: 29-35.
- Cruz-Paz, L. O. 2016. Factores climáticos y fisiográficos que afectan la abundancia de cuatro especies arbóreas en la comunidad de Santiago Comaltepec, Oaxaca. Tesis de Licenciatura. Universidad de la Sierra Juárez.
- Eguiluz-Piedra, T. 1988. Distribución natural de los pinos en México. Nota Técnica. Centro de Genética Forestal, A. C. pp. 1-6.
- Espejo, A., A. R. López-Ferrari y R. J. Ceja. 1996. *Maianthemum comaltepecense* (Convallariaceae), una nueva especie del estado de Oaxaca, México. *Acta Botánica Mexicana* 36: 21-28.
- Ferrier, S., y A. Guisan. 2006. Spatial modelling of biodiversity at the community level. *Journal of Applied Ecology* 43: 393-404.
- García-Mendoza, A. 2004. Integración del conocimiento florístico del Estado. *In*: García Mendoza, A. J., M. J. Ordoñez y M. Briones-Salas (Eds.). Biodiversidad de Oaxaca. México D. F., México: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza and World Wildlife. pp. 305-325.
- Garrido-Valero, M. S. 1993. Interpretación de análisis del suelo. Hojas Divulgadoras N° 5. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid, España. 40 p.
- Jiménez, A. M. 1991. Modelización cartográfica de densidades mediante estimadores Kernel. *Treballs de la Societat Catalana de Geografia* 6: 155-170.
- Julca-Otiniano, A., L. Meneses-Florián, R. Blas-Sevillano y S. Bello-Amez. 2006. La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. *Idesia (Arica)* 24: 49-61.

- López-Gijón, G. 2007. Estructura y distribución espacial de un bosque de *Pinus chiapensis* en la sierra sur de Oaxaca. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México, México.
- Martínez, E., J. P. Fuentes y E. Acevedo. 2008. Carbono orgánico y propiedades del suelo. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* 8: 68-96.
- Martínez-Antúnez, P., C. Wehenkel, J. C. Hernández-Díaz y J. J. Corral-Rivas. 2015. Use of the Weibull function to model maximum probability of abundance of tree species in northwest México. *Annals of Forest Science* 72: 243-251.
- Martínez-Antúnez, P., C. Wehenkel, J. C. Hernández-Díaz, M. González-Elizondo, J. J. Corral-Rivas y A. Pinedo-Álvarez. 2013. Effect of climate and physiography on the density of tree and shrub species in Northwest México. *Polish Journal of Ecology* 61: 283-295.
- Molina, E. 2007. Análisis de suelos y su interpretación. Centro de Investigaciones Agronómicas, UCR, Costa Rica. 8 p.
- Molina, E. y G. Meléndez. 2002. Tabla de interpretación de análisis de suelos. Centro de Investigaciones Agronómicas. Universidad de Costa Rica. Mimeo.
- Muñoz, J. D., L. J. Martínez y R. Giraldo. 2006. Variabilidad espacial de propiedades edáficas y su relación con el rendimiento en un cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Agronomía Colombiana* 24: 355-366.
- NOM-021, Norma Oficial Mexicana. 2002. NOM-021-RECNAT-2000 que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. México, D. F. Diario Oficial de la Federación. 85 p.
- NOM-059, Norma Oficial Mexicana. 2010. NOM-059-SEMARNAT-2010 Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Diario Oficial de la Federación. Segunda sección. Jueves 30 de diciembre de 2010. México. 78 p.
- Parra-Murciego, J. M. 2011. Estimación de un modelo aditivo no paramétrico. Tesis de Maestría. Universidad de Granada. 65 p.
- Parzen, E. 1962. On estimation of a probability density function and mode. *The Annals of Mathematical Statistics* 33: 1065-1076.
- R Development Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reyes, I. y A. Valery. 2007. Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays* L.) con *Azotobacter* spp. *Bioagro* 19: 117-126.
- Rigby, R. A. y D. M. Stasinopoulos. 2005. Generalized additive models for location, scale and shape. *Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics)* 54: 507-554.
- Robertson, P. B. y G. G. Musser. 1976. A new species of *Peromyscus* (Rodentia: Cricetidae), and a new specimen of *P. Simultaneus* from Southern México, with comments on their ecology. *Occasional Papers of the Museum of Natural History, University of Kansas* 47: 1-8.
- Rodríguez-Acosta, M. y B. Arteaga-Martínez. 2005. Índice de sitio para *Pinus chiapensis* (Martínez) Andresen, en los estados de Veracruz y Puebla, México. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 11: 39-44.
- Rojas-Garcidueñas, M. 1993. Fisiología vegetal aplicada. Cuarta Edición Editorial Interamericana. McGraw Hill. México. 94 p.
- Rosenblatt, M. 1956. Remarks on some nonparametric estimates of a density function. *The Annals of Mathematical Statistics* 27: 832-837.

- Rucks, L., F. García, A. Kaplán, J. Ponce de León y M. Hill. 2004. Propiedades físicas del suelo. Universidad de la República: Facultad de agronomía. Departamento de suelos y aguas. Montevideo, Uruguay. 68 p.
- Sáenz-Romero, C., G. E. Rehfeldt, N. L. Crookston, P. Duval, R. St-Amant, J. Beaulieu y B. A. Richardson. 2010. Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climates for México and their use in understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change* 102: 595-623.
- Sainz-Rozas, H. R., H. E. Echeverría y H. P. Angelini. 2011. Niveles de carbono orgánico y pH en suelos agrícolas de las regiones pampeana y extrapampeana Argentina. *Ciencia del Suelo* 29: 29-37.
- Silva-Flores, R., G. Pérez-Verdín y C. Wehenkel. 2014. Patterns of tree species diversity in relation to climatic factors on the Sierra Madre Occidental, México. *PloS One* 9: e105034.
- Terrell, G. R., y D. W. Scott. 1992. Variable kernel density estimation. *The Annals of Statistics* 20: 1236-1265.
- UICN (Unión Internacional Para la conservación de la Naturaleza). 2019. La lista roja de las especies amenazadas. Versión 2019. (Consultado el 8 de diciembre 2019). Disponible en: <https://www.iucnredlist.org/>
- UNIBIO. 2019. Unidad de Informática para la Biodiversidad. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. (Consultado el 8 de diciembre de 2019). Disponible en: <http://www.unibio.unam.mx/>
- Valencia, A. S. y K. C. Nixon. 2004. Encinos. In: García-Mendoza, A. J., M. J. Ordoñez y M. Briones-Salas (Eds.). Biodiversidad de Oaxaca. México D. F., México: Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Fondo Oaxaqueño para la Conservación de la Naturaleza and World Wildlife. pp. 219-225.
- Worton, B. J. 1989. Kernel methods for estimating the utilization distribution in home-range studies. *Ecology* 70: 164-168.
- Zhang, G., A. X. Zhu, S. K. Windels y C. Z. Qin. 2018. Modelling species habitat suitability from presence-only data using kernel density estimation. *Ecological Indicators* 93: 387-396.

SELECCIÓN DE FENOTIPOS DE *Pinus chiapensis* EN RODALES NATURALES BAJO MANEJO FORESTAL AL SUR DE MÉXICO¹

SELECTION OF *Pinus chiapensis* FENOTYPES IN NATURAL STANDS UNDER FOREST MANAGEMENT IN SOUTHERN MEXICO

María Luisa Pascual-López[§], Gerardo Rodríguez-Ortiz, José Raymundo Enríquez-del Valle, Gisela Virginia Campos-Ángeles, José Cruz Carrillo-Rodríguez

Tecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca (ITVO), División de Estudios de Posgrado e Investigación. Ex-hacienda Nazareno, Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca, México. C.P. 71233. Tel: 01(951)5270444. [§]Autor para correspondencia: (mltecforest@hotmail.com)

RESUMEN

Pinus chiapensis es una especie altamente vulnerable cuyas poblaciones y variabilidad genética se han reducido considerablemente; se encuentra en estatus de protección especial en la NOM-059-SEMARNAT-2010, México, por lo que su conservación es prioritaria. Uno de los métodos que pueden utilizarse para estos fines es implementar plantaciones y la selección de fenotipos que proporcionen germoplasma de calidad. El objetivo fue seleccionar árboles sobresalientes de *P. chiapensis*, con base en sus características fenotípicas en rodales naturales bajo manejo en el bosque de San Juan Lachao, Oaxaca, México. Durante 2014, en una superficie de 415 ha sujetas a aprovechamiento maderable se seleccionaron en campo 50 fenotipos sobresalientes. Mediante el método de regresión para las variables volumen, diámetro normal y altura total dependientes de la edad, quedaron selectos 31 individuos y por el método de comparación otros 19 individuos; la selección incluyó características importantes y heredables, como volumen DN, gravedad específica, rectitud de fuste y ángulo de ramas. Los fenotipos se calificaron con base en su índice de sitio, el cual fue obtenido en forma anamórfica con el modelo de Schumacher. Las pruebas de χ^2 mostraron que la presencia de los mejores fenotipos fue altamente dependiente de la calidad de sitio; además, éstos se asocian en conglomerados definidos en la clasificación Cluster. Los métodos utilizados son efectivos para seleccionar árboles sobresalientes de *P. chiapensis*, que pueden garantizar la producción de semilla y constituir una alternativa para iniciar un programa de mejoramiento genético forestal en la región estudiada.

Palabras clave: calidad de sitio, método de comparación, método de regresión.

ABSTRACT

Pinus chiapensis is a highly vulnerable species whose genetic variability and populations have been reduced considerably; it is located in special protection status in NOM-059-SEMARNAT-2010, Mexico, so their conservation is a priority. One of the methods that can be used for these purposes is to implement plantations and phenotypes selection in order to provide quality germplasm. The objective was to select outstanding *P. chiapensis* trees, according to their

¹ Recibido: 15-septiembre-2020

Aceptado: 24-diciembre-2020

phenotypic characteristics in natural stands under management in the forest of San Juan Lachao, Oaxaca, Mexico. During 2014, in an area of 415 ha subject to timber harvesting, 50 outstanding phenotypes were selected. By regression method for variable volume, diameter at breast height and total height dependent on age, 31 trees were selected and using the comparison method other 19 individuals were selected; the selection includes important and heritable characteristics such as volume, specific gravity, stem straightness and angle of branches. Phenotypes are classified according to their site index, which was adjusted by anamorphic Schumacher model. Ji tests showed that the presence of the best phenotypes was highly dependent on the site quality; in addition, they are associated in defined clusters in the hierarchical classification. The methods used are effective to select outstanding *P. chiapensis* trees, which can ensure seed production and as an alternative to start a program of breeding tree in the region studied.

Index words: site index, comparison method, regression method.

INTRODUCCIÓN

Actualmente se observa que las poblaciones de diversas especies van reduciendo considerablemente su distribución y perdiendo su variabilidad genética, como en el caso de *Pinus chiapensis* (Mart.) Andressen (Vilela y Acosta, 2001). En este sentido, se considera conveniente establecer plantaciones, por lo que se debe asegurar el abastecimiento de semillas de calidad que se colecten en áreas y huertos semilleros. Las instancias gubernamentales relacionadas al desarrollo de la actividad forestal están incentivando el establecimiento de plantaciones a través del Programa Nacional de Reforestación (PRONARE) y el Programa Nacional del Desarrollo de Plantaciones (PRODEPLAN), por lo que, a nivel nacional se ha incrementado en gran medida la demanda de germoplasma forestal.

Bajo este contexto, es importante la implementación de programas de mejoramiento genético, para obtener árboles de crecimiento rápido, bien conformados, adaptados y resistentes a plagas. Éstos, tienen como objetivo producir, usar y conservar los individuos mejor adaptados y de mayor rendimiento productivo, para reforestar y establecer plantaciones comerciales (Celestino *et al.*, 2005). Además, que también es posible mejorar las propiedades de la madera, debido a que estas características son lo suficientemente heredables para obtener ganancias económicas rápidas. Si se requiere maximizar la calidad genética y tener germoplasma mejorado y adaptado al ambiente de la plantación que permita el abasto seguro y barato a largo plazo, se deben establecer huertos semilleros.

Todas las características que se expresan en un individuo se encuentran codificadas en su información genética y que son heredables a la progenie. Al cuantificar la expresión de alguna característica en individuos de edades similares, se reconoce que existe variabilidad en el nivel de expresión de dicha característica y esto es el acervo fundamental que debe dirigir el manejo del recurso genético. Entonces es posible seleccionar dentro de dicha variabilidad en las poblaciones a aquellos individuos que expresen la característica en el nivel más conveniente. Lo anterior permite obtener altas ganancias genéticas buscando su homogeneización al disminuir la variación, aunque por otro lado, se pueden proteger especies y poblaciones buscando la heterogeneización en poblaciones naturales o inducidas para mantener la variación que induzca diversidad para garantizar descendencias que aseguren esquemas nuevos de adaptación y fuerza evolutiva natural (Alba, 2007).

Desde los puntos de vista económico y ecológico se ha demostrado el efecto positivo de programas de mejoramiento genético forestal mediante la selección de árboles y rodales plus. Por lo que, se han realizado varios trabajos sobre selección de árboles superiores, en especies del género *Pinus* principalmente y utilizando diferentes métodos de selección (Muñoz *et al.*, 2008, 2014). Por un lado, representa una alternativa de producción de semillas de mejor calidad a corto plazo para la comercialización y utilización en proyectos productivos de manejo forestal, contribuyendo al desarrollo económico de la población rural y fortalecimiento del sector forestal. Por otro, representa la posibilidad de obtener ganancias en adaptabilidad y conservar *in situ* la diversidad genética de los bosques naturales reduciendo, a su vez, la presión antrópica sobre ellos y generando mejores condiciones ambientales para la vida (Aguirre y Fassbender, 2012).

En este estudio se aborda la problemática de la especie referida en la comunidad, ya que las poblaciones de *Pinus chiapensis* se encuentran dentro del área bajo manejo forestal y debido a las actividades silvícolas y agrícolas se han reducido sus espacios de distribución. También, ésta especie, representa un recurso de importancia económica por ser maderable, además de su importancia ecológica por estar en categoría de protección especial (Pr) de acuerdo con la NOM-059-SEMARNAT-2010. Bajo esta premisa, el objetivo fue seleccionar árboles sobresalientes con base en sus características fenotípicas en rodales naturales de *P. chiapensis* (Mart). Andresen bajo aprovechamiento maderable de San Juan Lachao, Oaxaca, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio. La selección de los árboles superiores se realizó dentro de las áreas o rodales de los bosques comunales del municipio de San Juan Lachao en el estado de Oaxaca, México (Figura 1). Este municipio se localiza en las coordenadas: 16° 09' 30.26'' LN y 97° 07' 28.04'' LO, altitud de 1900 m con un total de 13,290 ha de superficie. Las áreas de distribución de *P. chiapensis* se localizan predominantemente en climas templados (A)C(W1), temperatura media anual entre 12 y 18°C, temperatura del mes más frío entre -3°C y temperatura del mes más caliente 22°C. El suelo predominante corresponde a regosol (R) que se encuentra en las laderas, estos suelos presentan capas distintas; son de color claro y se parecen a las rocas que los subyacen. Cuando no son profundos, muchas veces se acompañan de litosoles.

La vegetación en el área corresponde a bosque mesófilo de montaña, caracterizándose por una asociación de *P. chiapensis* (Mart.) Andresen, *P. douglasiana* Martínez, *P. devoniana* Lindle, *P. teocote*, Schltdl. et Cham., *P. oocarpa* Schiede., *Quercus* sp., *P. maximinoi* H.E. Moore., *P. pseudostrobus* Lindl, entre otras.

Selección de fenotipos por el método de regresión lineal. Mediante los planos del programa de manejo forestal, se localizaron durante el año 2014, las áreas con distribución de *P. chiapensis*. La búsqueda de los árboles candidatos y sus cinco testigos se realizó sistemáticamente en todas las condiciones del área con mayor presencia de *P. chiapensis* en una superficie total de 415 ha. Se tomaron en cuenta características cualitativas como: especie, dominancia o codominancia, rectitud de fuste, ángulo de ramas, copa, estado fenológico, daños físicos, plagas y enfermedades. Además de características dasométricas como: el diámetro normal (Dn, cm), medido con cinta diamétrica; la altura total y altura del fuste limpio (m), estimado con clinómetro marca Suunto, modelo Pms/360pc; la edad (años) se estimó, utilizando un taladro de Pressler (marca HAGLOF modelo BS013, 1000 mm/39"); el diámetro de copa (m), la distancia entre árboles candidatos (m) y la

distancia entre árboles superiores y testigos (m), se registraron con un longímetro. Cada individuo seleccionado se referenció geográficamente mediante GPS, marca Garmin modelo map76CSx.

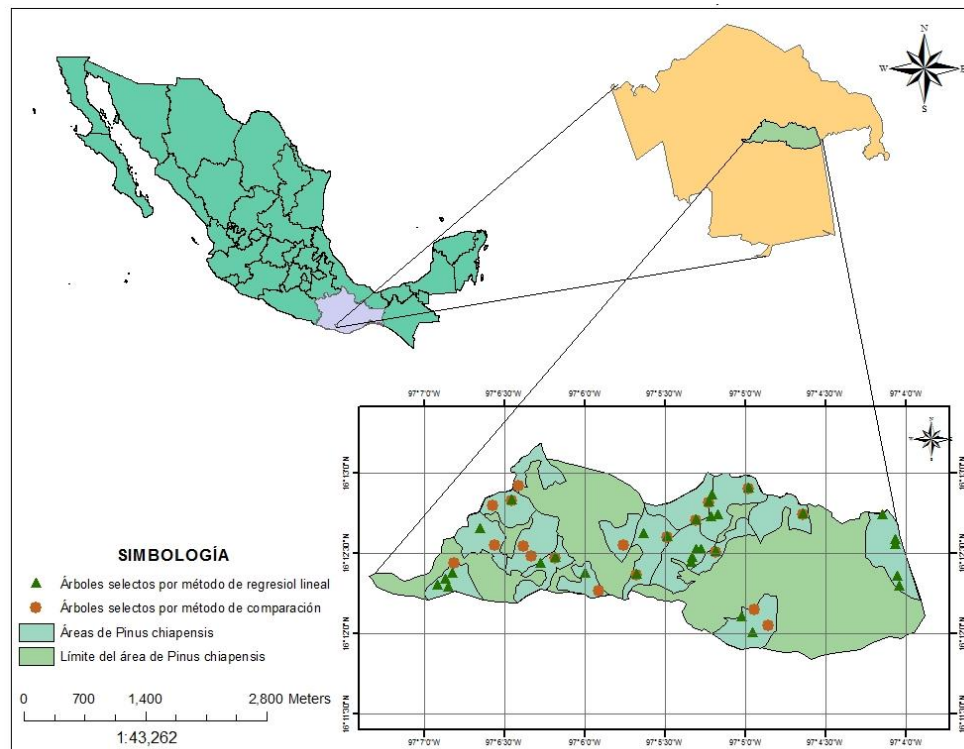


Figura 1. Localización de las áreas de *Pinus chiapensis* en rodiales naturales bajo manejo en San Juan Lachao.

La información obtenida en campo fue capturada en Microsoft Office Excel®, las variables calculadas fueron; volumen total con corteza (Vtcc, m³), volumen comercial con corteza (Vtcc, m³), edad (años), gravedad específica (GE, g cm⁻³), área de copa (Ac, m²), desviación de copa (Dc, m) e índice de sitio (IS).

Para el cálculo del volumen se utilizaron los modelos propuestos por Chávez (2013), para elaboración de tablas de volumen para *Pinus chiapensis* en San Juan Tabaa. Los cuales se muestran a continuación.

$$Vtcc = 0.000227 \times (DN^2 \times AT)^{0.9105} \quad [1]$$

$$Vtcc = 0.000147 \times (DN^{2.1227}) \times (AT^{0.5684}) \quad [2]$$

Donde: Vtcc=Volumen total con corteza (m³), Vtcc=Volumen total con corteza (m³), DN= Diámetro normal (cm), AT= Altura total (m).

Mientras que la edad se estimó mediante el conteo de los anillos de crecimiento de las virutas extraídas de cada árbol seleccionado; la gravedad específica, dividiendo el peso seco y el volumen

de cada viruta por árbol, la desviación de copa se obtuvo con el promedio del radio de copa en direcciones N-S y E-O, el área de copa (A_c , m^2) con la fórmula:

$$AC = \frac{\pi}{4} (Dn^2) \quad [3]$$

El índice de sitio se calculó mediante el ajuste del modelo de Shumacher

$$HT = \beta_0 e^{\beta_1 \left[\frac{1}{E} \right]} \quad [4]$$

Donde: HT = altura total, E= edad (años), β_0 y β_1 = parámetro de estimación, e= base de los logaritmos naturales (2.72). Con los datos obtenidos se procedió al análisis estadístico en el programa SAS®, solucionando el modelo de regresión:

$$\ln(Y) = \ln(\beta_0) + \beta_1 \ln(X) \quad [5]$$

Donde: Y= volumen total con corteza (V_{tcc} , m^3), diámetro normal (Dn, cm) y altura total (Ht, m). X= edad (años). β_0 y β_1 = parámetros por estimar.

Con la solución de este modelo se obtuvieron los estimadores para encontrar los modelos de volumen total con corteza, diámetro normal y altura total que fijaron el valor promedio de la línea de regresión, los cuales se trabajaron de manera linealizada, donde se sustituyeron los valores promedio de edad de los árboles selectos.

Una vez obtenido el valor de la línea de regresión los 50 árboles candidatos a clasificarse como superiores fueron graficados en el programa Microsoft Office Excel®, las variables volumen, diámetro normal y altura total en función de la edad (años). Evaluándose de acuerdo con los criterios del método que señala: “sí el árbol candidato cae en alguna distancia definida arriba de la línea de regresión se acepta, y cuanto más arriba quede colocado es más conveniente y cuando el valor de la característica queda abajo del nivel aceptable, el árbol se rechaza” (Plancarte, 1990).

La selección final se complementó con la calificación de IS asignando un valor de 0 = pobre, 1 = medio, 2 = bueno y 3 = excelente de acuerdo con la calidad correspondiente de cada árbol. De igual forma se evaluó la rectitud de fuste y el ángulo de ramas.

Selección de fenotipos por el método de comparación

Mediante este método al árbol candidato se le asignaron puntos para cada característica mostrada en el formato de selección, con base en la importancia de la característica y la relación del árbol candidato con los cinco árboles testigo o de comparación. Los árboles de más de 10 años de diferencia con el promedio de los árboles testigos fueron rechazados. Ya que es necesario tener la certeza de que la edad no diferirá ampliamente entre los árboles y que las expresiones relativas de crecimiento, forma, tolerancia a las enfermedades y adaptabilidad no se confundirán con los efectos de edad. La evaluación de los caracteres de volumen, altura, copa, poda natural, rectitud de fuste y ángulo de ramas se realizó de acuerdo con los pasos que presenta el manual para el establecimiento de unidades productoras de germoplasma forestal (CONAFOR, 2014). El primer criterio que se tomó en cuenta para la selección de individuos (árboles) superiores; fue que éstos estuvieran libres

de plagas y enfermedades, sin daños mecánicos, es decir árboles sanos, vigorosos. La superioridad en volumen para los árboles se calculó con la fórmula:

$$Volumen = \frac{Vc}{Vt}$$

Donde: Vc = volumen del candidato, Vt= Volumen promedio de los testigos.

Al igual que el candidato, los testigos deben ser dominantes y estar creciendo en condiciones similares. La distancia entre los testigos y el árbol candidato fue de un rango de 20 a 50 m, de la misma edad con una diferencia no mayor a 10 años. El puntaje que se le dio de acuerdo con la altura fue de la siguiente manera:

$$Altura = \left[\left(\frac{Ac}{At} \times 100 \right) - 100 \right] \quad [6]$$

Donde: Ac = altura del candidato (m), At = altura promedio de los testigos.

La poda natural se evaluó comparando al candidato, visualmente con los testigos, considerando tanto ramas vivas como muertas, al promedio de los testigos se le asignó el valor de cero y a los restantes se otorgaron valores de 1 a 5 por la superioridad del candidato.

La rectitud del fuste se determinó con base en cuatro categorías de rectitud desarrolladas de 1 (menor calidad) a 4 (mayor calidad, fustes perfectamente rectos). Se observó desde los cuatro puntos cardinales (N, S, E, O).

RESULTADOS

Selección de fenotipos por el método de regresión lineal. Mediante el método de regresión lineal aplicado a una población de *P. chiapensis* distribuido en un área de 415 ha, se identificaron 31 árboles selectos (Cuadro 1), con un promedio en volumen de 10.59 m³/árbol; un diámetro promedio de 61 cm; 34 m de altura y una edad promedio de 41 años.

Con el fin de calificar la productividad de la masa forestal, indicada por la altura a una determinada edad, se calculó el índice de sitio mediante el modelo de Schumacher y se obtuvo una clasificación de calidades (excelente, bueno, medio, regular y pobre) (Figura 2); del índice de sitio en donde se localiza *P. chiapensis* dentro del área de estudio, que se complementó a la selección de los árboles.

Con base en las características de volumen, diámetro y altura, un 93% de los individuos selectos recibieron una calificación de excelente; por otro lado, cuando se clasificaron según el índice de sitio sólo el 9.7 % (3 de 31) de los árboles recibieron la calificación de excelente. De acuerdo con la rectitud de fuste del total de árboles seleccionados sólo 12 son perfectamente rectos y 17 rectos con una leve torcedura. Por otro lado, se observó que el 19. 3 % (6 de 31) de los árboles tienen un ángulo de inserción de ramas perfecto.

Cuadro 1. Resumen de calificación otorgada a los árboles seleccionados de *Pinus chiapensis* usando el método de regresión en el bosque de San Juan Lachao.

ID	Coordenadas UTM		Altitud (m)	GE (g cm ⁻³)	IS	DN (cm)	AT (m)	VTcc (m ³)	RF	AR
	X	Y								
30	704293	1792878	1809	0.81	B	E	E	E	PR	AGU
32	704395	1792968	1811	0.90	B	E	E	E	PR	AGU
40	706550	1793107	1825	0.73	B	E	E	E	PR	ME
46	704578	1793373	1735	0.78	E	E	E	E	RLT	ME
48	704333	1793312	1757	0.74	E	E	E	E	RLT	ME
49	704021	1793112	1779	0.75	E	E	E	E	RLT	ME
18	701631	1792670	1905	0.84	M	E	E	E	PR	ME
26	702780	1792864	1789	0.66	M	E	E	E	PR	ME
28	703681	1792686	1719	0.80	B	E	E	E	RLT	ME
29	704288	1792819	1837	0.77	M	E	E	E	PR	ME
43	704918	1793681	1629	0.77	M	E	E	E	PR	ME
45	704479	1793520	1700	0.76	M	E	E	E	PR	ME
50	703748	1793150	1792	0.87	B	E	E	E	PR	REC
15	701470	1792537	1894	0.87	M	E	E	E	RLT	ME
19	701554	1792602	1924	0.99	M	E	E	E	RTL	ME
20	701591	1792512	1936	0.89	M	E	E	E	RLT	ME
25	702608	1792792	1832	0.79	M	E	E	E	RLT	ME
33	704556	1792952	1810	0.84	M	E	E	E	PR	REC
39	706545	1793046	1821	0.72	M	E	E	E	RLT	ME
41	706405	1793393	1756	0.76	M	E	E	E	RLT	ME
47	704496	1793352	1706	0.85	M	E	E	E	RLT	ME
52	703108	1792693	1804	0.80	M	E	E	E	RLT	REC
12	702281	1793528	1745	0.88	M	R	E	E	PR	ME
31	704331	1792973	1813	0.79	M	R	E	E	RLT	AGU
38	706570	1792683	1939	0.78	M	R	E	E	RLT	AGU
42	705516	1793399	1781	0.72	M	R	E	E	RLT	AGU
3	704845	1792204	1827	0.77	M	E	E	E	T	REC
5	704972	1792024	1861	0.99	R	E	E	E	T	ME
37	706598	1792573	1991	0.75	R	R	E	E	PR	ME
53	701932	1793184	1818	0.74	R	E	R	E	RLT	AGU
44	704507	1793603	1693	0.78	R	E	R	E	RLT	ME

ID = número identificador de árbol; GE = gravedad específica; IS = calificación de índice de sitio; DN = calificación por diámetro; AT = calificación por altura total, VT_{cc} = calificación por volumen con corteza (E = excelente, B = bueno, M = medio, R = regular); RF = rectitud del fuste: PR = perfectamente recto, RLT = recto con ligera torcedura, T = torcedura que impide proyectarse a su ápice; AR = ángulo de ramas: REC= recto 90°, MED = medio <90 y >45°, AGU = agudo <45°.

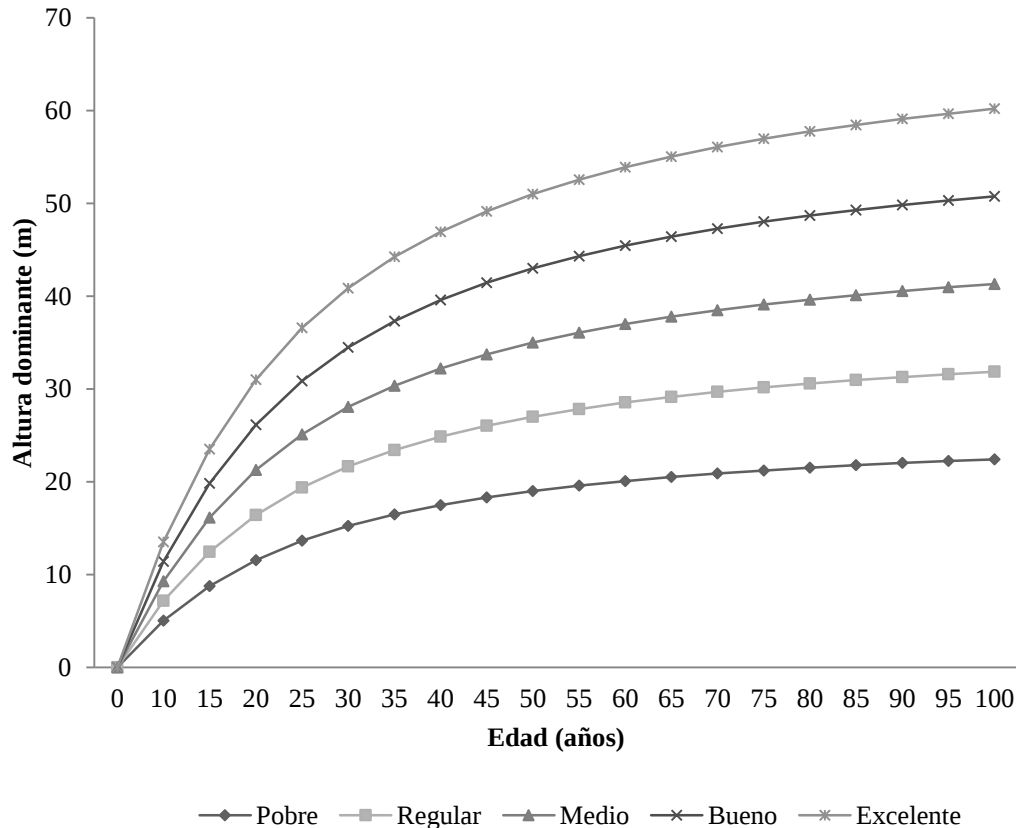


Figura 2. Curvas anamórficas de índice de sitio para *Pinus chiapensis*.

Con los árboles selectos se integró el dendrograma (Figura 3) el cual formó dos grupos; A y B con una distancia de separación entre conglomerados de 3095.5; el primero formado por dos subgrupos con una distancia de 2108.1: A1 y A2, donde se agrupó la mayoría de los árboles. De igual forma el grupo B, se divide en un subgrupo B1 y B2 con una distancia de 1198.2. El subgrupo A1 se constituye por árboles, con diámetro que van de 59 a 91 cm. Su altura promedio es de 38.25 m con un volumen promedio de 15.46 m³. Con un promedio de 0.82 g cm⁻³ de gravedad específica. Apartando al árbol 3 y 5 pues de acuerdo con la rectitud, presentan torceduras que impiden proyectarse a su ápice. La altitud a la que se encuentran es de 1629 a 1861 m. En el subgrupo A2 se asocian cinco árboles, sin incluir al árbol 42 por presentar diferencia en la característica de gravedad específica con un valor de 0.72 g cm⁻³, valor menor respecto al promedio. La altitud a la que se encuentran va de 1756 a 1991 m. Por otro lado, el subgrupo B1 se formó por otros cinco árboles (12, 53, 25, 26 y 52), con un promedio de 70 cm de diámetro, 35 m de altura, 13 m³ de volumen y 0.99 g cm⁻³ de gravedad específica. La altitud a la que se encuentran es entre 1745 y 1818 m. Dentro del subgrupo B2 se ubicaron cuatro árboles (15, 19, 18 y 20) con diámetro promedio de 73 cm, 36 m de altura promedio, y gravedad específica entre 0.84 y 0.99 g cm⁻³. Estos árboles se encuentran en altitud entre 1894 y 1936 m.

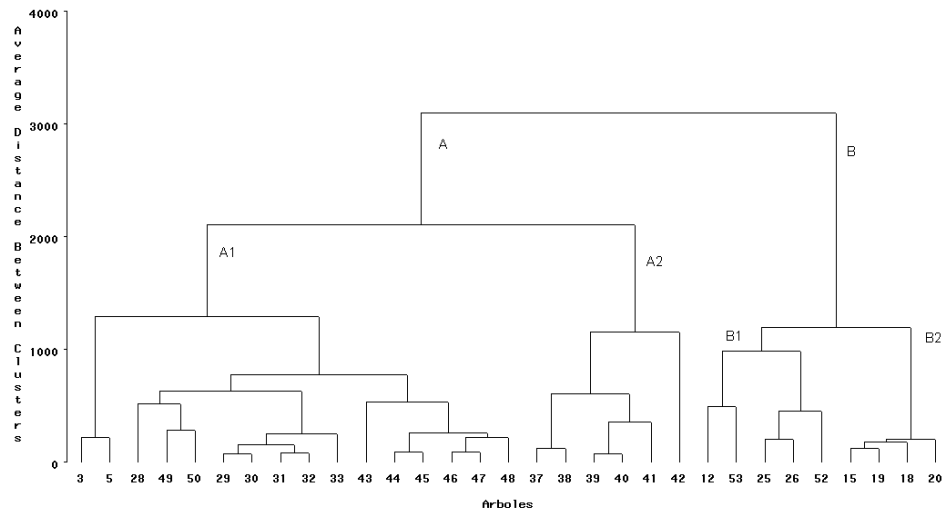


Figura 3. Dendrograma de 31 árboles selectos de *Pinus chiapensis* en rodales naturales bajo manejo en San Juan Lachao, Oaxaca.

Cuadro 2. Características de árboles selectos de *Pinus chiapensis* con el método de comparación en rodales naturales bajo manejo en San Juan Lachao.

No. árbol	Coordenadas UTM		Altitud (m)	DAP (cm)	A (m)	Lfl (m)	VTcc (m³)	Edad (años)
	X	Y						
13	702075	1793464	1776	48	26	14	5.08	29
27	703261	1792494	1848	31	19	4	1.72	28
24	702510	1792882	1885	45	27	16	4.67	32
23	702421	1792995	1830	60	32	9	9.21	33
45	704479	1793520	1700	72	33	14	13.21	49
49	704021	1793112	1779	83	46	17	23.15	52
21	701655	1792794	1940	44	26	7	4.33	34
28	703681	1792686	1719	61	42	32	12.16	48
48	704333	1793312	1757	67	42	28	14.43	67
16	702102	1793004	1855	51	32	13	6.85	35
11	702366	1793698	1717	58	30	12	8.16	32
33	704556	1792952	1810	68	36	16	12.88	45
42	705516	1793399	1781	57	41	26	10.52	45
43	704918	1793681	1629	82	34	10	17.2	49
9	705151	1792114	1833	48	28	14	5.43	30
7	704997	1792294	1804	38	30	17	3.78	26
12	702281	1793528	1745	57	35	19	9.1	46
26	702780	1792864	1789	68	39	17	13.86	54
51	703528	1793022	1838	46	25	10	4.537	37

Dap = diámetro a la altura del pecho; A = altura; Lfl = longitud de fuste limpio; VTcc = volumen total con corteza.

Además, se realizaron pruebas de independencia con χ^2 ($\alpha = 0.05$) para las variables diámetro normal, altura total, rectitud de fuste y ángulo de ramas. Los resultados mostraron que únicamente la altura total es dependiente de la calidad de sitio ($p = 0.0024$), por lo que las mejores alturas estarán presentes en índices de sitio clasificados de buenos a excelentes. De acuerdo con la altura de los árboles seleccionados la calidad de sitio media concentró la mayor parte (61.29%), mientras que el 9.68% se distribuye en calidad de sitio excelente; y 16.13% en calidad de sitio buena.

Selección de fenotipos por el método de comparación. Con base en el sistema de selección “árboles testigo o de comparación” y con las características fenotípicas cuantitativas y cualitativas observadas en el arbolado, este método seleccionó 19 árboles para ser considerados como candidatos para ser clasificados como superiores (Cuadro 2). Como resultado de la caracterización dasométrica los valores promedio alcanzados por los árboles seleccionados como los mejores fenotipos de *Pinus chiapensis* corresponden a individuos con: volumen de 9.48 m³/árbol; diámetro 57 cm; altura de 33 m; y edad promedio de 40 años. La distancia promedio a la cual se localizaron los cinco árboles testigo de los candidatos fue de 10.75 m, mientras que los árboles que quedaron como superiores se ubican a una distancia promedio de 150 m.

DISCUSIÓN

De acuerdo con los métodos de evaluación y selección de árboles superiores establecidos por diversos autores (Salan, 2011; Meza, 2013), únicamente el 62% (31 de 50) de los árboles de *Pinus chiapensis* cumplen con las características requeridas. Resultado que difiere con los reportados por Muñoz *et al.* (2012) quienes obtuvieron una selección de 13 árboles por el método de regresión lineal ajustando un modelo de volumen-edad ($R^2 = 0.45$). Mientras que en este estudio se obtuvo una selección de 31 árboles y un ajuste de $R^2 = 0.97$ para volumen-edad y $R^2 = 0.98$ para altura y diámetro-edad, esta última es una característica de alta heredabilidad e importancia.

Farfán (2002), encontró una fuerte correlación genética entre el diámetro y la altura, al estimar el control genético en el crecimiento en altura y diámetro en *Pinus ayacahuite* Ehren. var. *ayacahuite*. Por su parte, Arteaga (2007) demostró que, para las especies del género *Virola*, *Vismia* y *Juglans*, la variable diámetro tiene relación con la producción de semillas, ya que árboles con mayores diámetros producen más semilla; lo que también podría estar sucediendo en el caso de *P. chiapensis* en el área de selección de árboles semilleros. Variables que coinciden con las que identificaron Cornejo *et al.* (2009), quienes basaron la selección de árboles, en las variables diámetro normal, diámetro de copa, volumen, altura total y diámetro de ramas, con una selección final de 35 árboles.

Los árboles semilleros deben responder a las características propias de la especie y reunir características principales como, fustes rectos, fustes comerciales largos y cilíndricos, copa bien desarrollada y con fuste continuo, árboles sin bifurcación o de poca importancia, ángulo de inserción de ramas aceptable. Características que no poseen la mayoría de árboles selectos de *P. chiapensis* en este estudio. La rectitud de fuste es una característica con alta heredabilidad, considerando a esta heredabilidad como la proporción de la varianza fenotípica que es genética. La rectitud del fuste incrementa el rendimiento en volumen. Esta característica formó parte en la selección de los árboles estudiados. Y se encontró que el promedio de la gravedad específica (0.80 g cm⁻³) para *Pinus chiapensis* es una característica de alta heredabilidad. En este estudio, la altura de árboles dominantes resultó dependiente de la calidad de sitio ya que esta variable es indicadora

del índice de sitio, ya que los sitios más fértiles por lo general producen árboles de mayores dimensiones (Mendieta-López y Rocha-Molina, 2007). El criterio diámetro normal no se cumple en este estudio.

En el área de estudio se observó que *P. chiapensis* ha reducido su población considerablemente por prácticas agrícolas y de manejo inadecuadas, lo que repercute en la selección de árboles fenotípicamente superiores, pues el grado de fragmentación y disminución de sus poblaciones hace que presente baja diversidad genética (Del Castillo *et al.*, 2009). Mientras que Hernández *et al.* (2014), en su estudio de variación de conos de *Pinus chiapensis*, encontraron que existe variación no sólo entre conos de un árbol, sino también entre árboles lo cual indica que existe diversidad genética que puede manejarse en esquemas de uso y conservación de la población. Por tal motivo esta especie es un candidato potencial para programas de mejoramiento genético en el país.

Por otro lado, Thomas-Evert *et al.* (2014) proponen que la restauración de ecosistemas forestales se realice con especies nativas, lo cual requiere atención desde la selección de semillas y el abastecimiento, la creación de la conectividad de paisajes y la capacidad de adaptación para cambio de climas, así como indicadores efectivos de juego de procedencias y la diversidad genética presente en el sitio. Por lo cual, es de gran importancia que la selección de los árboles portadores de la información genética deseada sean los de mejor expresión fenotípica. Mediante el método de “comparación o vecino más cercano” se seleccionaron 19 árboles distribuidos en 415 ha, que alcanzaron los puntajes más altos en las características evaluadas. Se obtuvo 36.53% de árboles semilleros bajo este método, el resultado es inferior al de Aguirre y Fassbender (2013), que obtuvieron una selección de 55.76% de un total de 104 árboles plus de siete especies forestales nativas en la selva central de Perú. Mientras que Balcorta-Martínez *et al.* (2004), obtuvieron un 57.14% de selección en una plantación de *Gmelina arborea* Linn, con un total 35 árboles candidatos para clasificarse como superiores. Salan (2011), obtuvo 68.96% de selección de *Cedrela odorata* L. de un total de 29 árboles candidatos a semilleros.

Por otra parte, Muñoz *et al.* (2012), obtuvieron una selección del 16% de 36 árboles semilleros de *Abies religiosa* (H.B.K.) Schltdl. *et* Cham, por el mismo método y Muñoz *et al.* (2011) determinaron una selección del 1.02% de árboles superiores de *Pinus pseudostrobus* Lindl. De acuerdo con estos autores, la proporción de selección de árboles fenotípicamente superiores bajo este método, para la especie bajo estudio es adecuada, mientras la distancia entre árboles sea ≤ 100 m.

En este estudio, la distancia promedio entre árboles testigos y candidatos de *P. chiapensis* fue de 10.75 m, y se encuentra dentro del rango señalado, pues Mondino *et al.* (2002) utilizaron un radio de 20 m al seleccionar árboles superiores de *P. ponderosa* Dougl y *Pseudotsuga menziesi* Mirb; de igual forma, Espitia *et al.* (2010), utilizaron un radio de 20 m en una selección de árboles plus, para ganancia genética de *Acacia mangium* Willd. La distancia entre los mejores fenotipos seleccionados fue de 150 m, valor que coincide con Plancarte (1990), quien menciona que se deben elegir a una separación mínima de 100 m para reducir la posibilidad de consanguinidad o 200 m en masas no procedentes de plantaciones. El estudio presenta un valor promedio entre las distancias que mencionan ambos autores, por lo que se corrobora que los árboles selectos se encuentran a una distancia adecuada.

Existen otros métodos para selección de árboles semilleros que pudieran ser aplicados en la selección de fenotipos de la especie estudiada; estos se basan en la elaboración de criterios para seleccionar árboles superiores a partir de semillas de los padres en función del rendimiento en vivero y establecimiento en campo de sus plántulas (Pakkad-Greuk *et al.*, 2003). Estos criterios podrían ser: supervivencia de plántulas en campo, árbol joven de 1 m de altura después de la primera temporada de cultivo en campo, 40% o más de emergencia en el vivero y más de 70% de supervivencia de las plántulas en el vivero. Estos criterios podrían formar parte de una segunda fase para probar si los árboles de *P. chiapensis* seleccionados cumplen con estas características.

Las etapas y periodos del estado fenológico de *P. chiapensis* observados en el bosque de San Juan Lachao concuerdan con la floración que ocurre de marzo a abril, la fructificación o maduración de conos se presenta de julio a agosto, por lo tanto, la recolección de semillas debe realizarse entre agosto y septiembre, pues su dispersión inicia en septiembre, y la caída de los conos ya abiertos se presenta entre octubre y noviembre de cada año. Vilela y Acosta (2001) mencionan que en zonas medias y altas que van de 1300 a 2300 m de su distribución *P. chiapensis* se encuentra asociada al bosque mesófilo de montaña, los rangos altitudinales presentes en el área de estudio son similares y la especie bajo estudio se encuentra en asociación con *P. douglasiana* Martínez, y especies latifoliadas.

CONCLUSIONES

De los 52 individuos de *Pinus chiapensis* seleccionados inicialmente, el método de regresión lineal seleccionó 31 árboles y el método de árboles testigos 19 individuos fenotípicamente superiores. Los árboles seleccionados por los dos métodos presentan características dasométricas deseables, que garantizan la producción de semilla de mejor calidad que un rodal sin selección y constituyen una alternativa para dar inicio a un programa de mejoramiento genético forestal. La distancia de separación de los árboles seleccionados es apropiada, quedando la mayoría a ≥ 100 m lo que permite que no se presente la endogamia entre los árboles selectos. Además, la ubicación de los árboles testigo fue adecuada pues estos se localizaron a una distancia < 20 m indicativo que fueron elegidos dentro de las mismas condiciones que los candidatos. Tanto el método de regresión como el de comparación son buenos para la selección de árboles superiores, siempre y cuando se incluyan las características necesarias que reflejen la heredabilidad de los árboles madres a su progenie.

LITERATURA CITADA

- Aguirre, D. C.A. y D. Fassbender. 2013. Selección de árboles plus de siete especies forestales nativas de importancia ecológica y económica en la selva central del Perú. Proyecto de conservación de bosques comunitarios. Documento de trabajo. Perú. 18 p.
- Alba, L. J. 2007. Movimiento de especies forestales en el estado de Veracruz, México. Tesis Doctorado. Xalapa, Ver., México. Instituto de Genética Forestal, Universidad Veracruzana. 97 p.
- Arteaga, L. L. 2007. Fenología y producción de semillas de especies arbóreas maderables en un bosque húmedo montano de Bolivia (PN ANMI Cotapata). Revista Boliviana 21: 57-68.
- Balcorta-Martínez. H. C. y J. J. Vargas-Hernández. 2004. Variación fenotípica y selección de árboles en una plantación de melina (*Gmelina arborea* Linn., Roxb.) de tres años de edad. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 9(2): 13-19.

- Celestino, C., I. Hernández, E. Carneros, D. López-Vela y M. Toribio. 2005. La embriogénesis somática como elemento central de la biotecnología forestal. *Ciencia e Investigación Agraria* 14(3): 345-357.
- Chávez, P. E. Y. 2013. Factores de expansión de biomasa para *Pinus chiapensis* (Mart.) Andresen, de San Juan Tabaá, Villa Alta, Oaxaca. Tesis de ingeniería forestal. Oaxaca, México. Instituto Tecnológico del Valle de Oaxaca. 92 p.
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal). 2014. Manual para el establecimiento de unidades productoras de germoplasma forestal. México. 86 p.
- Cornejo, O. E. H., E. Bucio Z., B. Gutiérrez V., S. Valencia M. y C. Flores L. 2009. Selección de árboles y conversión de un ensayo de procedencias a un rodal semillero. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32(2): 87-92.
- Del Castillo, R. F., S. Trujillo A. and C. Sáenz-Romero. 2009. *Pinus chiapensis*, a keystone species: Genetics, ecology, and conservation. *Forest Ecology and Management* 257: 2201-2208.
- Espitia, M., O. Murillo, C. Castillo, H. Aramendiz H. y N. Paternina. 2010. Ganancia genética esperada en la selección de acacia (*Acacia mangium* Willd.) en Córdoba Colombia. *Revista UDCA Actualidad y Divulgación Científica* 13(2): 99-107.
- Farfán, V. E., J. Jasso M., J. López U., J. Vargas H. y C. Ramírez H. 2002. Parámetros genéticos y eficiencia de la selección temprana en *Pinus ayacahuite* Ehren. var. *ayacahuite*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(3): 239-246.
- García, F. G. 2002. El mejoramiento genético forestal y nuestra experiencia con *Pinus douglasiana* Martínez. Programa para el Desarrollo Forestal del estado de Jalisco (PRODEFOR). México. 7 p.
- Hernández, J. L., L. Mendizábal H., J. Alba L., E. O. Ramírez G. y H. Cruz J. 2014. Variación de conos de *Pinus chiapensis* (Mart.) Andresen Procedente de Atzalan, Veracruz, México. *Foresta Veracruzana* 16(1): 35-40.
- Mendieta-López, M. y L. R. Rocha-Molina. 2007. Sistemas agroforestales. Universidad Nacional Agraria. Managua, Nicaragua. 116 p.
- Meza, L. A. 2013. Monitoreo fenológico de árboles superiores de diez especies forestales nativas del bosque seco tropical, Estación Experimental Forestal Horizontes, Área de Conservación Guanacaste. Tesis de Licenciatura. Cartago, Costa Rica. Escuela de Ingeniería Forestal, Instituto Tecnológico de Costa Rica. 61 p.
- Mondino, V., M. A. Martínez y L. Gallo. 2002. Mejoramiento genético en *Pinus ponderosa* y pino Oregón. *Patagonia Forestal* 1: 6-8.
- Muñoz, F. H. J., B. R. Toledo, R. T. Sáenz, F. J. Villaseñor y J. J. García S. 2008. Establecimiento y manejo de dos áreas semilleras de coníferas nativas en el estado de Michoacán. *Ciencia Forestal en México* 33(103): 79-102.
- Muñoz, F. H. J., G. Orozco G., H. Hernández A., J. García M., V. M. Coria A. y J. Hernández R. 2014. Caracterización dasométrica de tres rodales semilleros de especies del género *Pinus* en el estado de Guerrero, México. *Revista Foresta Veracruzana* 16(2): 23-30.
- Muñoz, F. H. J., G. Orozco G., V. M. Coria A., Y. Y. Muñoz V. y J. García M. 2011. Manejo de un área semillera de *Pinus pseudostrobus* Lindl. y *Abies religiosa* (H.B.K.) Schltdl. et Cham. y selección de árboles superiores en Michoacán, México. *Foresta Veracruzana* 13(2): 29-36.
- Muñoz, F. H. J., G. Orozco G., V. M. Coria A., Y. Y. Muñoz V. y J. García M. 2012. Comparación de dos métodos de selección de árboles superiores en un área semillera de *Abies religiosa* (H.B.K.) Schltdl. et Cham. en Michoacán, México. *Revista Foresta Veracruzana* 14(1): 1-8.

- Pakkad, G., F. Torres, E. Stephen and D. Blakesley. 2003. Selecting seed trees for a forest restoration program: a case study using *Spondias axillaris* Roxb. (Anacardiaceae). *Forest Ecology and Management* 182: 363-370.
- Plancarte, B. A. 1990. Selección de árboles superiores: Mejoramiento genético y plantaciones forestales. Memoria Centro de Genética Forestal A.C. Universidad Autónoma Chapingo. México. 60 p.
- Salan, T. S. I. 2011. Inventariación de árboles de cedro, con características semilleras en los sectores: 51, el Pindo y el Mirador de los sectores de la provincia de Pastaza. Tesis de Licenciatura. Riobamba, Ecuador-Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. 74 p.
- Thomas, E., R. Jalonen, J. Loo, D. Boshier, L. Gallo, S. Cavers, S. Bordacs, P. Smisth and M. Bozzano. 2014. Genetic consideration in ecosystem restoration using native tree species. *Forest Ecology and Management* 333: 66-75.
- Vilela, A. E. y S. Acosta C. 2001. *Pinus chiapensis*: Un enfoque ecológico de su anatomía foliar. *Polibotánica* 11: 111-120.